

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM JACARÉ-DO-PAPO-
AMARELO, *Caiman latirostris*, E EM JACARÉ-DO-PANTANAL,
Caiman yacare, EM VIDA LIVRE E CATIVEIRO**

DANIELA NERIS NOSSA

VILA VELHA
JULHO / 2020

UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM JACARÉ-DO-PAPO-
AMARELO, *Caiman latirostris*, E EM JACARÉ-DO-PANTANAL,
Caiman yacare, EM VIDA LIVRE E CATIVEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade
Vila Velha, como pré-requisito do
Programa de Pós-graduação em Ciência
Animal, para a obtenção do título de
mestra em Ciência Animal.

DANIELA NERIS NOSSA

VILA VELHA
JULHO / 2020

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

N897a Nossa, Daniela Neris
Anticorpos contra *Leptospira* spp. em Jacaré-do-papo-amarelo, *Caiman latirostris*, e em Jacaré-do-pantanal, *Caiman yacare*, em vida livre e cativeiro / Daniela Neris Nossa. – 2020.
53 f.: il.

Orientadora: Ana Carolina Srbek-Araujo.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Vila Velha, 2020.

Inclui bibliografias.

1. Ciência animal. 2. Jacarés - América do Sul. 3. Doenças transmissíveis em animais. 4. Leptospirose em animais. 5. Epidemiologia Experimental e Aplicada a Zoonoses. I. Srbek-Araujo, Ana Carolina. II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.0896959

DANIELA NERIS NOSSA

ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM JACARÉ-DO-PAPO-AMARELO, *Caiman latirostris*, E EM JACARÉ-DO-PANTANAL, *Caiman yacare*, EM VIDA LIVRE E CATIVEIRO

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do título de mestra em Ciência Animal.

Aprovada em 29 de julho de 2020.

Banca Examinadora:



Dra. Adriana Cortez (UNISA)



Dr. Helio Langoni (UVV)



Dra. Ana Carolina Srбек de Araujo (UVV)

Orientadora

Dedico este trabalho especialmente a todos que lutam em prol da conservação da biodiversidade, de um planeta mais justo e saudável. Dedico a todos nós, já que somos um só!

AGRADECIMENTOS

À Deusa

Obrigada por me habitar e me permitir que te habite, grande Deusa mãe-terra. Agradeço pela minha força vital e criativa, que me traz esperança e perseverança para conseguir ter um foco e determinação no trabalho diário que é a conservação da biodiversidade. Agradeço à Deusa que me coabita, agradeço a mim.

À Luna

Agradeço a você por existir em minha vida e fazer com que eu perceba que existe muita força dentro de mim.

À minha rede de apoio

Agradeço imensamente à minha rede de apoio, pois sem vocês eu tenho certeza que não teria conseguido chegar onde estou. Cada um de vocês teve e tem um papel essencial na minha vida, e cada um me amparou de forma única e especial neste momento muito importante da minha vida, que me tornei mãe. Obrigada família, amigos e profissionais, vocês são demais!

Aos meus pais

É até difícil pra mim falar da tamanha gratidão que tenho por ter vocês na minha vida. Tudo que sou é por vocês. Obrigada por desde pequenina cultivarem a sementinha da curiosidade e da ciência em mim, amo vocês!

À Universidade Vila Velha

Gratidão aos profissionais, alunos e funcionários extraordinários que pude conhecer durante a Pós-graduação em Ciência Animal, obrigada por auxiliarem tanto na minha formação.

Ao Instituto Marcos Daniel e ao Projeto Caiman

A verdade é que sou cria de vocês e só tenho a agradecer a todas as oportunidades que tive de crescer profissionalmente e principalmente pessoalmente. Gratidão! Equipe de campo, sem vocês nada disso teria acontecido. Um trabalho nunca é feito só e esse trabalho é nosso. Valeu pela parceria!

À ArcelorMittal S.A., ao Criadouro 2C e ao Instituto de Diagnóstico Animal (IDAN)

Agradeço pela parceria, por acreditarem na importância deste estudo e por me permitirem realizá-lo.

Ao Laboratório de Zoonoses Bacterianas e ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada e Sorologia da USP

Agradeço pela parceria, por acreditarem na importância deste estudo e por me permitirem realizá-lo. Especialmente ao Igor Acosta, pelo grande apoio, e à toda equipe que participou das análises realizadas.

À Ana Carolina Srbek de Araujo

Ana, gratidão enorme por ter me aceito como orientanda. Sou sua fã desde a primeira vez que assisti à sua aula de Ecologia no início da Graduação. Logo que te conheci já dei aquela sussurrada pras amigas: “é assim que eu quero ser quando crescer!”. Gratidão enorme pela paciência, direcionamento, orientação e por ser essa pessoa incrível. Foi um prazer enorme ser sua orientada.

Ao Marcelo Renan de Deus Santos

Marcelito, meu eterno professor, chefinho e amigo. Você é uma daquelas pessoas que inspiram e queria que soubesse que foi um dos grandes responsáveis por minha chegada até aqui. Gratidão por sempre acreditar em mim!

Ao laboratório LecBio

Gratidão pelo carinho e acolhimento, além de toda estrutura para a minha pesquisa.

Aos membros da banca

Gostaria de agradecer a vocês, grandes pesquisadores e professores, por dispor de tempo e disposição com o intuito de agregar e engrandecer este estudo.

À CAPES

Agradeço a à Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela bolsa de pós-graduação (Código Financeiro 001).

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO	3
Agentes infecciosos zoonóticos e crocodilianos	7
Leptospirose em crocodilianos	9
MÉTODOS	11
Área de estudo	11
Captura e contenção.....	16
Marcação.....	17
Biometria e sexagem	18
Avaliação clínica	18
Coleta de sangue	18
Análises laboratoriais.....	19
<i>Hemograma.....</i>	<i>20</i>
<i>Exame bioquímico</i>	<i>20</i>
<i>Teste de Aglutinação Microscópica</i>	<i>21</i>
Análise de dados.....	23
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	31
CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	40

RESUMO

NOSSA, DANIELA NERIS, M.Sc, Universidade Vila Velha – ES, julho de 2020. **Anticorpos contra *Leptospira* spp. em Jacaré-do-papo-amarelo, *Caiman latirostris*, e em Jacaré-do-pantanal, *Caiman yacare*, em vida livre e cativeiro.** Orientadora: Ana Carolina Srbek-Araujo.

A Leptospirose está diretamente relacionada com habitats aquáticos e, portanto, pode-se supor que os crocodilianos estejam especialmente expostos a esses patógenos, podendo ser potenciais espécies-sentinela dos ambientes que habitam. Assim, o presente estudo teve como objetivo: (i) determinar a ocorrência de contato de indivíduos das espécies *Caiman latirostris* e *Caiman yacare* com *Leptospira* spp. em vida livre e em cativeiro, (ii) verificar se o contato com o agente etiológico coincide com alterações na saúde dos indivíduos, e (iii) indicar fatores ambientais que podem aumentar o risco de infecção. Para tal, foram capturados 14 indivíduos de *C. latirostris* de vida livre e 11 *C. latirostris* oriundos de cativeiro, provenientes do ES, e 22 *C. yacare* de vida livre, originários do MS. Os animais passaram por avaliação clínica, biometria, sexagem e coleta de sangue. As amostras de sangue foram analisadas com base no hemograma, dosagem bioquímica e Teste de Aglutinação Microscópica para detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp. (23 antígenos). Das amostras analisadas, oito (17,0%) foram consideradas reagentes e oito sorovares de três espécies de *Leptospira* spp. apresentaram maior reatividade. As amostras reagentes foram igualmente divididas entre *C. latirostris* de cativeiro (n=4; 36,4%) e *C. yacare* (n=4; 18,2%). Os animais reagentes se encontravam clinicamente hígidos. Entre os parâmetros analisados, apenas leucócitos totais apresentaram aumento significativo em indivíduos reagentes quando analisadas todas as amostras em conjunto. Os parâmetros testados não apresentaram alterações quando as duas espécies foram analisadas separadamente. A taxa de animais reativos foi alta, embora menor do que o relatado na literatura, variando entre 35,2% e 100% em vida-livre e de 73,6% a 95,7% em cativeiro. Os sorovares reagentes correspondem àqueles já descritos na literatura, salvo o sorovar Shermani (*L. santarosai*) que ainda não havia sido relatado em crocodilianos neotropicais. A presença de anticorpos indica que em algum momento os indivíduos reagentes entraram em contato com o agente infeccioso, o qual pode estar presente no solo e na água. Entretanto, não é possível afirmar que os espécimes estavam doentes, visto que não houve variações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos entre animais reagentes e não reagentes nas duas localidades, o que pode indicar que sejam casos de infecção passada. Propõe-se que locais com menor porção de água, com água parada (ou sem renovação periódica, no caso de cativeiro) e maior densidade de jacarés sejam fatores que podem aumentar o risco de infecção de crocodilianos por *Leptospira* spp., ressaltando que o manuseio e a ingestão de carne de jacaré sem os devidos cuidados sanitários pode ser uma fonte de contaminação e via de infecção importante para humanos.

Palavras-chave: Crocodilianos, Doença infecciosa reemergente, Leptospirose, Saúde Única, Zoonose.

ABSTRACT

NOSSA, DANIELA NERIS, M.Sc, University of Vila Velha – ES, July 2020. **Antibodies against *Leptospira* spp. in Broad-snouted caiman, *Caiman latirostris*, and in Yacare caiman, *Caiman yacare*, in free-ranging and captive.** Advisor: Ana Carolina Srbek-Araujo.

Leptospirosis is directly related to aquatic habitats and, therefore, it can be assumed that crocodylians are especially exposed to these pathogens and may be potential sentinel species in the environments they inhabit. Thus, the present study aimed to: (i) determine the occurrence of contact between individuals of the species *Caiman latirostris* and *Caiman yacare* with *Leptospira* spp. in free-living and in captivity, (ii) verify if the contact with the etiological agent coincides with changes in the health of individuals, and (iii) indicate environmental factors that may increase the risk of infection. For this purpose, 14 individuals of free-living *C. latirostris* and 11 *C. latirostris* from captivity, from ES, and 22 free-living *C. yacare*, from MS, were captured. The animals underwent clinical evaluation, biometrics, sexing and blood collection. Blood samples were analyzed based on blood count, biochemical dosage and Microscopic Agglutination Test to detect antibodies against *Leptospira* spp. (23 antigens). Of the analyzed samples, eight (17.0%) were considered reagents and eight serovars of three species of *Leptospira* spp. showed higher reactivity. The reagent samples were equally divided between *C. latirostris* in captivity (n=4; 36.4%) and *C. yacare* (n=4; 18.2%). The reactive animals were clinically healthy. Among the parameters analyzed, only total leukocytes showed a significant increase in reactive individuals when all samples were analyzed together. The tested parameters did not change when the two species were analyzed separately. The rate of reactive animals was high, although lower than that reported in the literature, ranging from 35.2% to 100% in free-living and from 73.6% to 95.7% in captivity. The reagent serovars correspond to those already described in the literature, except for the Shermani serovar (*L. santarosa*), which had not yet been reported in neotropical crocodylians. The presence of antibodies indicates that at some point the reactive individuals came into contact with the infectious agent, which may be present in the soil and in the water. However, it is not possible to state that the specimens were sick, since there were no variations in hematological and biochemical parameters between reactive and non-reactive animals in both locations, which may indicate cases of past infection. It is proposed that places with a smaller portion of water, with still water (or without periodic renewal, in the case of captivity) and higher density of alligators are factors that may increase the risk of infection of crocodylians by *Leptospira* spp., emphasizing that the handling and eating alligator meat without proper health care can be a source of contamination and an important route of infection for humans.

Keywords: Crocodylians, Leptospirosis, One Health, Reemerging infectious disease, Zoonosis.

*Dissertação apresentada em formato de artigo científico conforme normas da revista
EcoHealth.*

Anticorpos contra *Leptospira* spp. em Jacaré-do-papo-amarelo, *Caiman latirostris*, e em Jacaré-do-pantanal, *Caiman yacare*, em vida livre e cativoiro

Daniela Neris Nossa¹ e Ana Carolina SrbeK-Araujo^{1,2,3}

¹ Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil.

³ Instituto SerraDiCal de Pesquisa e Conservação, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Autora correspondente: Daniela Neris Nossa, e-mail: daninerisnossa@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Com o avanço da urbanização, algumas espécies da fauna e da flora, que antes viviam em seus habitats naturais, agora passam a habitar também ambientes antrópicos (Guetté et al. 2017). Considerando a urbanização como a soma de processos temporais e padrões espaciais que ocorrem no planeta como um todo, ela altera não apenas o ambiente, mas também os organismos nele residentes (Wu 2014). Os processos temporais (ano, década, século) e os padrões espaciais (local, região, globo) relacionados às paisagens urbanas variam geograficamente em função de diferenças nos ambientes físicos, aspectos socioeconômicos e políticas de uso da terra (Wu 2014). Em função desta complexidade de fatores, não existe um padrão de resposta para o efeito da urbanização sobre as espécies silvestres em geral e as espécies que agora habitam regiões urbanas, onde antes não eram comumente encontradas,

já foram classificadas como “tolerantes urbanas” (Conole e Kirkpatrick 2011). Estudos mais recentes, entretanto, trazem a sinantropia como a resposta temporal e espacial das espécies à urbanização, considerando a urbanização como um filtro que favorece características particulares e específicas de determinadas espécies (Aronson et al. 2014; Guetté et al. 2017).

As espécies sinantrópicas são aquelas que apresentam capacidade de coabitar com humanos (Johnston 2001), podendo apresentar uma associação tão estreita com a habitação humana que seu habitat natural original pode ser em alguns casos desconhecido (Oksanen e Vuorisalo 2017). Entretanto, diferem-se das espécies domésticas, as quais os humanos criam e cuidam com finalidade de companhia, produção de alimentos ou transporte (Silva et al. 2013). Klausnitzer (1998) propôs cinco classificações para a sinantropia, podendo ser “obrigatória” (espécies que vivem apenas em habitats antropizados e que muitas vezes são cosmopolitas), “facultativa” (onde o habitat antropogênico é usado pela espécie, mas ela também pode ocorrer em ambientes naturais), “permanente” (espécies que passam o ciclo de vida inteiro em habitats antropogênicos), “temporária” (espécies que vivem sazonalmente em habitats antropogênicos) e “parcial” (espécies que vivem regularmente em habitats antropogênicos, mas apenas por um período determinado devido a alguma finalidade específica como, por exemplo, aninhamento). A sinantropia é observada em diferentes grupos animais, estando estes representados por espécies generalistas, como sapos (Classe Amphibia) (Mollov e Velcheva 2015), pombos (Classe Aves) (Rothenburger et al. 2017), gambás (Silva et al. 2013) e pequenos roedores (Classe Mammalia) (Rothenburger et al. 2017), além de várias espécies pertencentes às Classes Insecta (Ramos et al. 2016) e Arachnida (García-Villafuerte e Brescovit 2019). Devido à redução e à modificação dos habitats naturais em decorrência de desmatamentos e do avanço de atividades agropecuárias e industriais associadas à expansão da ocupação humana, os jacarés estão se tornando cada vez mais próximos dos centros urbanos, induzindo-os a um comportamento sinantrópico facultativo e permanente (Coutinho et al. 2013; Farias et al. 2013).

O jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) e o jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*) são representantes da Sub-classe Archosauria, Ordem Crocodylia, Família Crocodylidae e Subfamília Alligatoridae (Rueda-Almonacid et al. 2007; Luz 2012). São espécies altamente dependentes do meio externo, já que sua determinação sexual e seu metabolismo estão associados à temperatura do ambiente em que vivem (Rueda-Almonacid et al. 2007). Devido à sua participação em diferentes níveis tróficos da cadeia alimentar, o que varia conforme a fase do ciclo de vida, os jacarés desempenham um importante papel no controle das populações de suas presas e contribuem para a eliminação de indivíduos mais velhos, debilitados ou doentes, mantendo as populações saudáveis (Freitas-Filho 2008). Além disso, em função do seu hábito de vida incluir ambientes terrestres e aquáticos, eles mobilizam nutrientes entre esses dois meios (Rueda-Almonacid et al. 2007). Assim, apresentam uma importante participação no fluxo energético dos ambientes em que vivem, uma vez que as excretas liberadas no ambiente enriquecem o meio, favorecendo o crescimento de algas e outros microrganismos em ambientes aquáticos, o que contribui para o aumento da produtividade biológica (Rueda-Almonacid et al. 2007). Adicionalmente, podem estar associados ao controle biológico de alguns parasitos, considerando que os jacarés se alimentam de caramujos em todas as fases da vida e que esses moluscos comumente são hospedeiros de doenças de alta importância na medicina humana e veterinária (Coutinho et al. 2013; Rueda-Almonacid et al. 2007).

Os jacarés sofrem importantes pressões antrópicas e, dentre elas, a caça e a perda e fragmentação de habitats se destacam (Costa et al. 2008; Verdade et al. 2010). A pressão de caça é relativamente alta em algumas regiões do Brasil e pode afetar negativamente as populações silvestres, aspecto preocupante para a conservação das espécies (Campos et al. 2010; Nóbrega et al. 2017; Yves et al. 2018). A redução do tamanho das populações, associada à fragmentação dos habitats, pode impedir ou diminuir o fluxo de indivíduos entre as áreas e, conseqüentemente, diminuir a variabilidade genética das espécies localmente. A perda de variabilidade genética faz com que as espécies reduzam a capacidade de se

adaptarem a mudanças ambientais, podendo ficar também mais susceptíveis a patógenos e contaminantes, comprometendo a viabilidade das populações (Verdade et al. 2010).

Os crocodilianos são geralmente resistentes a doenças infectocontagiosas, ressaltando que o soro sanguíneo desses animais possui fatores antibacterianos de potente e amplo espectro (Merchant 2003). Entretanto, sob estresse, a imunidade natural desses animais pode ficar fragilizada e o indivíduo fica mais suscetível a infecções (Merchant 2003).

Adicionalmente, devido à sua posição de topo de cadeia em ambientes aquáticos, os jacarés são mais expostos à bioacumulação por metais pesados, os quais se acumulam em tecidos e órgãos (Rueda-Almonacid et al. 2007). Como consequência, conforme aumenta a concentração de metais no organismo do indivíduo, são observados sinais como letargia, anorexia, perda de peso, baixo crescimento e até morte, os quais podem ser sinais comuns de bioacumulação a longo prazo, principalmente por mercúrio, metal não essencial mais encontrado em crocodilianos (Campbell 2003). Além da contaminação por metais, *C. latirostris* é sensível a pesticidas e herbicidas, uma vez que substâncias presentes nestes compostos, tais como a Atrazina, Endossulfão e Glifosato, podem imitar a ação de esteroides sexuais, atuando como interferentes endócrinos e afetando a reprodução dessa espécie (Poletta et al. 2009; Rey et al. 2009). Apesar das ameaças, o risco de extinção de *C. latirostris* e *C. yacare* foi avaliado em nível global e as duas espécies estão categorizadas como Menos Preocupante (Crocodile Specialist Group 1996a; Crocodile Specialist Group 1996b), sendo esta a mesma categoria proposta para ambas espécies em território brasileiro (Coutinho et al. 2013; Farias et al. 2013). No Espírito Santo, estado que conta com lista regional de espécies ameaçadas de extinção, *C. latirostris* encontra-se Em Perigo (Bérnils et al. 2019).

Devido ao fato de crocodilianos serem longevos, carnívoros de nível superior e estarem cada vez mais presentes em ambientes antropizados, *C. latirostris* e *C. yacare* podem ser potencialmente utilizados como espécies-sentinela da saúde ambiental, servindo como sinalizadores dos riscos associados aos ambientes em que vivem, como o surgimento de

doenças ou contaminações e intoxicações que refletem as condições do ambiente (Stoker et al. 2003; Rey et al. 2006; Beldomenico et al. 2007; Poletta et al. 2008; Rey et al. 2009; Poletta et al. 2009; Reif 2011; Poletta et al. 2011).

Agentes infecciosos zoonóticos e crocodilianos

A emergência e a reemergência de doenças infecciosas zoonóticas se correlacionam fortemente com a densidade populacional humana e são impulsionadas por diversos fatores antropogênicos (Wilcox e Colwell 2005; Morse et al. 2012; Gebreyes et al. 2014). A expansão da agricultura e aspectos socioeconômicos e políticos, como o aumento de viagens e comércio internacional, desigualdade social, pobreza, conflitos, fome e falta de vontade política (Gebreyes et al. 2014) são alguns dos fatores predisponentes para o surgimento de doenças. Nas últimas décadas, o planeta Terra enfrentou mais de 15 surtos zoonóticos e/ou vetoriais, tanto virais (por exemplo, Hantavirose, Ebola [EVD], Gripe Aviária [H5N1 e H7N9], Vírus Zika, Síndrome Respiratória Aguda [SARS], Influenza A [H1N1]), com destaque para a recente pandemia de COVID-19 (Rothan e Byrareddy 2020), quanto bacterianas (como a Síndrome Hemolítico-Urêmica por *Escherichia coli* e Tuberculose) (Gebreyes et al. 2014; Zumla e Hui 2019). Geralmente, a transmissão de doenças infecciosas apresenta variação anual na incidência e a situação é ainda mais complexa se consideradas doenças transmitidas por roedores e artrópodes, já que esses reservatórios são susceptíveis a mudanças sazonais (Gebreyes et al. 2014). Doenças desse tipo, com alta taxa de transmissão, podem resultar em um enorme número de mortes em um único surto e podem gerar perdas econômicas exorbitantes (Gebreyes et al. 2014).

Os animais silvestres têm uma evidente importância na propagação de doenças infecciosas zoonóticas, já que eles são reservatórios naturais de agentes etiológicos deste grupo de enfermidades (Brasil et al. 2013). O contato de crocodilianos com humanos e animais domésticos pode representar riscos, tanto aos jacarés, que passam a ocupar áreas com

elevado grau de degradação ambiental, com exposição a contaminantes, enfermidades infecciosas e parasitárias e injúrias (Filogônio et al. 2010, Coutinho et al. 2013), quanto aos animais domésticos e humanos (Cupul-Magaña et al. 2005). Pessoas podem se infectar com agentes infecciosos e parasitários dos crocodilianos por meio do contato com ninhos e ovos (Nóbrega et al. 2019) ou pelo manejo de animais, além do consumo da carne contaminada de jacarés caçados (Silva et al. 2020). Ressalta-se ainda o risco de eventuais acidentes envolvendo crocodilianos (Cupul-Magaña et al. 2005), como ataques e mordeduras já relatados na Oceania (Caldicott et al. 2005), na América do Norte (Langley 2005; Shepherd e Shoff 2014) e no continente Africano (Lamarque et al. 2009). Esses riscos são potencializados pelo fato de *C. latirostris*, assim como outros crocodilianos, apresentarem um grande potencial econômico relacionado à venda de carne para a indústria alimentícia e de pele usada na produção de acessórios de vestuário, entre outros produtos (Verdade 2001; Filho et al. 2020). Devido a esse grande potencial da espécie, sistemas básicos de manejo de jacarés foram desenvolvidos ao longo dos anos e aliam o aproveitamento econômico à conservação de populações silvestres remanescentes (Souza et al. 2014). Estes sistemas são basicamente a caça controlada (*harvest*), a criação em cativeiro de filhotes a partir da coleta de ovos em ambiente natural (*ranching*) e a criação na qual todas as etapas do ciclo de vida ocorrem em cativeiro, desde a reprodução até o abate (*farming*) (Filho et al. 2020). Além dos sistemas de criação com fins produtivos, existem mantenedores de fauna silvestre com propósitos conservacionistas que mantêm espécimes em cativeiro, sendo proibida sua reprodução (IBAMA 2008). Como todo sistema de cativeiro, as condições sanitárias e de enriquecimento ambiental são muito importantes para a saúde dos animais a longo prazo, evitando o surgimento de doenças comportamentais e infectocontagiosas (Cruz 2014; Neto 2014), assim como surtos de zoonoses emergentes e reemergentes.

Leptospirose em crocodilianos

A Leptospirose é uma doença zoonótica bacteriana reemergente, com distribuição mundial, causada por microrganismos representantes da Ordem Spirochaetales, Família Treponemataceae e gênero *Leptospira* (Quinn et al. 2005). São bactérias gram-negativas espiraladas e dotadas de grande motilidade, sendo veiculadas em meios líquidos, a exemplo da urina de animais infectados (Quinn et al. 2005). É uma doença que acomete seres humanos, animais domésticos e silvestres (Plank e Dean 2000) e está associada com períodos de alta pluviosidade, ocorrendo principalmente em países tropicais e subtropicais (Quinn et al. 2005). A infecção pode acontecer por meio de ingestão de água ou alimentos contaminados com urina de animais em leptospirúria ou pela penetração do agente etiológico presente em água contaminada por meio de erosões na pele ou mucosas hígidas (Enrietti 2001). Mineiros, agricultores, pescadores e trabalhadores que estão em constante contato com áreas de risco apresentam um maior índice de infecção (Plank e Dean 2000; Enrietti 2001). Entretanto, atividades de lazer e esporte relacionadas à água também oferecem oportunidade para infecção, como já foi descrito nos Estados Unidos, onde vários participantes de um Triatlo foram infectados com *Leptospira* spp., provavelmente durante a etapa da natação (CDC 1998).

Segundo Costa et al. (2015), cerca de 1,03 milhão de casos e 58.900 mortes por Leptospirose ocorrem no mundo a cada ano. Esta doença está altamente associada com saneamento básico inadequado nas áreas urbanas. No Brasil, a migração da população rural para áreas urbanas e o crescimento populacional desordenado resultou na formação de grandes favelas que não possuem saneamento adequado, o que eleva o potencial de exposição a infecções (Ko et al. 1999). Muitas variáveis, como a prevalência entre os hospedeiros, o volume de urina contaminada eliminada e a densidade local dos hospedeiros definem a carga de patógenos excretados no ambiente (Mason et al. 2016; Barragan et al. 2016; Barragan et al. 2017). Os pequenos roedores ainda são os principais transmissores de Leptospirose.

Entretanto, após a infecção, a *Leptospira* spp. se concentra nos rins e tratos genitais dos hospedeiros, de onde pode ser lançada no ambiente via urina (William 2014). Desse modo, qualquer humano ou animal infectado pode potencialmente infectar outros hospedeiros potenciais, diretamente ou indiretamente, a partir da contaminação do ambiente (Barragan et al. 2017). Em locais nos quais predominam pequenos animais (roedores e cães errantes, por exemplo), como nas áreas urbanas, o risco de infecção humana está associada à densidade destes animais e à prevalência da doença nestes hospedeiros. Em áreas rurais, as famílias que vivem em estreita proximidade com animais de produção, em geral mamíferos, podem estar expostas a um maior risco de infecção, já que a *Leptospira* spp. pode estar presente no ambiente de manejo (Barragan et al. 2016; Barragan et al. 2017).

Um grande número de espécies de mamíferos pode se infectar com *Leptospira* spp., variando conforme a cepa ou sorovar envolvido, bem como a idade, a saúde e o status de imunidade do indivíduo infectado (Sullivan 1974; Evangelista e Coburn 2010), havendo também relatos da presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em répteis (Andrews et al. 1965; Glosser et al. 1974; Hyakutake et al. 1980; Stanchi et al. 1986; Calle et al. 2001; Lindtner-Knific et al. 2013; Rodrigues et al. 2016). Abdulla e Karstad (1962) realizaram uma infecção experimental de serpentes (*Thamnophis sirtalis*) pelo serovar *Pomona* e verificaram que um dos animais apresentou nefrite e, após seis meses, espiroquetas ainda foram encontradas nos rins. Evidências de *Leptospira* spp. em serpentes (Biscola et al. 2011), testudines (AlvesJúnior 2013) e crocodilianos (e.g. Paz et al. 2009; Bauso et al. 2020) foram obtidas usando testes de diagnóstico, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), embora ainda sejam necessários estudos que comprovem se os répteis são ou não um hospedeiro capaz de transmitir a *Leptospira* spp. (Fornazari 2017). Uma vez que a leptospirose está diretamente relacionada com habitats aquáticos, pode-se supor que os répteis aquáticos estejam mais expostos a esses patógenos (Ebani 2017). Assim, crocodilianos podem ser possíveis reservatórios e/ou hospedeiros de manutenção da *Leptospira* spp., uma vez que a

bactéria apresenta distribuição cosmopolita, compartilhando biomas e áreas próximas aos locais de vida desses animais, tanto na natureza quanto em cativeiro (Fornazari 2017). Apesar disso, a ocorrência de *Leptospira* spp. em crocodilianos ainda é um assunto pouco explorado. Rosetti (2013) registrou pela primeira vez a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em *C. latirostris* e *C. yacare* oriundos de cativeiro e de vida livre na Argentina. Oliveira (2014) confirmou a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em *Caiman crocodilus* de vida livre no Brasil. No estudo de Pérez-Flores et al. (2016), também utilizando o teste sorológico, animais de vida livre das espécies *Crocodylus acutus* e *Crocodylus moreletii* foram reagentes no México. Mais recentemente, a detecção de *Leptospira* spp. por teste molecular também foi confirmada em *C. latirostris* de cativeiro no Brasil (Paz et al. 2019) e em cativeiro e vida livre na Argentina (Bauso et al. 2020).

Para um melhor entendimento da epidemiologia da Leptospirose e elaboração de planos estratégicos de controle dessa enfermidade, o estudo mais aprofundado da doença em espécies que estão em contato direto e indireto com humanos e animais domésticos é de extrema importância. Assim, o presente estudo teve como objetivo: (i) determinar a ocorrência de contato de indivíduos das espécies *C. latirostris* e *C. yacare* com *Leptospira* spp. em vida livre e em cativeiro, (ii) verificar se o contato com o agente etiológico coincide com alterações na saúde dos indivíduos, e (iii) indicar fatores ambientais que podem aumentar o risco de infecção.

MÉTODOS

Área de estudo

Para realização do presente estudo, foram consideradas amostras coletadas de três áreas, sendo duas localizadas no estado do Espírito Santo e outra no Mato Grosso do Sul (Figura 1).

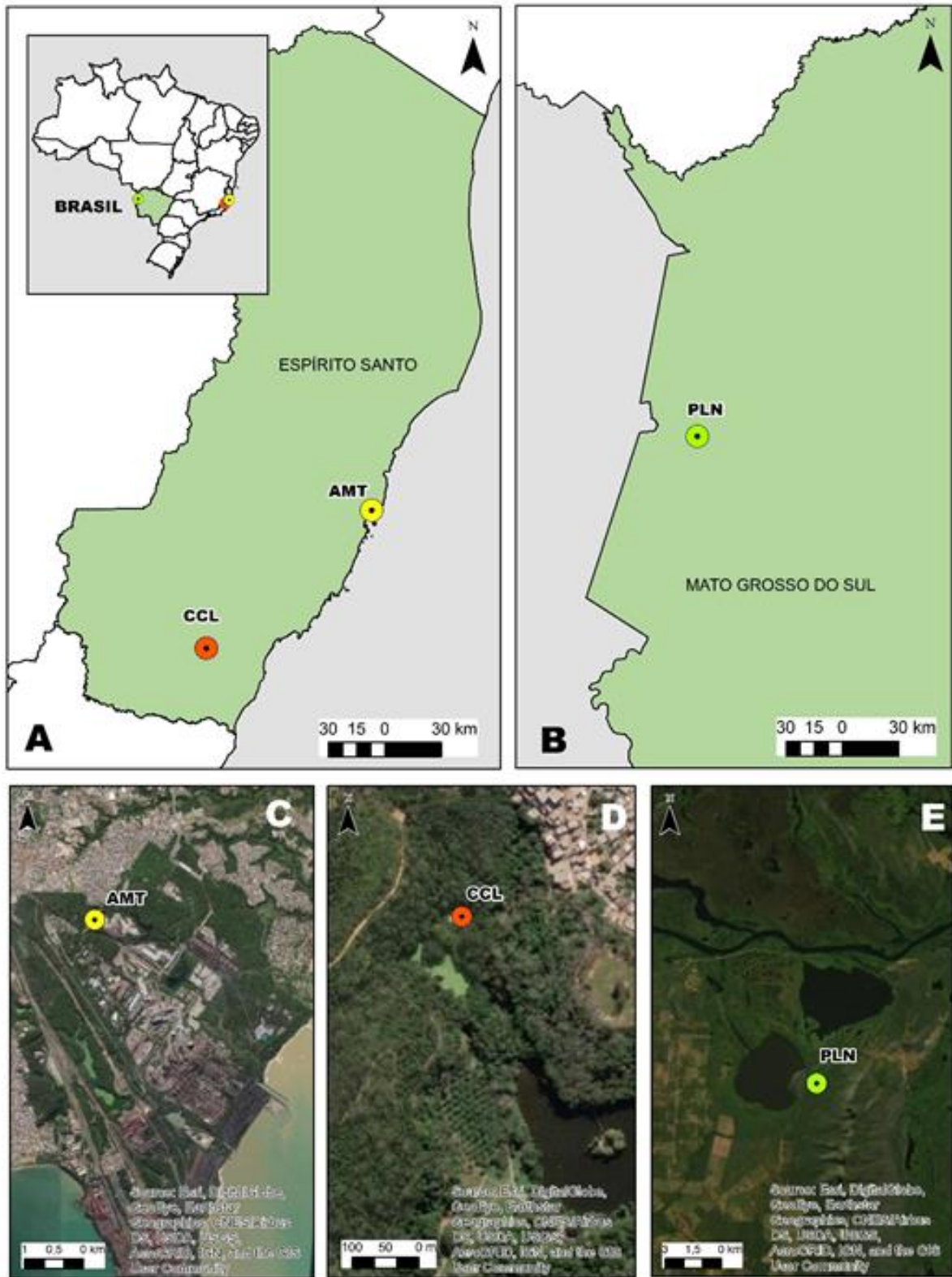


Figura 1. Localização das áreas de estudo no Espírito Santo (A) e em Mato Grosso do Sul (B), com detalhe do Complexo ArcelorMittal Tubarão (AMT; C), do Criatório C.L. (CCL; D) e do Passo do Lontra (PNL; E).

Complexo ArcelorMittal Tubarão (AMT): Indústria siderúrgica localizada no município de Serra, Espírito Santo (23° 13,41' 74'' S - 40° 15,04' 72'' W), bioma Mata Atlântica. A área total do complexo abrange cerca de 1.400 ha, dos quais 700 ha são de área industrial e o restante é coberto por áreas de reflorestamento, com predomínio de espécies exóticas, e em diferentes estágios de sucessão ecológica. Dentro da área de reflorestamento existem sete lagoas artificiais, todas com influência antrópica direta ou indireta em diferentes graus (Figura 2). As lagoas em geral apresentam sinais evidentes de eutrofização, sendo que duas delas (lagoas 2 e 3) recebem efluentes de esgoto doméstico da comunidade do entorno e estão em estado hipereutrófico. As outras lagoas não recebem efluentes domésticos e industriais diretamente. Os corpos d'água amostrados foram as lagoas 2, 4, 5 e 6, com espelho d'água estimado de aproximadamente 34.917 m², 63.987 m², 33.380 m² e 60.317 m², respectivamente. A média do número de indivíduos contabilizados nas lagoas amostradas no AMT em levantamento realizado entre 2015 e 2017 foi de 71,5 animais (variando de 22 a 95 espécimes), sendo estimados mais de 300 jacarés para a área como um todo (Projeto Caiman, dados não publicados).



Figura 2. Complexo ArcelorMittal Tubarão (AMT).

Criatório C.L. (CCL): Mantenedor de fauna silvestre com propósito conservacionista, localizado em Cachoeiro de Itapimirim, Espírito Santo ($20^{\circ} 52' 59,88''$ S - $41^{\circ} 06' 06,69''$ W), bioma Mata Atlântica. O recinto onde os jacarés ficam tem 2.500 m^2 de área total, sendo composto por um lago artificial com renovação de água e área para termorregulação e nidificação composta por vegetação florestal em estágio avançado de regeneração (Figura 3). A renovação da água era feita esporadicamente, sem controle e monitoramento da qualidade da água. O CCL tem uma população de 35 espécimes de *C. latirostris* de ambos os sexos e tamanhos variados.



Figura 3. Criatório C.L. (CCL).

Passo do Lontra (PLN): Área rural com vegetação florestal conservada localizada em Corumbá, Mato Grosso do Sul, mais precisamente na região do Passo do Lontra ($19^{\circ} 04' 48,73''$ S – $57^{\circ} 30' 35,92''$ W), bioma Pantanal. A região conta com lagoas rasas marginais ao Rio Miranda e brejos dispostos ao longo da Estrada Parque MS-184, cobrindo uma extensão de 44 km entre a BR-262 e a MS-228 (Figura 4). Não há estimativas de densidade de *C. yacare* no PLN.



Figura 4. Passo do Lontra (PLN).

Captura e contenção

A captura de indivíduos foi realizada conforme acessibilidade dos espécimes, nas três áreas de estudo, consistindo em uma amostragem por conveniência.

Complexo ArcelorMittal Tubarão (AMT): As capturas foram realizadas entre junho de 2014 e janeiro de 2017, no período da noite (22h às 3h). Com a utilização de uma lanterna de 55 Watts ligada a uma bateria automotiva de 12V, os animais eram avistados e ofuscados para aproximação da equipe a bordo de uma embarcação de alumínio de 4,2 m de comprimento, com motor náutico de popa de 25hp, em velocidade constante. A captura dos espécimes era realizada com laço cervical acoplado a uma haste flexível. Animais com menos de 1 m de comprimento eram capturados manualmente. A contenção física dos animais foi feita por

meio da imobilização da boca com fita adesiva (Rueda-Almonacid et al. 2007). Foram capturados 14 espécimes de *C. latirostris* no AMT.

Criatório C.L. (CCL): As capturas foram realizadas em março de 2017, durante o dia (8h às 17h). Para se aproximar dos animais, a equipe utilizou uma embarcação de madeira de 3 m de comprimento e realizou a captura com laço cervical acoplado a uma haste flexível. Assim como no AMT, os animais foram submetidos à contenção da boca com fita adesiva. Foram capturados 11 espécimes de *C. latirostris* no CCL.

Passo do Lontra (PLN): As capturas foram realizadas em julho de 2017, ao longo do dia (8h às 17h) e durante a noite (22h às 3h). Em ambos períodos, a equipe caminhava na margem das lagoas e brejos e se aproximava à pé, com a utilização de uma lanterna de 55 Watts com bateria própria, visualizando e ofuscando os animais. A captura foi feita com laço cervical acoplado a uma haste flexível, no caso de animais maiores, e os menores que 1 m eram capturados manualmente. Após a captura, os espécimes eram contidos com fita adesiva na boca. Foram capturados 22 espécimes de *C. yacare* no PLN. Um dos indivíduos foi capturado após avistamento ocasional realizado na margem do Rio Miranda.

As atividades do presente estudo foram devidamente autorizadas via Sistema de Informação e Autorização da Biodiversidade do ICMBio (SISBio nº 48537) e foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Vila Velha (CEUA-UVV, Protocolo nº 394-2016).

Marcação

A marcação dos indivíduos foi feita por meio do implante de microchip subcutâneo na região da escápula direita, segundo proposto por Dixon e Yanosky (1999). A higienização da pele foi feita previamente com álcool iodado e os implantes inseridos com aplicador descartável.

Dessa forma, cada animal recebeu uma numeração única e os espécimes foram amostrados uma única vez.

Biometria e sexagem

Nos indivíduos adultos, a sexagem foi feita por meio da manipulação digital da cloaca, com o animal em decúbito dorsal, introdução do dedo em ângulo de 90° em relação ao corpo do animal, até o teto da cloaca, e, em seguida, exposição do órgão sexual, no caso dos machos (Ziegler e Olbort 2007). Em filhotes, devido ao tamanho dos espécimes, foi utilizado um espéculo nasal, que possui valvas paralelas e permite o afastamento das paredes da cloaca, para visualização do órgão reprodutor (Ziegler e Olbort 2007).

Para biometria, mensurou-se o comprimento rostro-cloacal (CRC; em cm) com fita métrica e aferiu-se o peso (em kg) dos espécimes com balança digital (precisão de 0,1 g). Com base no CRC, os indivíduos foram classificados em três classes de tamanho: pré-púbere (<40 cm), púbere (40-90 cm) e maduro (>90 cm) (Coutinho et al. 2005).

Avaliação clínica

A avaliação clínica incluiu um conjunto de parâmetros relacionados à saúde aparente do animal, a qual foi classificada como boa, média ou ruim. Esta classificação foi realizada a partir de uma avaliação visual feita pelo(a) Médico(a) Veterinário(a) no momento do exame físico (Huchzermeyer 2003) e durante os procedimentos até a soltura. Os parâmetros de saúde aparente avaliados foram comportamento (ativo ou apático), o escore corporal (bom, médio ou ruim), a coloração da mucosa cloacal (normocorada, hipocorada ou hiperacorada) e o tempo de preenchimento capilar (observado em mucosa cloacal), além da inspeção de anomalias, feridas e lesões ou descoloração da pele (Huchzermeyer 2003).

Coleta de sangue

Após assepsia com álcool iodado, utilizando-se agulhas hipodérmicas de 25,0 x 0,8 mm e seringas descartáveis, foram coletadas amostras sanguíneas no seio venoso occipital dos

animais (Figura 5). Para coleta das amostras, respeitou-se o volume equivalente a, no máximo, 0,5% do peso corporal do animal (Campbell 2015). As amostras coletadas eram divididas em um tubo com heparina sódica e em outro tubo sem anticoagulante, sendo então acondicionadas em recipiente isotérmico (4 a 8°C) para envio para laboratório.



Figura 5. Coleta de sangue em seio venoso occipital de jacaré.

Análises laboratoriais

As amostras de sangue (tubo com heparina sódica) foram encaminhadas para análise do hemograma em até 6 horas após a coleta em campo. No laboratório, o soro (amostra sem anticoagulante) foi devidamente separado para uso em exame bioquímico e uma parte foi congelada a -20°C para posterior análise de anticorpos anti-*Leptospira* spp. (Almosny 2014; Campbell 2015).

Hemograma

As amostras de sangue foram diluídas a 1:100 em solução de Natt e Herrick e a contagem total de hemácias, leucócitos e trombócitos foi realizada na câmara de Neubauer (Campbell 2015). A contagem diferencial de leucócitos foi feita a partir da leitura de lâmina em microscópio óptico, após ser corada pelo método Panótico Rápido®, e foram contadas 100 células para diferenciação leucocitária (Thrall 2015). Para determinação do hematócrito, foi realizada a centrifugação a 11.000 RPM em centrífuga específica para o microtubo utilizado e, em seguida, foi feita a leitura em escala própria.

A dosagem de hemoglobina foi feita pelo método de cianometahemoglobina utilizando 10 µL de sangue total + 2,5 mL de reagente (Labtest®). O produto da reação foi centrifugado para remoção dos lisados celulares e a leitura foi feita em cubetas quadradas de 10 mm em espectrofotômetro (Quimis Q898DPT) utilizando-se filtro de 540 nm (Almosny 2014; Campbell 2015).

A partir da obtenção dos valores de hemácias totais, hematócrito e hemoglobina foi realizado o cálculo para determinação do volume corpuscular médio (VCM), utilizando-se a fórmula “ $VCM = \text{hematócrito} / n^{\circ} \text{ de hemácias} \times 10$ ”, e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), considerando a fórmula “ $CHCM = \text{hemoglobina} / \text{hematócrito} \times 100$ ” (Almosny 2014).

O hemograma dos espécimes de *C. latirostris* foram feitos no Instituto de Diagnóstico Animal (IDAN - Vila Velha, ES) e as análises dos *C. yacare* foram feitas à campo, em laboratório móvel do Projeto Caiman.

Exame bioquímico

Os valores bioquímicos séricos foram determinados por meio de análise colorimétrica espectrofotométrica e cinética enzimática em analisador automático AU2700 Beckman Coulter®, previamente calibrado utilizando soro bovino. Foram utilizados kits (Labtest®) de

acordo com as recomendações do fabricante. Os parâmetros escolhidos para dosagem foram: Proteínas totais, Globulina, Albumina e Fosfatase Alcalina (FA), para perfil hepático, e Uréia, Creatinina, Ácido Úrico, Cálcio, Fósforo e Gamaglutamiltransferase (GGT), para perfil renal. Apenas amostras dos espécimes de *C. latirostris* foram encaminhadas para exame bioquímico. Não foram realizadas provas bioquímicas das amostras de *C. yacare* devido à impossibilidade de resfriamento do soro (-20°C) em campo.

O exame bioquímico dos espécimes de *C. latirostris* foi realizado no Instituto de Diagnóstico Animal (IDAN).

Teste de Aglutinação Microscópica

Para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. empregou-se o Teste de Aglutinação Microscópica (MAT), de acordo com Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973). Foi utilizada uma coleção de 23 antígenos vivos, entre amostras de referência e estirpes autóctones isoladas no Brasil (Tabela 1).

Tabela 1. Antígenos do gênero *Leptospira* spp., listados de acordo com espécie, sorogrupo, sorovar e cepa, utilizados no Teste de Aglutinação Microscópica (MAT) para detecção de anticorpos em jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) e jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*).

Espécie	Sorogrupo	Sorovar	Cepa
	Australis	Australis	Ballico
	Autumnalis	Autumnalis	Akyiami
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Van Tienem
	Australis	Bratislava	Jez Bratislava
	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV

	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M-20
	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
	Sejroe	Hardjoprajitno	Hardjopratiitno
	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
	Pomona	Pomona	Pomona
	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
	Djasiman	Sentot	Sentot
	Ballum	Castellonis	Castellon -3
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjobovis	Sponselee
	Javanica	Javanica	VeldradBataviae -46
	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
	Celledoni	Whitcombi	Whitcombi
	Cynopteri	Cynopteri	3522C
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva-v
	Autumnalis	Butembo	Butembo
<i>L. santarosai</i>	Sejroe	Guaricura	BOV-6
	Shermani	Shermani	1342-K
<i>L. noguchi</i>	Panama	Panama	CZ-214

O soro sanguíneo foi diluído na proporção 1:50 em solução salina de Sørensen (pH 7,4). Em seguida, 50 μ L das diluições das amostras foram depositados em microplacas de poliestireno contendo 96 poços e, posteriormente, 50 μ L do antígeno foi adicionado aos poços, atingindo-se a diluição 1:100 (Galton et al. 1965; Cole et al. 1973). As microplacas foram incubadas a 28°C por no mínimo duas horas para a realização da leitura e interpretação. Como controle para a validação do teste, cada antígeno foi analisado microscopicamente quanto à sua viabilidade, pureza e auto aglutinação (Galton et al. 1965; Cole et al. 1973).

A leitura das microplacas foi realizada por meio de microscopia de campo escuro para observação de aglutinações, sendo consideradas reagentes apenas as amostras que apresentavam no mínimo 50% de leptospiras aglutinadas na diluição 1:100 (Galton et al. 1965; Cole et al. 1973). As amostras reagentes nesta primeira etapa (triagem) foram novamente testadas para definir o título final de aglutinação. Para a titulação, as amostras foram diluídas de forma seriada na razão dois em solução salina Sørensen (pH 7,4) e acrescentado 50 μ L do antígeno que foi reagente na triagem. A incubação das microplacas e leitura do teste decorreram como descrito anteriormente, considerando como título final a recíproca da maior diluição da amostra em que se observou 50% ou mais de leptospiras aglutinadas (Galton et al. 1965; Cole et al. 1973). Todos os sorovares reagentes na segunda etapa foram considerados agentes infectantes prováveis das espécies de jacarés estudadas.

As análises para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foram realizadas no Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP).

Análise de dados

Para avaliar se a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. tem relação com a alteração de parâmetros hematológicos e bioquímicos, foram empregados o Teste t (variáveis contínuas) e o Teste de Mann-Whitney (variáveis discretas – contagem de células). Para isso, foi realizada a comparação de dados considerando dois grupos: indivíduos reagentes e indivíduos não reagentes quanto à presença dos anticorpos. As análises foram realizadas considerando o gênero *Caiman* como um todo e cada uma das espécies estudadas separadamente. Para *C. latirostris*, foi realizada de forma exploratória a comparação entre os indivíduos não reativos de AMT e CCL para verificar se consistiam em uma mesma amostra estatística. Devido a diferenças significativas entre os dois conjuntos de dados (detectadas para 10 dos 18

parâmetros analisados; para detalhes, ver Resultados), as comparações foram realizadas considerando cada população separadamente. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade de igualdade entre os conjuntos de valores foi $p \leq 0,05$ (Zar 2019). As análises foram realizadas no programa BioEstat (versão 5.3; Ayres et al. 2007).

RESULTADOS

Foram coletadas e analisadas 47 amostras sanguíneas de jacarés, sendo 14 amostras de *C. latirostris* de vida livre (29,8%), 11 de *C. latirostris* oriundos de cativeiro (23,4%) e 22 de *C. yacare* de vida livre (46,8%). Oito animais (17,0%) foram reagentes para anticorpos anti-*Leptospira* spp. e oito sorovares apresentaram reatividade (Australis, Autummalis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Shermani, Cynopteri), com títulos entre 100 e 400 (Tabela 2). As amostras reagentes foram igualmente divididas entre *C. latirostris* de cativeiro (n=4; 36,4% do grupo e 16,0% da espécie) e *C. yacare* (n=4; 18,2%). No CCL, um indivíduo apresentou reação a duas espécies de *Leptospira* spp., enquanto os demais responderam a uma única espécie, totalizando quatro sorovares reagentes (Tabela 2). No PLN, um jacaré apresentou reação para três espécies, dois indivíduos apresentaram resposta a duas espécies e um animal respondeu a apenas uma espécie de *Leptospira* spp., totalizando seis sorovares reagentes (Tabela 2). Os sorovares Icterohaemorrhagiae (*L. interrogans*) e Cynopteri (*L. kirschneri*) foram comuns às duas localidades estudadas (Tabela 2). Dos animais reagentes, 62,5% eram fêmeas, 50% foram classificados como maduros, 37,5% como púberes e 12,5% como pré-púberes (Tabela 3). Apenas um indivíduo dos 47 capturados (2,1%) apresentou saúde aparente ruim (*C. latirostris*) e não estava clinicamente hígido (Tabela 3). Esse animal, entretanto, não foi reagente para o microrganismo testado.

Tabela 2. Titulação sorológica de indivíduos de jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) de cativeiro e jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*) de vida livre reagentes a antígenos do gênero *Leptospira* spp., listados de acordo com a espécie e o sorovar.

Espécie	ID	<i>L. interrogans</i>					<i>L. santarosai</i>	<i>L. kirschneri</i>	
		Australis	Autumnalis	Copenhageni	Icterohaemorrhagiae	Pomona	Pyrogenes	Shermani	Cynopteri
<i>C. latirostris</i>	1		400					400	
	2	100							
	3	100							
	4				100				
<i>C. yacare</i>	5					200	200	100	400
	6			100	200		100	200	
	7				100			100	
	8				100				

Tabela 3. Dados referentes ao sexo, classe etária e avaliação clínica dos indivíduos de jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) de cativeiro e jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*) de vida livre, reagentes e não reagentes a antígenos do gênero *Leptospira* spp. em teste de sorologia microscópica.

Características		<i>C. latirostris</i>		<i>C. yacare</i>	
		reagentes	não reagentes	reagentes	não reagentes
Sexo	Macho	1	3	2	13
	Fêmea	3	4	2	2
	Indeterminado	0	0	0	3
Classe etária	Pré-púbere	0	0	1	1
	Púbere	2	4	1	4
	Maduro	2	3	2	13
Avaliação clínica	Bom	4	7	4	17
	Médio	0	0	0	0
	Ruim	0	0	0	1

Para o Animal 1 não foi possível determinar qual o sorovar infectante mais provável, uma vez que ambos reagentes apresentaram maiores títulos (Tabela 2). Os Animais 2, 3, 4 e 8 apresentaram título mais baixo e para apenas um sorovar, o que pode ser devido a uma reação inespecífica (Tabela 2). O Animal 5 foi reagente para quatro sorovares, sendo o mais provável o sorovar Cynopteri devido ao título mais alto (Tabela 2). Os Animais 6 e 7 também foram reagentes para mais de um sorovar, mas não foi possível determinar o sorovar mais provável devido à obtenção de pares de titulações com valor semelhante (Tabela 2).

A frequência da reação dos sorovares variou entre os animais analisados, sendo: Australis = 2 animais – título 100 (2); Autummalis = 1 animal – título 400 (1); Copenhageni = 1 animal – título 100 (1); Icterohaemorrhagiae = 4 animais – título 100 (3) – 200 (1); Pomona = 1 animal – título 200 (1); Pyrogenes = 2 animais – título 100 (1) - 200 (1); Shermani = 3 animais – título 100 (2) – 200 (1); Cynopteri = 2 animais – título 400 (2) (Tabela 2).

Quando comparados os parâmetros do hemograma dos indivíduos de ambas as espécies em conjunto, apenas os leucócitos de jacarés reagentes sofreram variação, apresentando aumento significativo ($U=88,500$; $p=0,028$) em relação aos animais que não foram reagentes à *Leptospira* spp. no teste sorológico (Tabela 4). Em *C. latirostris*, os parâmetros do hemograma e do exame bioquímico sanguíneo não apresentaram alterações significativas entre os indivíduos reagentes e não reagentes, o que também foi observado para os parâmetros do hemograma de *C. yacare* ($p > 0,05$ em todos os casos; Tabela 4). Na comparação entre as populações de *C. latirostris* (AMT e CCL), os parâmetros Hemácia total ($U=21,000$; $p=0,037$), Hemoglobina ($U=22,500$; $p=0,048$), VCM ($t=-2,708$; d.f.=19; $p=0,014$), Leucócitos totais ($U=13,000$; $p=0,007$), Proteínas totais ($t=-2,483$; d.f.=19; $p=0,023$), Albumina ($t=-3,967$; d.f.=16; $p=0,001$), Gamaglutamiltransferase ($t=-2,231$; d.f.=16; $p=0,040$), Ácido Úrico ($t=3,764$; d.f.=16; $p=0,002$), Cálcio ($t=2,122$; d.f.=16; $p=0,049$) e Fósforo ($t=-4,268$; d.f.=15; $p=0,001$) apresentaram-se significativamente diferentes entre os indivíduos não reagentes ao agente etiológico da Leptospirose (Tabela 4).

Destes parâmetros, apenas Hemácia total, Ácido Úrico e Cálcio apresentaram maiores valores no AMT (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros hematológicos e bioquímicos (média \pm desvio padrão) dos indivíduos de jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) de vida livre (Complexo ArcelorMittal Tubarão - AMT) e de cativo (Criatório C.L. - CCL) e de jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*) de vida livre (Passo do Lontra - PLN) reagentes (+) e não reagentes (-) a antígenos do gênero *Leptospira* spp. em teste de soroglutinação microscópica.

Parâmetros	<i>Caiman latirostris</i>			<i>Caiman yacare</i>	
	AMT	CCL		+	-
	-	+	-		
N	14	04	07	04	18
Hemograma					
Hemácia (milhões/mm ³)	0,61 \pm 0,26	0,49 \pm 0,16	0,43 \pm 0,10	0,47 \pm 0,16	0,44 \pm 0,16
Hemoglobina (g/dl)	8,02 \pm 2,80	11,30 \pm 1,65	10,39 \pm 2,11	9,08 \pm 1,74	9,65 \pm 4,34
Hematócrito (%)	22,40 \pm 7,65	29,70 \pm 2,75	25,80 \pm 4,41	17,50 \pm 2,52	19,80 \pm 5,4
VCM (fl)	392,58 \pm 107,76	596,67 \pm 124,38	566,93 \pm 189,97	411,17 \pm 155,05	524,33 \pm 231,16
HGM (pq)	181,66 \pm 141,41	241,47 \pm 44,05	248,37 \pm 50,43	210,44 \pm 80,53	243,01 \pm 139,26
CHCM (g/dl)	39,03 \pm 13,52	36,88 \pm 5,64	39,14 \pm 5,86	52,05 \pm 7,72	47,34 \pm 17,27
Leucócitos (/mm ³)	5.815 \pm 2.592	12.375 \pm 2.505	9.900 \pm 2.985	7.375 \pm 2.430	7.627 \pm 3.808
Trombócitos (/mm ³)	127.000 \pm 63.646	206.500 \pm 10.106	176.286 \pm 82.766	136.625 \pm 152.651	256.701 \pm 357.466

Bioquímica			
Proteínas totais (g/dl)	3,89 ± 1,60	5,25 ± 0,91	5,49 ± 0,70
Globulina (g/dl)	2,69 ± 1,12	3,45 ± 0,81	3,20 ± 0,78
Albumina (g/dl)	1,44 ± 1,05	2,10 ± 0,14	2,03 ± 0,35
FA (UI/l)	17,88 ± 23,22	16,98 ± 6,72	13,30 ± 5,59
GGT (UI/l)	5,61 ± 3,53	7,00 ± 1,15	9,97 ± 4,78
Uréia (mg/dl)	13,01 ± 23,32	3,98 ± 1,44	4,67 ± 1,40
Creatinina (mg/dl)	0,35 ± 0,25	0,25 ± 0,05	0,28 ± 0,06
Ácido Úrico (mg/dl)	1,67 ± 1,11	4,50 ± 0,80	3,94 ± 1,45
Cálcio (mg/dl)	10,90 ± 1,34	12,72 ± 1,53	12,23 ± 1,24
Fósforo (mg/dl)	4,56 ± 1,38	7,83 ± 1,94	7,97 ± 0,65

Legenda: VCM = Volume Cospuscular Médio; HCM = Hemoglobina Cospuscular Média; CHCM = Concentração da Hemoglobina Cospuscular

Média; FA = Fosfatase Alcalina; GGT = Gamaglutamiltransferase.

DISCUSSÃO

A frequência de indivíduos sororeagentes a *Leptospira* spp. no presente estudo pode ser considerada relativamente alta em locais com confirmação de contato com o agente (36,4% no cativeiro e 18,2% em vida livre), o que se observou para ambas as espécies de crocodilianos amostradas. Entretanto, quando comparada com dados disponíveis na literatura, foi observada uma menor ocorrência de animais reagentes (Rossetti et al. 2003; Oliveira 2014; Pérez-Flores et al. 2016; Paz et al. 2019; Bauso et al 2020). A espécie de *Leptospira* com mais amostras reagentes neste estudo foi *L. interrogans*, com seis sorovares (Australis, Autummalis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Pyrogenes), tendo sido obtidas reações também para as espécies *L. santarosai* (sorovar Shermani) e *L. kirschneri* (sorovar Cynopteri). No Brasil, nos estados de Goiás e Mato Grosso, indivíduos de *C. crocodillus* de vida livre também foram sororeagentes à *Leptospira* spp., com uma taxa de ocorrência de 68,7% e 86,0%, respectivamente, e as espécies mais frequentes foram *L. biflexa* (sorovar Patoc), *L. interrogans* (sorovar Pyrogenes) e *L. borgpetersenii* (sorovar Tarassovi), ressaltando que um dos grupos testados reagiu a praticamente todos os 22 sorovares testados (Oliveira 2014). Recentemente, também no Brasil, no estado da Bahia, *C. latirostris* oriundos de cativeiro foram 95,7% considerados reagentes a anticorpos anti-*Leptospira* spp. e a espécie com maior ocorrência foi *L. kirschneri* (sorogrupo Grippytyphosa), seguida por *L. interrogans* (sorogrupo Djasiman) (Paz et al. 2019). Além do teste sorológico, a confirmação da presença da *L. interrogans* também foi obtida por diagnóstico molecular (Paz et al. 2019). Na Argentina, na província Chaco, indivíduos de *C. latirostris* e *C. yacare* oriundos de cativeiro e de vida livre foram testados e 80,7% apresentaram títulos sorológicos contra *Leptospira* spp., sendo 94,0% reagentes para *L. weilii* (sorovar Sarmin) e o restante para *L. borgpetersenii* (sorovar Javanica) e *L. interrogans* (sorovares Pyrogenes e Copenhageni) (Rossetti et al. 2003). Não houve diferença significativa entre as espécies analisadas (*C. latirostris* com 83,3% e *C. yacare* com 80,0%), mas houve um maior número de casos reagentes entre os

indivíduos de vida livre (95,6%), em comparação com os animais cativos (75,0%) (Rossetti et al. 2003). Também na Argentina, um estudo na província de Santa Fé, apontou uma maior ocorrência de anticorpos em *C. latirostris* de cativeiro (73,6%), em relação aos de vida livre (35,2%), e a principal espécie foi *L. interrogans* (sorovares Pyrogenes, Icterogaemorrhagiae e Canicola) (Bauso et al. 2020). No mesmo estudo, a presença da *Leptospira* também foi determinada por diagnóstico molecular em um indivíduo oriundo de cativeiro (Bauso et al 2020). No México, no estado de Quintana Roo, considerando as espécies *Crocodylus actus* e *Crocodylus moreletii* de vida livre, resultado reagente foi obtido para 100% dos espécimes testados e a espécie com maior frequência foi *L. kirschneri* (sorogrupo Grippytyphosa) (Pérez-Flores et al. 2016). No conjunto de estudos citados, a frequência de crocodilianos sororeativos à *Leptospira* spp. em vida livre variou entre 35,2% e 100%, enquanto em cativeiro a variação foi de 73,6% a 95,7%, sendo os valores obtidos no presente estudo aproximadamente a metade das menores taxas registradas na literatura para cada caso. Ressalta-se que os sorovares reagentes registrados no presente estudo correspondem aos sorovares já descritos na literatura como potencialmente ocorrentes em crocodilianos neotropicais, salvo o sorovar Shermani (*L. santarosai*) que é apresentado pela primeira vez no grupo estudado.

Os resultados aqui apresentados sugerem que o sistema de cativeiro pode ser um ambiente mais favorável ao surgimento de doenças (frequência de indivíduos sororeagentes duas vezes maior do que em vida livre), ressaltando que o nível de estresse dos animais pode estar aumentado e que as condições nutricionais e sanitárias nem sempre são adequadas. Com isso, também se eleva o risco de transmissão de patógenos zoonóticos, como é o caso da *Leptospira*. Destaca-se assim a importância da adoção de medidas de biossegurança e higiene adequadas para a manutenção de animais em cativeiro, independente da finalidade da criação, incluindo a renovação periódica da água dos recintos (discutido posteriormente). Além disso,

a realização de exames de rotina nos animais do plantel e o uso da sorologia nos animais que estão em quarentena é essencial para avaliação do risco de transmissão de doenças.

Todos os indivíduos reagentes para anticorpos anti-*Leptospira* spp. no presente estudo apresentavam saúde aparente boa. Os primeiros sinais clínicos de doença em crocodilianos são geralmente inespecíficos, principalmente na natureza, e incluem sinais como anorexia e letargia, podendo evoluir para óbito (Nevarez 2019). Répteis em cativeiro e em vida livre, mesmo que sejam assintomáticos, podem abrigar e excretar um grande número de diferentes patógenos que podem determinar infecções em seres humanos (Ebani e Fratini 2005). As bactérias são os principais agentes zoonóticos, como *Salmonella* spp., por exemplo, que é um agente etiológico comum na microbiota de répteis, causadora de doença grave em humanos, cuja transmissão já está bem definida (Mughini-Gras et al. 2016). Entretanto, informações sobre a disseminação de outras zoonoses graves e cada vez mais comuns aos répteis (como a Leptospirose) ainda são escassas (Ebani e Fratini 2005). Cepas patogênicas de *Leptospira* spp. têm a capacidade de formação de biofilmes em ecossistemas aquáticos, o que facilita a sobrevivência da bactéria e pode ser um dos principais fatores que controla a sobrevivência e a transmissão desse microrganismo no ambiente (Ristow et al. 2008). Ristow et al. (2008) sugerem que elas também podem se manter cronicamente em animais reservatórios, através da formação de agregados celulares que colonizam a região proximal dos túbulos renais. Pouco ainda se sabe sobre o grau de patogenicidade da *Leptospira* spp. em crocodilianos e a falta de amostragem e a dificuldade de detectar mortalidades na natureza podem refletir em uma falsa baixa incidência de patologias nessas populações (Bauso et al. 2020). Há relato, por exemplo, de um indivíduo de *Crocodylus moreletii* com alta titulação reagente (1:3200) para *Leptospira* spp. que apresentou baixa condição corporal e menor peso em relação aos outros indivíduos do mesmo tamanho (Perez-Flores et al. 2016). Os altos níveis de anticorpos encontrados em alguns animais sugerem processos recentes de infecção, mas amostras emparelhadas devem ser obtidas para determinar se há um aumento ou diminuição nos títulos

para uma melhor comprovação da doença (Bauso et al. 2020). Por outro lado, baixos títulos de anticorpos poderiam ser residuais de uma infecção passada ou de uma infecção recente, onde os anticorpos ainda estariam aumentando (Bauso et al. 2020). Neste sentido, sugere-se que os indivíduos reagentes no presente estudo tenham entrado em contato com a *Leptospira* spp. em algum momento passado, o que pode ser atribuído ao fato do ambiente onde estão inseridos estar contaminado pela bactéria. Ressalta-se ainda o fato de não haver variações significativas nos parâmetros hematológicos e bioquímicos entre animais reagentes e não reagentes nas duas localidades, o que reforça a proposição de serem casos de infecção passada.

Conforme citado, a comparação de parâmetros do hemograma e dosagem bioquímica de indivíduos reagentes e não reagentes da mesma espécie não evidenciou alterações significativas entre os animais, porém, quando o hemograma foi comparado para todo o grupo (*C. latirostris* e *C. yacare* juntas), os Leucócitos totais de jacarés reagentes apresentaram-se mais elevados em relação aos que não foram reagentes. Uma contagem elevada de leucócitos pode indicar infecção ou inflamação associada a doenças infectocontagiosas, sendo essa elevação maior em casos agudos, embora sejam geralmente reduzidas e mais sutis quando os casos são crônicos (Wilkinson e Divers 2020). Dito isso, o aumento de leucócitos sugere que estes animais estão em contato com agentes infecciosos, contudo, não se pode afirmar que os indivíduos estejam doentes, evidenciando a importância de fazer um acompanhamento e monitoramento dos indivíduos em estudos futuros a fim de compreender melhor a patogenicidade da *Leptospira* spp., bem como de outros agentes, em *C. latirostris* e *C. yacare*.

Exame hematológico em répteis é uma das ferramentas mais válidas para avaliar a resposta a doenças ou a terapias e pode ser uma ferramenta valiosa na avaliação de um paciente (Campbell 2015). Entretanto, além da espécie e de condições fisiológicas dos indivíduos (estado nutricional, sexo e condição reprodutiva, por exemplo), as condições ambientais externas (como temperatura, estação do ano, região geográfica, habitat e sistema de criação) também influenciam os componentes do sangue de répteis (Stacy et al. 2011).

Dessa forma, valores de referência de espécimes de vida livre normalmente são utilizados como um guia geral na interpretação de resultados de exames e apresentam uma melhor eficácia se os valores de referência são comparados entre indivíduos mais próximos filogeneticamente e que estão submetidos à fatores externos ambientais comuns (Stacy et al. 2011). Em geral, os resultados obtidos nesse estudo acompanham os parâmetros encontrados na literatura para as espécies *C. latirostris* e *C. yacare* (Troiano et al. 1996; Zayas et al. 2011; Vieira et al. 2003) e se apresentam dentro dos valores de referência sugeridos para *C. latirostris* por Zayas et al. (2011). Entretanto, ressalta-se a importância de uma melhor definição de valores de referência para ambas espécies. Neste sentido, ressalta-se que os indivíduos não reagentes de duas populações da mesma espécie (*C. latirostris*) e com diferentes origens (cativeiro e vida livre) apresentaram diferença significativa para 55,6% dos parâmetros relacionados ao hemograma e à dosagem bioquímica sérica no presente estudo. Assim, no momento da avaliação, definição e/ou comparação de valores de referência de *C. latirostris*, é necessário levar em consideração as peculiares de cada local, uma vez que condições e fatores externos estão estritamente relacionados com a fisiologia dos grupos estudados e podem alterar os parâmetros hematológicos e bioquímicos.

A transmissão da infecção por *Leptospira* spp. já foi classificada como sendo dependente da densidade (Brockie 1977; Caley e Ramsey 2001). Brockie (1977) relata que a densidade da população de pequenos roedores varia sazionalmente conforme disponibilidade de alimento e essa variação de tamanho populacional estaria diretamente associada com a prevalência de anticorpos contra *L. ballun* e *L. copenhageni* nos roedores. Caley e Ramsey (2001) determinaram que a densidade de populações de gambás influenciaria diretamente a contaminação de bovinos e recomendaram a castração dos gambás a fim de diminuir a taxa de transmissão. Por outro lado, Montiel-Arteaga et al. (2015) observaram que a prevalência de indivíduos de *Cynomys ludovicianus* reagentes para *L. interrogans* (sorovar Canicola) e *L. borgpetersenii* (sorovar Tarassovi) não foi positivamente relacionada com a densidade

populacional desse roedor. No presente estudo, apenas indivíduos de *C. latirostris* de cativeiro e *C. yacare* de vida livre apresentaram anticorpos anti-*Leptospira* spp. e, com base nas características das áreas de estudo, sugere-se que sejam fatores de risco para a transmissão desta doença nas espécies estudadas: a densidade dos crocodilianos em corpos d'água com a presença do agente, em associação com a densidade dos agentes infecciosos e com peculiaridades dos ambientes em que se encontram. No estudo de Rosetti et al. (2003), houve uma menor frequência de animais reativos cativos, em relação aos de vida livre, e inferiu-se que essa menor frequência poderia ter sido devido à troca de água das piscinas que ocorriam em dias alternados, enquanto a alta frequência obtida nos animais de vida livre devia-se ao ambiente onde foram capturados (lagoas rasas, com água quente e calma), que seria o ambiente perfeito para manter esse tipo de bactéria. Divergindo do que foi inferido por Rosetti et al. (2003), no trabalho de Oliveira (2014) não houve diferença estatística entre a frequência de animais reativos em cativeiro e vida livre. Por outro lado, no trabalho de Bauso et al. (2020), a porcentagem de animais reativos selvagens (35%) foi significativamente menor do que a dos animais cativos (74%). Os autores sugerem que isso era um fato já esperado, devido às altas densidades e temperaturas envolvendo as instalações de criação intensiva (Bauso et al. 2020). Neste sentido, ressalta-se que o CCL (36,4% de espécimes reagentes), por apresentar pequeno tamanho de corpo d'água, proporciona uma maior concentração de bactérias e as tornam mais disponíveis para infecção de novos indivíduos, o que pode ser agravado pela troca esporádica de água e maior densidade de animais. A região do Pantanal, por sua vez, por ser uma planície sazonalmente inundável, se caracteriza pelo ciclo de seca e cheia. As plantas e os animais são adaptados às suas enchentes e secas anuais, onde os períodos de seca pronunciada pressionam os animais domésticos e silvestres a se concentrarem nas proximidades de poças de água e canais de drenagem na busca de alimento e água (Santos et al. 2007). As coletas no PLN (18,2% de espécimes reagentes) foram realizadas durante a estação de seca e, assim como no estudo de Rosetti et al. (2003), os animais estavam muito

mais adensados em corpos d'água rasos e aquecidos, favoráveis para a bactéria, o que pode favorecer a contaminação dos animais. Um fato interessante é que o indivíduo capturado no Rio Miranda, próximo ao ambiente de brejo onde foram capturados animais reagentes à *Leptospira* spp., apresentou resultado não reagente, o que pode reforçar que a transmissão em crocodilianos esteja associada às características do ambiente, além da densidade de hospedeiros e do agente infeccioso. No caso da AMT (ausência de espécimes reagentes), embora a lagoa 2 receba efluentes de esgoto doméstico e os animais possam transitar entre as lagoas, os corpos d'água são maiores do que os amostrados nas outras áreas, o que diminui a densidade populacional dos animais e poderia diluir a concentração bacteriana, diminuindo conseqüentemente a probabilidade de infecção. Assim, propõem-se que locais com uma menor porção de água, com água parada (ou sem renovação periódica, no caso de cativeiro) e maior adensamento populacional de crocodilianos favoreçam a infecção por *Leptospira* spp. (fatores de risco), o que também pode ocorrer em outras doenças com ciclo semelhante.

A partir dos dados obtidos, não foi possível identificar, com base no hemograma ou no perfil bioquímico (renal e hepático), parâmetros que indicassem resposta de *C. latirostris* e *C. yacare* ao agente etiológico da Leptospirose. Isso pode ser devido ao fato dos quadros infecciosos não serem recentes (infecção passada), conforme discutido anteriormente. Apesar disso, com a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. é possível indicar a presença da *Leptospira* spp. no ambiente em que os animais vivem, sugerindo que os crocodilianos sejam potenciais espécies-sentinela do ambiente. Desta maneira, o presente estudo alerta para o risco da transmissão de Leptospirose pelo contato com *Caiman* spp., salientando que a utilização de Equipamento de Proteção Individual (EPI) é essencial no caso de profissionais que estão em contato direto com água, solo e animais em condição de cativeiro ou vida livre. Na Flórida, de 1995 a 1998, aproximadamente nove pessoas contraíram Leptospirose e as vítimas trabalhavam com jacarés de vida livre, sendo que a maioria teve contato com ninhos também (Hord 1998). Há alguns anos, também na Flórida, um policial estadual apresentou sintomas

iniciais da doença 10-14 dias após a remoção de uma carcaça de jacaré de vida livre sem o uso de luvas (Feuer e Domash-Martinez 2011). Nóbrega et al. (2019) também abordaram o perigo do contato entre humanos e jacarés ao manipular ninhos de *C. latirostris* sem o uso de EPI devido à presença de bactérias zoonóticas nos ovos e na estrutura dos ninhos. Ao avaliar o perigo zoonótico em vida livre, a caça ainda é o principal fator de risco para os crocodilianos e para os humanos. A lei brasileira (Lei nº 5.197, de 3 de janeiro de 1967, alterada Lei nº 7.653, de 12 de fevereiro de 1988) proíbe a caça, contudo, a existência da lei não garante a ausência destas atividades e a caça de crocodilianos ainda é uma atividade comum no Brasil (e.g. Alves et al. 2012; Chagas et al. 2015). Ressalta-se que o manuseio e a ingestão da carne de crocodilianos sem os devidos cuidados sanitários pode ser uma fonte de contaminação (Nóbrega et al. 2017; Silva et al. 2020) e via de infecção importante para os humanos, podendo levar ao estabelecimento de novos ciclos de zoonoses.

CONCLUSÃO

Com o presente estudo foi possível determinar que *C. latirostris* cativos e *C. yacare* de vida livre clinicamente hígidos podem ter tido contato com três espécies de *Leptospira* spp. e oito diferentes sorovares, ressaltando que um dos sorovares reagentes não havia sido registrado em crocodilianos neotropicais até o momento. A frequência de animais sororeagentes foi maior em cativeiro, embora os valores obtidos nos dois ambientes tenham sido menores em relação ao detectado em outras localidades. Com base nas características dos locais amostrados, sugere-se que a dinâmica dos ambientes (água parada ou sem renovação periódica) e o tamanho do corpo d'água, que por sua vez afeta a densidade dos animais e da bactéria, sejam fatores de risco para a infecção de crocodilianos pelo agente da Leptospirose. Recomenda-se que em estudos futuros seja realizada a comparação de dados clínico-laboratoriais de indivíduos que apresentam a manifestação clínica da doença para que assim se possa compreender melhor como a *Leptospira* spp. atua no organismo de crocodilianos. Para mais,

para melhor compreensão da ocorrência, epidemiologia e patogenicidade da Leptospirose em crocodilianos de vida livre, recomenda-se o monitoramento de populações selvagens com o uso de ferramentas moleculares para detecção de *Leptospira* spp. em amostras de sangue, urina e água para avaliação do risco de transmissão e a análise de amostras emparelhadas de soro para determinar o aumento ou a diminuição nos títulos de anticorpos, além da análise da patologia clínica dos animais para indicar o grau de acometimento da doença nos indivíduos. O monitoramento da saúde da vida selvagem gera informações que beneficiam muito a saúde pública, além da saúde animal e a conservação do meio ambiente. A Leptospirose é um problema zoonótico mundial e novos planos de ação para saúde pública devem ser estabelecidos levando-se em consideração a ecologia da doença para que se possa atuar apropriadamente em sua prevenção e controle, ao invés de se posicionar apenas em resposta aos surtos quando eles ocorrem.

REFERÊNCIAS

- Abdulla PK, Karstad L (1962) Experimental infections with *Leptospira pomona* in snakes and turtles. *Zoonoses Research* 1:295-306.
- Almosny NRP (2014) Patologia clínica em vertebrados ectotérmicos. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL (editores) Tratado de Animais Selvagens. São Paulo: Roca, pp.1598-1623.
- Alves Júnior JRF (2013) *Leptospira* spp. e *Brucella* spp. em tartarugas-da-Amazônia (*Podocnemis expansa*) do vale do rio Araguaia GO. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, São Paulo, Brasil.
- Alves RRN, Vieira KS, Santana GG, Vieira WLS, Almeida WO, Souto WMS, Montenegro PFGP, Pezzuti JC (2012) A review on human attitudes towards reptiles in Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment* 184:6877-6901.
<https://doi.org/10.1007/s10661-011-2465-0>
- Andrews RD, Reilly JR, Ferris D, Hanson LE (1965) Leptospiral agglutinins in sera from Southern Illinois herpetofauna. *Journal of Wildlife Disease* 1:55-59.
- Aronson MFJ, Sorte FAL, Nilson CH, Katti M, Goddard MA, Lepczyk CA, Warren PS, Williams NSG, Ciliers S, Clarkson B, Dobbs C, Dolan R, Hedblom M, Klotz S, Kooijmans JL, Sushinsky I, Werner P, Winter M (2014) A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers. *Proceedings of the Royal Society B* 281:20133330. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2013.3330>
- Ayres M, Ayres Júnior M, Ayres DL, Santos AA (2007) Bioestat – Aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Bio-Médicas. Belém: Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá.
- Barragan V, Chiriboga J, Miler E, Olivas S, Birdsell D, Hepp C, Hornstra H, Schupp JM, Morales M, Gonzales M, Reyse S, Cruz C, KEIM P, Hartskeerl R, Trueba G, Pearson T (2016) High *Leptospira* Diversity in Animals and Humans Complicates the Search for

- Common Reservoirs of Human Disease in Rural Ecuador. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10:e0004990. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004990>
- Barragan V, Nieto N, Keim P, Pearson T (2017) Meta-analysis to estimate the load of *Leptospira* excreted in urine: beyond rats as important sources of transmission in low - income rural communities. *BMC Research Notes* 10:71. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2384-4>
- Bauso J, Simoncini MS, Chiani Y, Schmeling MF, Larriera A, Vanasco NB, Piña CI (2020) Presence of *Leptospira* spp. in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) populations in Santa Fe, Argentina. *Heliyon* 6:e03837. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03837>
- Beldomenico PM, Rey F, Prado WS, Villarreal JC, Muñoz-De-Toro M, Luque E (2007) In ovum exposure to pesticides increases the egg weight loss and decreases hatchlings weight of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68:246-251. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.12.018>
- Bérnils RS, Castro TM, Almeida AP, Argolo AJS, Costa HC, Oliveira JCF, Silva-Soares T, Nóbrega YC, Cunha CJ (2019) Répteis ameaçados de extinção no estado do Espírito Santo. In: Fraga CN, Formigoni MH, Chaves FG (editores) Fauna e flora ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo. Santa Teresa: Instituto Nacional da Mata Atlântica, pp.270-293.
- Biscola NP, Fornazari F, Saad E, Richini-Pereira VB, Campagner MV, Langoni H, Barraviera B, Ferreira Junior RS (2011) Serological investigation and PCR in detection of pathogenic leptospires in snakes. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31:806-811. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2011000900013>
- Brasil A, Parentoni R, Farias R, Nery T, Vasconcellos S, Azevedo SS (2013) Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais mantidos em cativeiro na Paraíba. *Semina: Ciências Agrárias* 34: 2945. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6p2945>

- Brockie, RE (1977). Leptospiral infections of rodents in the North Island. *New Zealand Veterinary Journal* 25:89-96. <https://doi.org/10.1080/00480169.1977.34369>
- Caldicott DGE, Croser D, Manolis C, Webb G, Britton A (2005) Crocodile Attack in Australia: An Analysis of Its Incidence and Review of the Pathology and Management of Crocodilian Attacks in General. *Wilderness and Environmental Medicine* 16:143-159. [https://doi.org/10.1580/1080-6032\(2005\)16\[143:CAIAAA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1580/1080-6032(2005)16[143:CAIAAA]2.0.CO;2)
- Caley P, Ramsey D (2001) Estimating Disease Transmission in Wildlife, with Emphasis on Leptospirosis and Bovine Tuberculosis in Possums, and Effects of Fertility Control. *Journal of Applied Ecology* 38:1362-1370.
- Calle PP, Rivas J, Munoz M, Thorbjarnarson J, Holmstrom W, Karesh WB (2001) Infectious disease serological survey in free-ranging Venezuelan anacondas (*Eunectes murinus*). *Journal of Zoo Wildlife Medicine* 32:320-323. [http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260\(2001\)032\[0320:IDSSIF\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1638/1042-7260(2001)032[0320:IDSSIF]2.0.CO;2)
- Campbell KR (2003) Ecotoxicology of crocodilians. *Applied Herpetology* 1:45-163. <https://doi.org/10.1163/157075403766451225>
- Campbell TW (2015) Hematologia dos Répteis. In: Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW (editores) Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. São Paulo: Roca, pp.239-250.
- Campos Z, Llobet A, Piña CI, Magnusson WE (2010) Yacare Caiman *Caiman yacare*. In: Manolis SC, Stevenson C (editores) Crocodiles: Status Survey and Conservation Action Plan. Darwin: Crocodile Specialist Group, pp.23-28.
- CDC (1998) Outbreak of acute febrile illness among athletes participating in triathlons - Wisconsin and Illinois. *JAMA* 280:1473-1474. <https://doi:10.1001/jama.280.17.1473>
- Chagas ATA, Costa MA, Martins APV, Resende LC, Kalapothakis E (2015) Illegal hunting and fishing in Brazil: a study based on data provided by environmental military police. *Natureza & Conservação* 13:183-189. <https://doi.org/10.1016/j.ncon.2015.11.002>

- Cole JR, Sulzer CR, Pulssely AR (1973) Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. *Applied Microbiology* 25:976-980.
- Conole LE, Kirkpatrick JB (2011) Functional and spatial differentiation of urban bird assemblages at the landscape scale. *Landscape and Urban Planning* 100:11-23.
<https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2010.11.007>
- Costa R, Castellani TT, Tomás WM (2008) Abundância e locais de ocorrência do jacaré-de-papoamarelo (*Caiman latirostris*, Alligatoridae) no noroeste da Ilha de Santa Catarina, SC. *Biotemas* 21:183-187.
- Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, Ko AI (2015) Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9:p.e0003898. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003898>
- Coutinho ME, Campos ZMS, Cardoso F, Martineli P, Castro A (2005) Ciclo reprodutivo de machos e fêmeas de jacaré-do-Pantanal, *Caiman crocodilus yacare*. *Comunicado Técnico Embrapa Pantanal* 51:1-5.
- Coutinho ME, Marioni B, Farias IP, Verdade LM, Bassetti L, Mendonça SHST, Vieira TQ, Magnusson WE, Campos Z (2013) Avaliação do risco de extinção do jacaré-de-papo-amarelo *Caiman latirostris* (Daudin, 1802) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira* 3:13-20.
- Crocodile Specialist Group (1996a). *Caiman latirostris*. The IUCN Red List of Threatened Species 1996:e.T46585A11062418.
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1996.RLTS.T46585A11062418.en>. Consultado em 05 de dezembro de 2019.
- Crocodile Specialist Group (1996b). *Caiman yacare*. The IUCN Red List of Threatened Species 1996:e.T46586A11062609.
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1996.RLTS.T46586A11062609.en>. Consultado em 05 de dezembro de 2019.

- Cruz JB (2014) Fisiopatologia do estresse. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL (editores) Tratado de Animais Selvagens. São Paulo: Roca, p. 154-169.
- Cupul-Magaña FG, Rubio-Delgado A, Reyes-Juárez A (2005) La mordida del cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*), es potencialmente séptica? *Revista Biomedica* 16:65-67.
<https://doi.org/10.32776/revbiomed.v16i1.531>
- Dixon JR, Yanosky AA (1999) Microchip marking system for identification of caiman hatchlings. *Bulletin of the Maryland Herpetological Society* 29:156-159.
- Ebani VV (2017) Domestic reptiles as source of zoonotic bacteria: A mini review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 10:723-728.
<https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.020>
- Ebani VV, Fratini F (2005) Bacterial zoonoses among domestic reptiles. *Annali della Facoltà di Medicina veterinária* 3:85-91.
- Enrietti MA (2001) Contribuições ao Conhecimento da Incidência de Leptospiras em Murídeos, Caninos e Suínos no Paraná. *Jubilee* 1946:311-342.
<https://doi.org/10.1590/S1516-89132001000500015>
- Evangelista KV, Coburn J (2010) *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology* 5:1413-1425.
<https://doi.org/10.2217/fmb.10.102>
- Farias IP, Marioni B, Verdade LM, Bassetti L, Coutinho ME, Mendonça SHST, Vieira TQ, Magnusson WE, Campos Z (2013) Avaliação do risco de extinção do jacaré-do-pantanal *Caiman yacare* (Daudin, 1802) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira* 3:21-30.
- Feuer B, Domash-Martinez T (2011) Report of case: leptospirosis after exposure to alligator carcass. *Osteopathic Family Physician* 3:23-26. <https://doi.org/10.1016/j.osfp.2010.04.003>
- Filho JVD, Franck KM, Gilio G, Cavali J (2020) Desenvolvimento da jacaricultura no Brasil. *Ciência e Saúde Animal* 2:32-47. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.12058653.v1>

- Filogônio R, Assis VB, Passos LF, Coutinho ME (2010) Distribution of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*, Daudin 1802, Alligatoridae) in the São Francisco River basin, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 70:961-968. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842010000500007>
- Fornazari F (2017) Are Reptiles Reservoirs of Leptospirosis? A Brief Discussion Based on Serological Studies. *EcoHealth* 14:203-204. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1243-z>
- Freitas-Filho RF (2008) Dieta e Avaliação de Contaminação Mercurial no Jacaré-de-Papo-Amarelo, *Caiman latirrostris*, Daudin 1802 (Crocodylia, Alligatoridae) em dois Parques Naturais no Município do Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.
- Galton MN, Sulzer CR, Santa Rosa CA, Fields MJ (1965) Application of microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Applied Microbiology* 13:81-85.
- García-Villafuerte MÁ, Brescovit AD (2019) Nuevo registro de sinantropía de *Filistatoides insignis* (Araneae: Filistatidae) en México y actualización del listado de arañas actuales de Chiapas. *Acta Zoológica Mexicana* 35:1-8. <https://doi.org/10.21829/azm.2019.3501136>
- Gebreyes WA, Dupouy-Camet J, Newport MJ, Oliveira CJB, Schlesinger LS, Saif YM, Kariuki S, Saif LJ, Saville W, Wittum T, Hoet A, Quessy S, Kazwala R, Tekola B, Shryock T, Bisesi M, Patchanee P, Boonmar S, King LJ (2014) The Global One Health Paradigm: Challenges and Opportunities for Tackling Infectious Diseases at the Human, Animal, and Environment Interface in Low-Resource Settings. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 8:e3257. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003257>
- Glosser JW, Sulzer CR, Eberhardt M, Winkler WG (1974) Cultural and serologic evidence of *Leptospira interrogans* serotype tarassovi infection in turtles. *Journal of Wildlife Disease* 10:429-435.

- Guetté A, Gaüzère P, Devictor V, Jiguet F, Godet L (2017) Measuring the synanthropy of species and communities to monitor the effects of urbanization on biodiversity. *Ecological Indicators* 79:139-154. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.04.018>
- Hord L (1998) Florida Game and Fresh Water Fish Commission: Leptospirosis warning. *Crocodile Specialist Group Newsletter* 17:11.
- Huchzermeyer FW (2003) Crocodiles: biology, husbandry and diseases. London: CABI Publishing.
- Hyakutake S, Biasi PD, Belluomini HE, Santa Rosa CA (1980) Leptospiroses in Brazilian snakes. *International Journal Zoonoses* 7:73-77.
- IBAMA (2008) Instrução normativa IBAMA N.º 169/2008, de 20 de fevereiro de 2008.
- Johnston RF (2001) Synanthropic birds of North America. In: Marzluff JM, Bowman R, Donnelly R (editores) *Avian Ecology and Conservation in an Urbanizing World*. Boston: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1531-9_3
- Klausnitzer B (1988) Verstädterung von Tieren. *Deutsche Entomologische Zeitschrift* 35:298.
- Ko AI, Galvão Reis M, RibeiroDourado CM, Johnson WD, Riley LW (1999) Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *Salvador Leptospirosis Study Group* 354:820-825.
- Lamarque F, Anderson J, Fergusson R, Lagrange M, Osei-Owusu I, Bakker L (2009) Human-wildlife conflict in Africa: causes, consequences and management strategies. *FAO Forestry Paper* 157:1-98. <http://www.fao.org/3/i1048e/i1048e00.pdf>
- Langley RL (2005) Alligator Attacks on Humans in the United States. *Wilderness & Environmental Medicine* 16:119-124. [https://doi.org/10.1580/1080-6032\(2005\)16\[119:AAOHIT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1580/1080-6032(2005)16[119:AAOHIT]2.0.CO;2)
- Lindtner-Knific R, Vergles-Rataj A, Vlahović K, Zrimšek P, Dovč A (2013) Prevalence of antibodies against *Leptospira* sp. in snakes, lizards and turtles in Slovenia. *Acta Veterinaria Scandinavica* 55:65. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-65>

- Luz C, Verrastro L, Vieira RC (2012) Conservação de *Caiman latirostris*: interações entre pescadores e o jacaré-de-papo-amarelo na comunidade Barra do João Pedro, no município de Maquiné, RS. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- Mason MR, Encina C, Sreevatsan S, Munoz -Zanzi C (2016) Distribution and Diversity of Pathogenic *Leptospira* Species in Peri-domestic Surface Waters from South Central Chile. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10:e0004895.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004895>
- Merchant ME, Roche C, Elsey RM, Prudhomme J (2003) Antibacterial properties of serum from the American alligator (*Alligator mississippiensis*). *Comparative Biochemistry Physiology B: Biochemistry Molecular Biology* 136:505-513.
[https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(03\)00256-2](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(03)00256-2)
- Mollov I, Velcheva I (2015) Ecological classification of the amphibian and reptilian fauna in the city of Plovdiv. *Journal of Bioscience and Biotechnology* SE/ONLINE:259-264.
- Montiel-Arteaga A, Atilano D, Ayanegui A, Ceballos G, Suzán G (2015) Risk factors associated with prevalence of antibodies to *Leptospira interrogans* in a metapopulation of black-tailed prairie dogs in Mexico. *Journal of Wildlife Diseases* 51:28-35.
<https://doi.org/10.7589/2013-10-259>
- Morse SS, Mazet JAK, Woolhouse M, Parrish CR, Carroll D, Karesh WB, Zambrana-Torrel C, Lipkin I, Daszak P (2012) Prediction and prevention of the next pandemic zoonosis. *The Lancet* 380:1956-1965. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)61684-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61684-5)
- Mughini-Gras L, Heck M, van Pelt W (2016) Increase in reptile-associated human salmonellosis and shift toward adulthood in the age groups at risk, the Netherlands, 1985 to 2014. *Euro Surveill* 21:30324. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.34.30324>
- Neto LLS (2014) Enriquecimento ambiental. In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL (editores) *Tratado de Animais Selvagens*. São Paulo: Roca, pp.154-169.

- Nevarez JG (2019) Differential Diagnoses by Clinical Signs Crocodylians. In: Divers SJ, Stahl SJ (editores) *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery*. St Louis: Elsevier, pp.1276-1282.
- Nóbrega Y, Nossa DN, Machado Y, Neves DNS, Tadokoro CE, Santos MRD (2017) *Caiman latirostris* (Broad-snouted Caiman). *Zoonosis. Herpetological Review* 48:838-839.
- Nóbrega YC, Paz JS, Nossa DN, Silva TT, Menezes PQ, Curbani F, Silva-Soares T, Silva ELF, Tobias FL, Tadokoro CE, Santos MRD (2019) Biological hazard associated with bacteria from nests and eggs of *Caiman latirostris* (Daudin, 1802). *Herpetology Notes* 12:905-908.
- Oksanen M, Vuorisalo T (2017) De-extinct species as wildlife. *TRACE: Finnish Journal for Human-Animal Studies* 3:4-27. <https://doi.org/10.23984/fjhas.59487>
- Oliveira SRP (2014) Detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp. em jacaré-tinga *Caiman crocodylos* (Linnaeus, 1758) de vida livre da região do médio rio Araguaia. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.
- Paz LN, Hamond C, Dias CS, Curvelo VP, Medeiros MA, Oriá AP, Pinna MH (2019) Detection of *Leptospira* spp. in Captive Broad-Snouted Caiman (*Caiman latirostris*). *EcoHealth* 16:694-700. Doi: <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01452-0>
- Pérez-Flores J, Charruau P, Cedeño-Vázquez R, Atilano D (2016) Evidence for Wild Crocodiles as a Risk for Human Leptospirosis, Mexico. *EcoHealth* 14:58-68. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1196-7>
- Plank R, Dean D (2000) Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. *Microbes and Infection* 2:1265-1276. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(00\)01280-6](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(00)01280-6)
- Poletta GL, Larriera A, Kleinsorge E, Mudry MD (2008) *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman) as a sentinel organism for genotoxic monitoring: basal values determination of

micronucleus and comet assay. *Mutation Research* 650:202-209.

<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2007.12.001>

Poletta GL, Larriera A, Kleinsorge E, Mudry MD (2009) Genotoxicity of the herbicide formulation Roundups (glyphosate) in broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) evidenced by the Comet assay and the Micronucleus test. *Mutation Research* 672:95-102.
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.10.007>

Poletta GL, Kleinsorge E, Paonessa A, Mudry MD, Larriera A, Siroski P (2011) Genetic, enzymatic and developmental alterations observed in *Caiman latirostris* exposed in ovo to pesticide formulations and mixtures in an experiment simulating environmental exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74:852-859.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.12.005>

Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard EC (2005) *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Porto Alegre: Artmed.

Ramos LS, Lozano F, Muzón J (2016) Odonata Diversity and Synanthropy in Urban Areas: A Case Study in Avellaneda City, Buenos Aires, Argentina. *Neotropical Entomology* 46:144-150. <https://10.1007/s13744-016-0443-5>

Reif JS (2011) Animal Sentinels for Environmental and Public Health. *Public Health Reports* 126:50-57. <https://doi.org/10.1177/003335491111260S108>

Rey F, Ramos JG, Stoker C, Bussmann LE, Luque EH, Munõz-De-Toro M (2006) Vitellogenin detection in *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae): a tool to assess environmental estrogen exposure in wildlife. *Journal of Comparative Physiology B* 176:243-251. <https://doi.org/10.1007/s00360-005-0045-8>

Rey F, González M, Zayas MA, Stoker C, Durando M, Luque EH, Munõz-De-Toro M (2009) Prenatal exposure to pesticides disrupts testicular histoarchitecture and alters testosterone levels in male *Caiman latirostris*. *General and Comparative Endocrinology* 162:286-292.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.032>

- Ristow P, Bourhy P, Kerneis S, Schmitt C, Prevost MC, Lilenbaum W, Picardeau M (2008) Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospires. *Microbiology* 154:1309-1317. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/014746-0>
- Rodrigues TCS, Santos ALQ, Lima AMC, Gomes DO, Brites VLC (2016) Anti- *Leptospira* spp. antibodies in *Crotalus durissus collilineatus* kept in captivity and its zoonotic relevance. *Acta Tropica* 158:39-42. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.02.006>
- Rossetti CA, Uhart M, Romero GN, Prado W (2003) Detection of leptospiral antibodies in caimans from the Argentinian Chaco. *Veterinary Record* 153:632-633. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.153.20.632>
- Rothan HA, Byrareddy SN (2020) The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of Autoimmunity* 109:102433. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433>
- Rothenburger JL, Himsworth CH, Nemeth NM, Pearl DL, Jardine CM (2017) Environmental Factors and Zoonotic Pathogen Ecology in Urban Exploiter Species. *EcoHealth* 14:630-641. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1258-5>
- Rueda-Almonacid JV, Carr JL, Mittermeier RA, Rodríguez-Mahecha JV, Mast RB, Vogt RC, Rhodin AGJ, Ossa-Velásquez J, Rueda JN, Mittermeier CG (2007) Las tortugas y los cocodrilianos de los países andinos del trópico. Bogotá: Conservación Internacional.
- Santos SA, Soriano BMA, Comastri Filho JA, Abreu UGP (2007) Cheia e seca no Pantanal: importância do manejo adaptativo das fazendas. Corumbá: Embrapa Pantanal.
- Shepherd SM, Shoff WH (2014) An urban Northeastern United States alligator bite. *American Journal of Emergency Medicine* 32:1-487. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2013.11.004>
- Silva FJ, Silva TR, Silva GCP, Santos EP, Alves Júnior JRF, Mathias LA (2013) Isolation of *Leptospira borgpetersenii* in synanthropic *Didelphis albiventris* in Jaboticabal, São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 50:457-461. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v50i6p457-461>

- Silva TT, Menezes PQ, Paz JS, Tobias, FL, Peterle TS, Zuccon LAT, Nóbrega YC, Curbani F, Nossa DN, Santos MRD (2020) *Caiman latirostris* (Broad-snouted Caiman). Poached meat consumption risk. *Herpetological Review* 51:319.
- Souza BCSS, Campos RML (2014) Carne de Jacaré – Revisão de Literatura. *Revista Eletrônica Nutritime* 11:3741-3754.
- Stacy NI, Alleman AR, Sayler KA (2011) Diagnostic Hematology of Reptiles. *Clinics in Laboratory Medicine* 31:87-108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006>
- Stanchi NO, Grisolia CS, Martino PE, Peluso FO (1986) Presence of antileptospira antibodies in ophidia in Argentina. *Revista Argentina de Microbiologia* 18:127-130.
- Stoker C, Rey F, Rodriguez H, Ramos JG, Sirosky P, Larriera A, Luque EH, Munòz-De-Toro M (2003) Sex reversal effects on *Caiman latirostris* exposed to environmentally relevant doses of the xenoestrogen bisphenol A. *General and Comparative Endocrinology* 133:287-296. [https://doi.org/10.1016/S0016-6480\(03\)00199-0](https://doi.org/10.1016/S0016-6480(03)00199-0)
- Sullivan ND (1974) Leptospirosis in animal and man. *Australian Veterinary Journal* 50:216-223.
- Thrall MA (2015) Classificação e abordagem diagnóstica da anemia. In: Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW (editores) *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. São Paulo: Roca, pp.170-179.
- Troiano JC, Silva MC, Esarte M, Marquez AG, Mira G (1996) Valores hematológicos de las espécies argentinas del género *Caiman* (Crocodylia-Alligatoridae). *Facena* 12:111-118.
- Verdade L (2001) O Programa Experimental de Criação em Cativeiro do Jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) da ESALQ/USP: Histórico e Perspectivas. In: Mattos WRS (editor) *A produção Animal na Visão dos Brasileiros*. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, pp.559-564.

- Verdade LM, Larriera A, Piña CI (2010) Broad-snouted *Caiman latirostris*. In: Manolis SC, Stevenson C (editores) Crocodiles: Status Survey and Conservation Action Plan. Darwin: Crocodile Specialist Group, pp.18-22.
- Vieira TQ, Silva FB, Heubel MTC (2003) Biometria, hematologia e genética de *Caiman latirostris* (Daudin, 1801) na região de Bauru (SP). *Salusvita* 21:67-75.
- Wilcox BA, Colwell RR (2005) Emerging and Reemerging Infectious Diseases: Biocomplexity as an Interdisciplinary Paradigm. *EcoHealth* 2:244-257.
<https://doi.org/10.1007/s10393-005-8961-3>
- Wilkinson SL, Divers SJ (2020) Clinical management of reptile renal disease. *The Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice* 23:151-168. 10.1016/j.cvex.2019.09.002
- William E (2014) Animal leptospirosis. In: Adler B (editor) *Leptospira* and leptospirosis. Berlin: Springer, pp.99-125.
- Wu J (2014) Urban ecology and sustainability: The state-of-the-science and future directions. *Landscape and Urban Planning* 125:209-221.
<https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2014.01.018>
- Yves A, Lima LMC, Bassetti LAB, Marques TS, Sousa BM (2018) Illegal hunting in a protect area: impacts on the broad-snouted caiman *Caiman latirostris* in the Rio Doce State Park, southeast Brazil. *Herpetology Notes* 11:765-768.
- Zar JH (2019) Biostatistical Analysis. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall.
- Zayas MA, Rodríguez HA, Galoppo GH, Stoker C, Durando M, Luque EH, Muñoz-de-Toro M (2011) Hematology and Blood Biochemistry of Young Healthy Broad-Snouted Caimans (*Caiman latirostris*). *Journal of Herpetology* 45:516-524. <https://doi.org/10.1670/10-158.1>
- Ziegler T, Olbort S (2007) Genital structures and sex identification in crocodiles. *Crocodile Specialist Group Newsletter* 26:16-17.

Zumla A, Hui DSC (2019) Emerging and Reemerging Infectious Diseases: Global Overview.

Infectious Disease Clinics of North America 33: 13-19.

<https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.09.001>