



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

IVIDY BISON

**CONTRIBUIÇÕES PARA A EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR *Leptospira* sp.
EM ANIMAIS SILVESTRES NO ESTADO DA PARAÍBA.**

AREIA

2023

IVIDY BISON

**CONTRIBUIÇÕES PARA A EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR *Leptospira* sp.
EM ANIMAIS SILVESTRES NO ESTADO DA PARAÍBA.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Arthur Willian de Lima Brasil

AREIA

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

B622c Bison, Ividy.

Contribuições para a epidemiologia da infecção por leptospira sp. em animais silvestres no Estado da Paraíba / Ividy Bison. - Areia:UFPB/CCA, 2023.
30 f. : il.

Orientação: Arthur Willian de Lima Brasil.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Ciência Animal. 2. Zoonose. 3. Preguiça-comum. 4. Leptospirose. 5. Nordeste. 6. Saúde única. I. Brasil, Arthur Willian de Lima. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(043.3)



República Federativa do Brasil
Ministério da Educação
Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

IVIDY BISON

CONTRIBUIÇÕES PARA A EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR *LEPTOSPIRA SP.* EM ANIMAIS SILVESTRES NO ESTADO DA PARAÍBA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal no Brejo Paraibano.

APROVADA EM 31/10/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. ARTHUR WILLIAN DE LIMA BRASIL

UFPB

Orientador

Prof^ª. Dr^ª. MARIA LUANA CRISTINY RODRIGUES SILVA

UFCG

Examinadora

Prof. Dr. RICARDO BARBOSA DE LUCENA

UFPB

Examinador

Dedico a minha mãe e ao meu pai, Eliane Spadotto e Ivo Bison, que, mesmo com a dor da saudade, nunca deixaram de me impulsionar para ir em frente.

Obrigada por tudo sempre.

AGRADECIMENTOS

Uma vez me disseram que o mestrado passava em um piscar de olhos, relutei em acreditar, mas depois de um piscar de olhos, eu estou aqui, querendo voltar no tempo. E quantas experiências recebi de presente, quanto ensinamento eu obtive e quantos amigos foram feitos nesse caminho. A pesquisa, que já era uma semente no meu coração, o mestrado fez florescer.

Por isso, eu agradeço a Deus, por essa vida, pela proteção e pelo cuidado dos que amo de perto e de longe.

Agradeço ao meu orientador Arthur Willian de Lima Brasil, por me abrir portas e por mais dois anos de parceria. Obrigada por depositar confiança ao meu trabalho e por me ensinar grandiosamente valores profissionais e pessoais. Obrigada também pelos momentos de otimismo nesses dois anos (foram muitos), que se tornou fundamental para a chegada até aqui.

À toda a equipe do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres, por terem me acolhido e por toda ajuda. Aos chefes Andrey e Alexandre, por toparem a realização da minha pesquisa e dos desdobramentos que se sucederam. Ao Sr. Heldo, pela estimulação a superar o medo de jacarés. E em especial, gostaria de agradecer ao Médico Veterinário Glenison Dias e ao pesquisador Audisio Alves, pela parceria nas coletas, por tantos ensinamentos acerca dos animais silvestres, pelas risadas e pelos cafezinhos. Agradeço também as pesquisadoras Rayla, Georgia e Ana Lúcia e ao pesquisador Beto. Vocês foram essenciais para que este trabalho fosse realizado, foi uma honra ter trabalhado com todos vocês.

Agradeço a Professora Dr. Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva e ao Professor Dr. Jeann Leal de Araújo pela colaboração, por toda a atenção e prestatividade. Também ao Dr. Rômulo Soares pelos ensinamentos no laboratório e pela parceria.

Agradeço a minha família, a minha mãe Eliane Spadotto, por estar sempre comigo, mesmo do outro lado do país. Ao meu pai, Ivo Bison, que me ensinou a amar e respeitar os animais. Obrigada por sempre me incentivarem a ir além e superar os meus limites, mesmo com tanta saudade, tudo que sou é resultado do que vocês sempre me ensinaram.

Às minhas duas famílias de João Pessoa, a Dayane e Lorrane, que fizeram da minha casa um lar, em momentos felizes, em momentos tristes, minhas irmãs por toda vida. E a Débora

e Jackson, que me adotaram e me ouviram chorar nestes dois últimos anos. Sou muito grata pelas suas vidas e agradeço por nunca me deixarem sozinha.

Aos amigos que fiz durante o mestrado: Lucas, Cláudio, Letícia e Maria que compartilharam os momentos bons e ruins comigo. À minha amiga Thaís, que auxiliou em minhas coletas, na realização dos exames, a manter a rotina do laboratório e ser uma excelente companhia. Agradeço por cada momento, quero levar vocês por toda a vida.

Aos amigos do outro lado do país, Leonardo, Felipe, Amanda, Mayara, que mesmo com a quilometragem não os impediram de estar por perto.

Agradeço a Universidade Federal da Paraíba por ter me acolhido e possibilitado a realização do mestrado.

E a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) do Brasil pela concessão do apoio financeiro, que foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

RESUMO

As ações antropogênicas geram danos irreversíveis a natureza, destruindo o habitat de muitos animais silvestres. A expansão urbana e agrícola sobre áreas naturais, assim como as atividades de tráfico, vem propiciando o contato cada vez maior destes animais com os seres humanos, podendo resultar na transmissão de doenças zoonóticas, tais como a leptospirose. Este trabalho teve como objetivo caracterizar a situação epidemiológica da leptospirose em mamíferos silvestres do estado da Paraíba provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres. Foram coletadas amostras de 90 mamíferos silvestres, sendo destes 65 animais foram colhidas amostras de sangue, dos quais foram submetidos a análise sorológica através do Teste de Soroaglutinação Microscópica (MAT), e 34 animais que chegaram em óbito ou que vieram a óbito no momento da pesquisa, onde foram colhidas de amostras de tecido obtidas através da necropsia. Ainda, destes, em nove animais foi possível a obtenção de ambas amostras, os quais vieram a óbito no período da realização da pesquisa. Os fragmentos de necropsia foram encaminhados para a caracterização molecular, através da PCR. No exame sorológico, nove (13,8%) animais apresentaram sororeatividade, e anticorpos contra seis sorovares foram encontrados. Anticorpos contra o sorovar Pomona foi identificado em três animais (3/9), seguido do sorovar Hebdomadis, Gryppotyphosa, Pyrogenes, Patoc e Shermani. Foi identificado pela primeira vez anticorpos contra a *Leptospira* spp. em *Sapajus* spp. na Paraíba. Na análise molecular, dos 34 animais, 12 (34,3%) tiveram amplificação de DNA da *Leptospira* sp. para *LipL32* em pelo menos um órgão coletado. Foram identificadas seis preguiças positivas, onde quatro tiveram DNA de *Leptospira* sp. em encéfalo. Espécies patogênicas estão circulantes na fauna silvestre da Paraíba, a monitorização e a realização de outros estudos são necessários para compreender o papel desses animais na epidemiologia da leptospirose.

Palavras-Chave: zoonose; preguiça comum; leptospirose; nordeste; saúde única.

ABSTRACT

Anthropogenic actions generate irreversible damage to nature, destroying the habitat of many wild animals. Urban and agricultural expansion into natural areas, along with trafficking activities, have increased the contact between these animals and humans, potentially resulting in the transmission of zoonotic diseases such as leptospirosis. This study aimed to characterize the epidemiological situation of leptospirosis in wild mammals from the state of Paraíba, sourced from the Center of Wild Animal Triage. Samples were collected from 90 wild mammals, with blood samples obtained from 65 animals subjected to serological analysis using the Microscopic Agglutination Test (MAT). Additionally, samples were collected from 34 animals that either arrived deceased or succumbed during the research, and these underwent necropsy for tissue sample collection. Of these, nine animals yielded both types of samples and passed away during the study period. Necropsy fragments were sent for molecular characterization through PCR. In the serological examination, nine (13.8%) animals exhibited seroreactivity, with antibodies against six serovars identified. Antibodies against the Pomona serovar were found in three animals (3/9), followed by Hebdomadis, Gryppotyphosa, Pyrogenes, Patoc, and Shermani. This study identified, for the first time, antibodies against *Leptospira* spp. in *Sapajus* spp. in Paraíba. In the molecular analysis, 12 out of 34 animals (34.3%) showed DNA amplification of *Leptospira* sp. for *LipL32* in at least one collected organ. Six positive sloths were identified, with four having *Leptospira* sp. DNA in the brain. Pathogenic species are circulating in the wildlife of Paraíba, and monitoring along with further studies are necessary to understand the role of these animals in the epidemiology of leptospirosis.

Keywords: zoonosis; sloth; leptospirosis; northeast; one health.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de mamíferos silvestres e suas respectivas espécies reagentes na pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira sp.* de acordo com o sorogrupo e o título de anticorpos provenientes do estado Paraíba, Brasil, no período de 2022 a 2023. 17

Tabela 2 Caracterização molecular de amostras teciduais de mamíferos silvestres provenientes do estado Paraíba, Brasil, no período de 2022 a 2023. Porcentual de animais positivos em cada fragmento submetido para realização do PCR. 19

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

µL	Microlitros
CETAS	Centro de reabilitação de animais silvestres
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
MAC	Macintosh
MAT	Teste de soroaglutinação microscópica
mL	Mililitro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
sp.	Espécie
spp.	Espécies

SÚMÁRIO

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	10
2. CAPÍTULO I - <i>Leptospira</i> sp. EM MAMÍFEROS SILVESTRES DA PARAÍBA¹	12
2.1 RESUMO	12
2.2 INTRODUÇÃO	12
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS	14
2.3.1 Área de estudo e procedência das amostras.....	14
2.3.2 Animais e amostras biológicas.....	14
2.3.2.1 Coleta de sangue.....	14
2.3.2.2 Coletas de tecidos.....	14
2.3.3 Diagnóstico sorológico.....	15
2.3.4 Identificação molecular de <i>Leptospira</i> sp.....	15
2.3.5 Aprovação de ética.....	16
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
2.5 CONCLUSÃO	22
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
REFERÊNCIAS	24

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A Organização Mundial de Saúde define zoonose como qualquer enfermidade de origem animal que seja naturalmente transmitida ao ser humano, podendo sua propagação ocorrer tanto através do contato direto quanto indireto com animais domésticos, animais de produção e animais silvestres (OMS, 2020). As zoonoses se tornaram um problema aos sistemas de saúde, uma vez que são responsáveis por grande parte das afecções que atingiram a população humana nas últimas décadas, exigindo simultaneamente o controle das zoonoses existentes e o enfrentamento do surgimento de novas doenças e formas de infecção (Taylor; Lathan; Woolhouse, 2001; Ellwanger; Chies, 2021; Stephens et al., 2021)

Neste contexto, a compreensão do conceito de saúde única tem adquirido crescente relevância para atuação nas estratégias voltadas à prevenção e ao controle das doenças zoonóticas (Shaheen, 2022). Nos últimos anos, essa abordagem tem ganhado ainda mais notoriedade, especialmente devido a pandemia do COVID-19, onde a suspeita da possível origem da infecção ocorreu pelo consumo de um animal silvestre em um ambiente de venda de subprodutos animais (Gaviria; Martin, 2023).

Os animais silvestres desempenham papel importante na transmissão e manutenção de diversas doenças aos seres humanos. As ações antropogênicas e aproximação destes animais ao perímetro urbano, além do crescimento da atividade do tráfico de animais, tornam a população susceptível a adquirir inúmeras zoonoses. (Tazerji et al., 2022). Adicionalmente, atividades que envolvam o contato com animais silvestres ligadas a profissões ou recreação, como veterinários, tratadores de zoológicos e centros de reabilitação, fazendeiros, caçadores, pescadores, nadadores, entre outras atividades, também podem contrair a doença por maior exposição. (Žele-Vengušt et al., 2021)

Dentre as enfermidades transmitidas por animais silvestres, a leptospirose se destaca como uma doença reemergente de relevância global, com grande impacto na saúde pública (Cilia et al., 2021). A *Leptospira* sp. já foi identificada em grande variedade de animais de vida livre, incluindo répteis, anfíbios, aves e principalmente mamíferos silvestres (Jobbins; Alexander, 2015; Fernandes et al., 2020; Žele-Vengušt et al., 2021).

No Brasil a doença é frequentemente encontrada em animais de estimação e animais de produção, destacando a perda econômica substancial na bovinocultura, ovinocultura e caprinocultura (Fornazari et al., 2018). Na Paraíba, localizada no nordeste do país, a prevalência

de cães sororeativos é considerada alta em várias cidades do estado (Brasil et al., 2018; Bernardino et al., 2021). Os cães possuem papel importante na cadeia epidemiológica da leptospirose, visto que são animais próximos da população e que podem carrear sorogrupos que levam a uma potencial infecção aos seres humanos. Muitos desses animais são criados com acesso à rua, tendo contato com animais sinantrópicos e silvestres, sendo exposto e também podendo disseminar a *Leptospira* sp. (Bernadino et al., 2021).

Já em animais de produção, há uma positividade alta para a *Leptospira* sp. em bovinos, ovinos e caprinos no estado, com maior concentração de casos na região semiárida (Barnabé et al., 2023; Pimenta et al., 2019). Nestes animais a doença causa principalmente diminuição da performance reprodutiva, como casos de infertilidade e aborto, gerando perda econômica. Em fetos de ovelhas de um matadouro público da cidade de Patos, já foi identificado DNA de *Leptospira* sp. em variados órgãos, mostrando a transmissão vertical nestes animais (Nogueira et al., 2020).

No Nordeste os animais são frequentemente criados em modo extensivo ao pasto, perto de áreas de floresta, coabitando com diversos animais silvestres, muitos reservatórios da *Leptospira* sp. já conhecidos do meio livre. (Campos et al., 2017). No meio rural, pessoas envolvidas na criação destes animais, tais como fazendeiros e veterinários, são os mais susceptíveis a doença, assim como trabalhadores de frigoríficos que manipulam tecidos e órgãos destes animais (Delgado et al., 2022; Galan et al., 2021).

Em vista disso, a leptospirose representa uma relevante zoonose que demanda atenção no âmbito da saúde pública, necessitando de monitoramento constante. É notável a escassez de estudos voltados para a saúde de animais silvestres, os quais devem ser devidamente considerados. Essa lacuna ganha importância, sobretudo devido à crescente proximidade entre esses animais e seres humanos, se tornando um alerta à população para desencorajar a busca por esses animais, principalmente diante do comércio ilegal.

Esta dissertação é composta por um capítulo, contendo o artigo “*Leptospira* sp em mamíferos silvestres da Paraíba”.

2. CAPÍTULO I - *Leptospira* sp. EM MAMÍFEROS SILVESTRES DA PARAÍBA¹

Ividy Bison¹, Audisio Alves da Costa Filho², Glenison Ferreira Dias², José Rômulo Soares dos Santos³, Jeann Leal de Araújo¹, Maria Luana Cristiny Rodrigues da Silva⁴, Sergio Santos de Azevedo⁴, Roberta Nunes Parentoni³, Arthur Willian de Lima Brasil¹.

¹Programa de Pós-graduação em Ciência Animal - Universidade Federal da Paraíba

²Centro de triagem de animais silvestres (CETAS – PB-IBAMA)

³Instituto de Pesquisa em Fármacos - Universidade Federal da Paraíba

⁴ Programa de pós-graduação Ciência e Saúde Animal – Universidade Federal de Campina Grande

2.1 RESUMO

A urbanização e o crescimento agrícola sobre áreas naturais, assim como o tráfico de animais, têm propiciado o aumento no contato entre os animais silvestres e os seres humanos, o que pode resultar na transmissão de doenças zoonóticas, como a leptospirose. Objetivou-se a realização da caracterização sorológica e molecular de mamíferos silvestres para a leptospirose, através do Teste de Soroaglutinação Microscópica (MAT) e da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), respectivamente. Foram colhidas de 90 espécies amostras, sendo destas 65 de amostras sanguíneas e 34 fragmentos de tecidos obtidos através da necropsia de animais que vieram a óbito no momento da realização da pesquisa. Nove animais passaram por ambas as coletas. Foi encontrada a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 9 (13,8%) dos 65 animais avaliados. É relatado pela primeira vez a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* em *Sapajus* spp. Na avaliação molecular 12 (34,3%) dos 34 animais tiveram amplificação de DNA em pelo menos um órgão submetido para análise. Destes oito preguiças-comuns (*Bradypus variegatus*) avaliadas foram positivas para o gene *LipL32* nos órgãos provenientes de necropsia, sugerindo papel como potencial reservatório da doença em vida livre. Também foi identificado a presença de DNA da *Leptospira* sp. em encéfalo de preguiças e gatos-mouriscos (*Herpailurus yagouaroundi*). A circulação de espécies patogênicas na fauna exige monitoramento frequente das espécies silvestres, uma vez que esses animais estão cada vez mais próximos aos seres humanos.

2.2 INTRODUÇÃO

Os animais silvestres desempenham o papel de reservatório em inúmeras doenças e sua aproximação com os humanos e animais domésticos podem ocasionar transmissão de zoonoses, com aparecimento de novas formas de apresentações de doenças, ocorrência e patogenicidade (Žele-Vengušt et al., 2021). Neste contexto, o contato cada vez mais frequente da população

com animais silvestres é um alerta para saúde pública e deve ser constantemente monitorado (Tajerzi et al., 2022).

Entre as afecções de caráter zoonótico, a leptospirose é uma importante doença bacteriana reemergente e negligenciada, que atinge animais domésticos, silvestres e o homem (Zhang et al., 2019). Seu agente etiológico é a bactéria *Leptospira* sp., dividida em 68 espécies e mais de 300 sorovares (Arent et al., 2022; Vincent et al., 2019). A transmissão da leptospirose ocorre pelo contato direto e indireto à urina de animais infectados, onde o agente pode transpor a pele lesada e íntegra. Outras formas de transmissão já foram identificadas, como a ingestão de alimentos ou água contaminada e pela via sexual, como apresentado em bovinos de produção (Picardeau, 2017; Loureiro & Lilenbaun, 2020).

Em animais silvestres as manifestações clínicas da leptospirose se apresentam semelhantes às que ocorrem em animais domésticos, podendo incluir icterícia, caquexia, hepatite, nefrite, áreas hemorrágicas multifocais em órgãos como coração, pulmões, fígado, entre outros órgãos, infertilidade ou aborto, podendo evoluir para óbito (Cilia et al., 2021 – Huber et al., 2023). No entanto, uma questão significativa relacionada aos animais silvestres é que muitos destes não apresentam sintomas da doença. Isso desencadeia preocupação, uma vez que a ausência de sinais clínicos se torna um fator determinante para a infecção de indivíduos que manipulam esses animais (Sousa et al., 2020).

O diagnóstico da doença é realizado a partir de diferentes métodos, sendo o teste soroprecipitação microscópica (MAT), método preconizado pela Organização Mundial de Saúde (Faine et al., 1999), que detecta anticorpos contra a bactéria *Leptospira* sp. Outros exames que podem ser realizados para diagnóstico direto são a histopatologia, que consegue identificar as lesões causadas pelo agente e a caracterização molecular para identificação da espécie (Rodamilans et al., 2020- Sykes et al., 2022). O diagnóstico da leptospirose tem maior confiabilidade quando utiliza mais de um teste e considera múltiplos fatores, como a epidemiologia do local (Philip et al., 2020).

Com intuito de monitorar a leptospirose, visto que o melhor conhecimento da doença na fauna silvestre é importante para realização do controle e profilaxia da afecção nos humanos e animais, são necessários estudos de investigação epidemiológica, com a tipificação do agente *Leptospira* sp. envolvido, com o propósito de mensurar o impacto e alertar as possíveis consequências da interação entre os humanos, animais domésticos com animais de vida livre.

2.3 MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1 Área de estudo e procedência das amostras

Os animais silvestres do estudo foram capturados em ações de resgate e apreensão, advindos ou não do tráfico animais de silvestres, pelo batalhão especial de polícia militar ambiental do estado da Paraíba e pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), de todo estado da Paraíba. Em seguida, foram conduzidos ao Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) em Cabedelo, Paraíba, localizado no fragmento de mata atlântica com cerca de 103ha (ICMbio), para receberem tratamento e cuidado até a reintrodução na natureza ou destinação ao zoológico.

2.3.2 Animais e amostras biológicas

2.3.2.1 Coleta de sangue

Foram colhidas 65 amostras sanguíneas de 13 espécies distintas, a saber, 24 Macacos-prego (*Sapajus* spp.), nove saguis (*Callithrix jacchus*), sete tamanduás-mirim (*Tamandua tetradactyla*), cinco preguiças-comum (*Bradypus variegatus*), cinco timbus (*Didelphis albiventris*), três cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), três guaxinins (*Procyon cancrivorus*), s quatis (*Nasua nasua*), s ouriços-cacheiros (*Coendou prehensilis*), s gatos-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*), um tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*), um tatu galinha (*Dasybus novemcinctus*), e uma capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). O local de punção venosa variou entre as espécies, sendo acessadas as veias cefálicas, caudais laterais e medial, femoral e jugular. A quantidade de sangue coletada variou de acordo com o porte do animal, visando a obtenção de 2mL em cada coleta. Após a realização da coleta as amostras foram centrifugadas e armazenadas no laboratório de análises clínicas do CETAS e enviados para análise sorológica.

2.3.2.2 Coletas de tecidos

As amostras teciduais foram obtidas por meio de necropsia em 34 animais distribuídos em 12 espécies de mamíferos silvestres, sendo nove saguis (*Callithrix jacchus*), oito preguiças-comuns (*Bradypus variegatus*), cinco timbus (*Didelphis albiventris*), s ouriços-cacheiros (*Coendou prehensilis*), s tamanduás-mirim (*Tamandua tetradactyla*), s gatos-mouriscos (*Herpailurus yagouaroundi*), um macaco-prego (*Sapajus* spp.), uma cutia (*Dasyprocta leporina*), um cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), um tatu peba (*Euphractus sexcinctus*), uma capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e um tatu-galinha (*Dasybus*

novemcinctus). A identificação, histórico e descrição de lesões macroscópicas foram anotadas na ficha de necropsia. Dos animais Tamanduá-mirins (n=2), timbus (n= 2), preguiças comuns (n= 2), capivara (n= 1), tatu galinha (n= 1), foi possível colher amostras de sangue e amostras de tecidos uma vez que esses animais vieram a óbito semanas depois da chegada no CETAS no período da realização da pesquisa.

2.3.3 Diagnóstico sorológico

A detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp., foi feita pelo teste de soroglutinação microscópica (MAT). Foram utilizados como antígenos 19 sorogrupos a saber, Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Djasiman, Grippytyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogene, Semaranga, Serjoe, Shermani e Tarassovi. O diagnóstico sorológico foi feito em duas etapas: triagem e determinação de título de anticorpos. Na triagem todas as amostras sorológicas foram desafiadas para os 19 antígenos adotando o ponto de corte 1:100. Os soros reagentes foram novamente testados para a determinação do título final de aglutininas anti-*Leptospiras*, efetuando-se diluições seriadas em escala geométrica de razão até o título de 1:3200. O título final foi determinado pela recíproca da maior diluição que apresentou pelo menos 50% de leptospiras aglutinadas (FAINE et al.,1999). As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário do Departamento de Morfologia da Universidade Federal da Paraíba em João Pessoa, Paraíba.

2.3.4 Identificação molecular de *Leptospira* sp.

Para os animais que vieram a óbito, foi realizada a detecção molecular de *Leptospira* sp. a partir dos fragmentos de tecido colhidos na necropsia que foram congelados e enviados ao Laboratório de Doenças Transmissíveis da Universidade Federal de Campina Grande. Foram colhidos fragmentos de fígado, rim, bexiga, pulmões, coração, sistema nervoso central, útero e gônadas. A extração do DNA bacteriano foi realizada utilizando o kit DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen) de acordo com as recomendações do fabricante. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi feita de acordo com protocolo de Stoddard et al. (2009) utilizando o *primer* específico *lipL32*, gene encontrado apenas em leptospiras patogênicas.

2.3.5 Aprovação de ética

O presente trabalho foi aprovado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), mediante autorização emitida pelo Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade (SISBIO), sob o número de registro 83589-2. Ainda, seguindo os Princípios Éticos da Experimentação Animal do Conselho Nacional de Controle e Experimentação animal (CONCEA), foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba. Número de protocolo: 8156061022.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi identificada uma prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. de 13,8% (9/65) para os animais avaliados. As espécies animais reagentes, os sorogrupos e o título de anticorpos estão apresentados na tabela 1. Os títulos de anticorpos variaram entre 100 e 3200 para os sorogrupos Pomona (3/9), Hebdomadis (2/9), Grippothyphosa (1/9), Shermani (1/9), Patoc (1/9) e Pyrogenes (1/9).

Os primatas do gênero *Sapajus* spp. foram a espécie com maior número de indivíduos positivos no MAT representando 55,5% (5/9) dentre todos os animais reagentes. Esse gênero que até 2012 foi descrito como *Cebus* (ALFARO et al., 2012), tem sido relatado como reagente para leptospirose em alguns estados do Brasil tanto em animais de cativeiro (Ferreira et al. 2011) quanto em animais de vida livre (Girio et al., 2021) reagindo principalmente para os sorovares Patoc, Icterohemorrhagiae, Canicola e Autumnalis.

O presente estudo relata os primeiros casos de primatas do gênero *Sapajus* spp. reagentes para infecção por *Leptospira* sp. da Paraíba. Além dos primatas, um timbu (*D. albiventris*) reagiu ao sorogrupo Pomona, com alta titulação de anticorpos 1:3200. A transmissão do sorovar dos suínos às duas espécies pode estar relacionada a coabitação do mesmo ambiente, que eleva as chances de compartilharem a mesma fonte de alimento e de reservatórios de água (Arent et al., 2017). Estes animais podem ter acesso a criações de suínos domésticos ou a suínos de vida livre, como javalis e porcos do mato, tendo chance de serem expostos ao sorovar Pomona (Bartelloni et al., 2020). É importante destacar que o sorogrupo Pomona é reconhecido por causar doença em humanos (Browne et al., 2022), com isto esses animais podem atuar de forma relevante na epidemiologia da transmissão da leptospirose principalmente os primatas que eventualmente são adotados como animais de estimação (Norconk et al., 2019).

Tabela 1. Número de mamíferos silvestres e suas respectivas espécies reagentes na pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* sp. de acordo com o sorogrupo e o título de anticorpos provenientes do estado Paraíba, Brasil, no período de 2022 a 2023.

Animal	Sorogrupo	Título MAT						Total
		100	200	400	800	1600	3200	
	Pomona	-	-	-	-	2	-	2
Macaco – Prego (<i>Sapajus</i> spp.)	Gryppotyphosa	-	-	-	-	1	-	1
	Patoc	-	-	1	-	-	-	1
	Hebdomadis	-	-	-	-	1	-	1
Timbu (<i>Didelphis albiventris</i>)	Pomona	-	-	-	-	-	1	1
Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	Shermani	-	-	-	-	-	1	1
Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	Hebdomadis	-	-	-	-	-	1	1
Sagui (<i>Callithrix jacchus</i>)	Pyrogenes	1	-	-	-	-	-	1
Total de animais positivos:								9

A capacidade de adaptação dos didelphídeos a diferentes habitats propicia o seu aparecimento dentro do perímetro urbano, principalmente a peridomicílios, em busca de alimentos e de abrigo (Cantor et al., 2010). Na Paraíba, o *D. albiventris*, é comumente visto em praças, parques e locais arborizados onde há a circulação de seres humanos (Araújo; Moreira, 2020). Além da leptospira, esses animais já foram relatados como reservatórios de diversas doenças zoonóticas (Bitencourt; Bezerra, 2022).

Anticorpos contra os sorovares Gryppotyphosa e Hebdomadis já foram identificados em animais silvestres de vida livre (Browne et al., 2022; Shynia et al., 2022). Neste estudo, três animais, sendo s macacos-pregos (*Sapajus* spp.) (2/24) e um cachorros-do-mato (*C. thous*) (1/3) apresentaram-se reagentes aos sorovares. Em foco aos cachorros-do-mato, já foram relatados animais com anticorpos contra sorovares de *Leptospira* sp., como no estudo de Vieira et al. (2016) em mamíferos silvestres do pantanal e de Padilha et al. (2021) no sul do Brasil. A

densidade populacional de cachorros-do mato é abundante dentro da natureza, o que propicia maior probabilidade de contato com outros animais, além de também compartilharem fontes de água com animais domésticos, como no caso dos bovinos, que também são reagentes ao sorovar *Hebdomadis* (Magalhães et al., 2020), entretanto, pouco se sabe sobre o papel do cachorro-do-mato na cadeia epidemiológica da leptospirose, principalmente no Nordeste do País.

Um estudo recente de Medeiros et al. (2022) identificou que o sorogrupo *Hebdomadis* compartilha informações genéticas semelhantes ao sorogrupo *Sejroe*, sendo assim há possibilidade de reação cruzada na identificação de anticorpos. Assim como no presente estudo, o sorogrupo *Sejroe* já foi identificado anteriormente em cachorro-do-mato, o que reforça que os canídeos continuam tendo contato, possivelmente pela proximidade com o principal reservatório de ambos sorogrupos, os bovinos (Vieira et al., 2013).

Um Tamanduá-mirim foi identificado com anticorpos contra o sorogrupo *Shermani* neste estudo. Na Paraíba já foi relatado por Sousa et al. (2020), um surto de leptospirose em Tamanduás-mirim no Parque Zoobotânico Arruda Câmara em João Pessoa, mostrando que são animais predisponentes a desenvolver a forma severa da leptospirose, que leva o animal a óbito. Os tamanduás podem ter contato com roedores ou compartilhar fontes de água com animais reservatórios, tanto em cativeiro quanto no meio livre, podendo aumentar a chance de contato com a *Leptospira* spp.

O sorogrupo *Shermani* pertence à espécie *L. santarosai*, considerada patogênica. Além do tamanduá-mirim, outros mamíferos de vida livre já foram identificados com anticorpos contra o agente, tais como roedores e marsupiais (Fornazari et al., 2018; Albuquerque et al., 2017). Este sorogrupo também pode ser encontrado em mamíferos domésticos no Brasil, como bovinos, equinos e suínos (Rizzo et al., 2022; Rocha et al., 2022).

A alta titulação de anticorpos foi encontrada em oito (8/9) animais positivos (>1:400). A titulação de $\geq 1:100$ em regiões endêmicas considera animais domésticos positivos para a leptospirose, existindo a possibilidade de uma infecção ativa, com o desenvolvimento da doença e disseminação do agente no ambiente (Reagan; Sykes, 2019). Os animais avaliados neste estudo não apresentaram sinais clínicos sugestivos de leptospirose, o que leva a um alerta, pois, caso a infecção estivesse ativa nesses animais, não teria sido reconhecida pela equipe responsável por eles.

Em relação a análise molecular dos tecidos, realizado pela reação em cadeia da polimerase (PCR), 12 (34.3%) dos 34 mamíferos silvestres, tiveram amplificação de DNA para

Leptospira sp. em pelo menos um órgão obtido através da necropsia, como demonstrado na Tabela 2. Entre os animais positivos pelo alvo *LipL32* estão: três saguis (*Callithrix jacchus*) (3/9), seis preguiças comuns (*Bradypus variegatus*) (6/8), s gatos-mouriscos (*Herpailurus yagouaround*) (2/2) e uma capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (1/1).

Tabela 2 Caracterização molecular de amostras teciduais de mamíferos silvestres provenientes do estado Paraíba, Brasil, no período de 2022 a 2023. Porcentual de animais positivos em cada fragmento submetido para realização do PCR.

Amostra	Órgão	<i>LipL32</i>	%
Sagui (<i>C. jacchus</i>)	Rim (ambos os lados)	1/3	33,3%
	Bexiga urinária	1/3	33,3%
	Fígado	1/3	33,3%
	Pulmão	1/3	33,3%
	Coração	1/3	33,3%
	Útero	1/3	33,3%
	Gônada	2/3	66,6%
Preguiça comum (<i>B. variegatus</i>)	Rim (ambos os lados)	6/6	100%
	Bexiga urinária	6/6	100%
	Fígado	6/6	100%
	Pulmão	6/6	100%
	Coração	6/6	100%
	Encéfalo	4/6	66,6%
Gato-Mourisco (<i>H. yagouaround</i>)	Rim (ambos os lados)	2/2	100%
	Bexiga urinária	2/2	100%
	Fígado	1/2	50%
	Pulmão	1/2	50%
	Coração	1/2	50%
	Encéfalo	2/2	100%
Capivara (<i>H. hydrochaeris</i>)	Rim (ambos os lados)	1/1	100%
	Coração	1/1	100%

Os bichos-preguiças (*Bradypus* spp.) exibem um comportamento notavelmente pacífico e são frequentemente considerados como animais carismáticos, um fator crucial que estimula o interesse humano em interagir, e em alguns casos, até mesmo criar esses animais (Andrade; Medeiros; Chiarello, 2020). É comum avistá-los no ambiente urbano, embora, como animais pertencentes a áreas de matas preservadas, estejam progressivamente perdendo seus habitats

naturais (Pedrosa; Castro; Rocha, 2021). Quando se encontram em situações de perigo, como em vias de transporte público, isso suscita uma crescente preocupação na população em relação a sua preservação, levando muitas vezes as pessoas a tentarem resgatá-las, frequentemente sem a devida proteção.

O ponto crucial neste estudo foram as oito preguiças-comuns analisadas (*B. variegatus*), onde seis apresentaram amplificação de DNA leptospírico (85,7%) dos órgãos submetidos à técnica de PCR. Estudos com leptospirose em preguiça são escassos, no Brasil Lilenbaum et al. (2002) avaliou s bichos-preguiças na cidade do Rio de Janeiro (RJ) utilizando o MAT, entretanto as duas não foram reagentes, divergindo, no presente estudo, utilizando a técnica molecular, 75% das preguiças-comuns foram identificadas com DNA de *Leptospira* sp. em seus órgãos. Neste estudo também foi utilizado a sorologia, sendo duas preguiças-comuns também encaminhadas a caracterização molecular, a qual não se mostraram reagente ao MAT, mas positivaram pelo PCR, corroborando com o estudo de Fernandes et al. (2020), que reforça a utilização de mais de um teste para identificação de animais positivos, destacando-se a técnica molecular pela sua alta sensibilidade e especificidade.

Este trabalho sugere que as preguiças-comuns podem ser potenciais reservatórios do agente *Leptospira* sp. no meio silvestre e a presença em órgãos como rins e bexiga pode indicar que estes animais também fazem a eliminação da bactéria pela urina para o ambiente. Esse dado deve servir de alerta para a manipulação destes animais, visto que há cada vez mais chances de contato com animais domésticos e o ser humano.

Nas preguiças-comuns também foram identificados em quatro animais positivos o gene *LipL32* em encéfalo, assim como em s gatos-mouriscos (*H. yagouaround*). Em timbus (*D. albiventris*) já foram relatados DNA leptospirico em sistema nervoso central (SNC) (Fernandes et al., 2020). No entanto, relatos de infecção por leptospira em sistema nervoso são mais frequentes em seres humanos (Nguyen; Chimunda, 2023; Lata et al., 2022; Almeida; Sazaki; Cabrera, 2022). A disseminação e colonização da *Leptospira* sp. em órgãos como o encéfalo não foi elucidada, mas em animais acredita-se que é necessário um período prolongado de infecção para que o agente consiga ultrapassar a barreira hematoencefálica (Ajayi; Antia; Oladipo, 2021).

Em gatos-mouriscos (*H. yagouaround*) outros órgãos também tiveram amplificação de DNA de *Leptospira* sp. Um estudo de um felino da mesma família já foi relatado sororeativo a infecção por leptospira, Brasil et al. (2013) identificou em uma jaguatirica (*Leopardus pardalis*) do Parque Zoobotânico Arruda Câmara na Paraíba anticorpos contra o sorovar

Icterohaemorrhagiae, comumente encontrando em pequenos roedores. Os felinos de vida livre são exímios caçadores e os roedores são a sua principal fonte de alimentação, além de também serem expostos a áreas alagadiças contaminadas com o agente.

É necessário destacar também que três saguis (*C. jaccus*) (3/9 - 33,3%) apresentaram amplificação de DNA em seus órgãos. O útero, o testículo e o ovário se incluem, um positivo em cada animal avaliado. A transmissão pela via sexual já foi sugerida em caprinos por Soares et al. (2023) e Rocha et al. (2022) assim como em bovinos por Barnabé et al. (2023) na Paraíba, já em animais silvestres um estudo feito por Cilia et al. (2020) em javalis identificou em amostras de testículo, útero, placenta e de fetos a presença de DNA leptospirico, sugerindo que estes animais também são capazes de transmitirem o agente através da via venérea.

Não é possível identificar se o mesmo ocorre com os saguis, mas a possibilidade desta transmissão e animais que possuem positividade para o alvo *LipL32* em rins e bexiga pode também ser uma preocupação para a população, já que estes animais estão amplamente difundidos dentro das cidades, devido as interferências em seu habitat (Andrade, 2021). Muitos desses animais são severamente acometidos por acidentes como atropelamento e choque elétrico (Rodrigues; Martinez, 2014), precisando de atendimentos em centros reabilitação ou clínicas especializadas, podendo expor a médicos veterinários e tratadores a *Leptospira* spp.

As capivaras (*H. hydrochaeris*) são reservatórios da *Leptospira* sp. e é reconhecido que grande parte dos animais livres da natureza estão infectados (Albuquerque et al. 2017). A única capivara avaliada neste estudo não foi reagente ao MAT, no entanto ao realizar a caracterização molecular, o coração e os rins desses animais foram positivos para o alvo *LipL32*. Assim como em outras cidades do país (Serra-medeiros et al., 2021), algumas capivaras podem ser vistas circulando dentro do ambiente urbano de João Pessoa, próximo aos fragmentos de Mata Atlântica ainda conservados e do principal rio que atravessa a cidade, o Rio Jaguaribe, onde populações de baixo poder aquisitivo se alocam em áreas de ocupações irregulares na beira das margens fluviais (Santos, 2016). Esta situação traz consigo um potencial risco para a população da cidade, sobretudo para os grupos mais vulneráveis, devido ao fato de as capivaras atuarem como hospedeiras do patógeno *Leptospira* sp.

2.5 CONCLUSÃO

Constatou-se que espécies patogênicas de *Leptospira* spp estão circulantes na fauna de mamíferos silvestres apreendidos na Paraíba o que torna mais relevante o papel de monitoramento frequente de espécies silvestres, uma vez que esses animais vêm perdendo seu habitat natural, devido a urbanização e o crescimento agrícola, e estão mais próximos dos seres humanos.

Além disso, a alta casuística de preguiças-comuns com DNA da *Leptospira* sp., em vários tecidos sugere que esses animais podem ser reservatórios da doença e eliminar o agente através da urina. Estudos referentes ao papel da transmissão da Leptospirose por esses animais precisam ser realizados a fim de compreender a epidemiologia da doença na região.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leptospirose é uma importante doença zoonótica presente em todos os meios, inclusive o silvestre. A identificação de espécies patogênicas de *Leptospira* spp. em animais silvestres é fundamental para monitorar novos hospedeiros e formas de infecção. Este trabalho identificou em diferentes espécies silvestres da fauna a presença de anticorpos ou do DNA para *Leptospira* spp., o que serve de alerta para quem procura estes animais para atividades ilegais, tais como a venda para criação e consumo. Pela destruição de seus habitats, causada pela ação humana e pela disponibilidade de alimentos, esses animais têm sido cada vez mais avistados em áreas urbanas, resultando em acidentes envolvendo veículos e ataques de animais domésticos a animais selvagens, além de representar um risco de transmissão de doenças aos seres humanos. Também alerta para ocupações que podem ter um maior contato com animais silvestres, como veterinários, tratadores, biólogos e outros, onde a utilização de equipamentos de proteção individual (EPI) é fundamental para reduzir a exposição a *Leptospira* sp. e outros agentes zoonóticos. Deve-se incentivar estudos visando a compreensão do papel dos mamíferos silvestres na cadeia epidemiológica da leptospirose, incluindo a investigação de seu papel e dos mecanismos do patógeno nesses animais, para implementação de estratégias eficazes na prevenção e no controle da doença.

REFERÊNCIAS

- AJAYI, O. L.; ANTIA, R. E.; OLADIPO, Temitope Morenikeji. Dissemination kinetics and pathology of canine *Leptospira icterohaemorrhagiae* isolate in a guinea pig infection model. **Journal Of Immunoassay And Immunochemistry**, v. 42, n. 3, p. 314-334, 14 jan. 2021.
- ALBUQUERQUE, N. F. MARTINS, G.; MEDEIROS, L.; LILENBAUM, W.; RIBEIRO, V. M. F. The role of capybaras as carriers of leptospires in periurban and rural areas in the western Amazon. **Acta Tropica**, v. 169, p. 57-61, maio 2017..
- ALFARO, J.W. L.; SILVA, J.S.; RYLANDS, A. B. How Different Are Robust and Gracile Capuchin Monkeys? An Argument for the Use of *Sapajus* and *Cebus*. **American Journal Of Primatology**, v. 74, n. 4, p. 273-286, 10 fev. 2012.
- ALMEIDA, D.R.; SAZAKI, A. P. M.; CABRERA, C. A. ENCEFALITE POR LEPTOSPIROSE EM PACIENTE PEDIÁTRICO: relato de caso. **The Brazilian Journal Of Infectious Diseases**, v. 26, p. 101886, jan. 2022.
- ANDRADE, A. C. de; MEDEIROS, S.; CHIARELLO, A. G. City sloths and marmosets in Atlantic forest fragments with contrasting levels of anthropogenic disturbance. **Mammal Research**, v. 65, n. 3, p. 481-491, 15 abr. 2020.
- ANDRADE, A. C. Density of marmosets in highly urbanised areas and the positive effect of arboreous vegetation. **Urban Ecosystems**. v. 25, n. 1, p. 101-109, 3 jun. 2021.
- ARAÚJO, Y. R.V.; MOREIRA, Z. C. G. Verde urbano na conservação da biodiversidade em João Pessoa, Paraíba. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n. 1, p. 73-82, 1 jan. 2020.
- ARENT, Z, PARDYAK, L.; DUBNIEWICZ, K.; PIACHNO, B.; KOTULA-BALAK, M. *Leptospira* taxonomy: then and now. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 78, n. 09, p. 6694-2022, jun. 2022.
- ARENT, Z. J.; GILMORE, C.; AYANZ, J. M. San-Miguel; NEYRA, L. Quevedo; GARCÍA-PEÑA, F. J. Molecular Epidemiology of *Leptospira* Serogroup Pomona Infections Among Wild and Domestic Animals in Spain. **Ecohealth**, v. 14, n. 1, p. 48-57, 17 fev. 2017.
- BARNABÉ, N. N. C.; SOARES, R. R.; BARROS, D. K. S.; NOGUEIRA, D. B.; COSTA, F. T. R.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; MALOSSI, C. D.; ULLMANN, L. S.; COSTA, D. F. S.; SILVA, M. L. C. R.; HIGINO, S. S. S.; SANTOS, C. S. A. B; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J. Bovine Leptospirosis in Caatinga Biome, Brazil: new insights into diagnosis and epidemiology. **Tropical Medicine And Infectious Disease**, v. 8, n. 3, p. 177, 17 mar. 2023.
- BERNARDINO, M. G.; COSTA, D. F.; NOGUEIRA, D. B.; SILVA, M. L.C.R.; SILVA, E. G.; CARREIRO, A. N.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S. Cross-sectional survey for canine leptospirosis in an Atlantic Rainforest area of the semiarid of Paraíba state, Northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 41, p. 06640, 2021.

BERTELLONI, F.; MAZZEI, M.; CILIA, G.; FORZAN, M.; FELICOLI, A.; SAGONA, S.; BANDECCHI, P.; TURCHI, B.; CERRI, D.; FRATINI, F. Serological Survey on Bacterial and Viral Pathogens in Wild Boars Hunted in Tuscany. **Ecohealth**, v. 17, n. 1, p. 85-93, 7 fev. 2020.

BITENCOURT, M. M.; BEZERRA, A. M. R. Infection agents of Didelphidae (Didelphimorphia) of Brazil: an underestimated matter in zoonoses research. **Mammalia**, v. 86, n. 2, p. 105-122, 16 dez. 2021.

BRASIL, A. W. L.; COSTA, D. F.; PIMENTA, C. L. R. M.; PARENTONI, R. N.; ALVES, C. J.; SANTOS, C. S. A. B.; AZEVEDO, S. S. Prevalence and risk factors to *Leptospira* sp. infection in dogs attended at veterinary clinics in João Pessoa, Paraíba State, Northeastern Brazil. **Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science**, v. 55, n. 3, p. 144154, 7 nov. 2018.

BRASIL, A.; PARENTONI, R.; FARIAS, R.; NERY, T.; VASCONCELLOS, S.; AZEVEDO, S. S. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais mantidos em cativeiro na Paraíba. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2945, 11 dez. 2013.

BROWNE, E. S.; CALLEFE, J. L. S. R.; JESUS, E. R. S.; ZEPPELINI, C. G.; CREMONESE, C.; COSTA, F. A Systematic Review of the geographic distribution of pathogenic *Leptospira* serovars in the Americas, 1930-2017. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 3, p. 2-15, set. 2022.

CAMPOS, Â. P.; MIRANDA, D. F. H.; RODRIGUES, H. W. S.; LUSTOSA, M. S. C.; MARTINS, G. H. C.; MINEIRO, A. L. B. B.; CASTRO, V.; AZEVEDO, S. S.; SILVA, S. M. M. S. Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in cattle, sheep, and goats at consorted rearing from the State of Piauí, northeastern Brazil. **Tropical Animal Health And Production**, v. 49, n. 5, p. 899-907, 29 mar. 2017.

CANTOR, M.; FERREIRA, L. A.; SILVA, W. R.; SETZ, E. Z. F. Potential seed dispersal by *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) in highly disturbed environment. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 2, p. 45-51, jun. 2010.

CILIA, G.; BERTELLONI, F.; ALBINI, S.; FRATINI, F. Insight into the Epidemiology of Leptospirosis: a review of *Leptospira* isolations from unconventional hosts. **Animals**, v. 11, n. 1, p. 191, 14 jan. 2021.

CILIA, G.; BERTELLONI, F.; PIREDDA, I.; PONTI, M. N.; TURCHI, B.; CANTILE, C.; PARISI, F.; PINZAUTI, P.; ARMANI, A.; PALMAS, B. Presence of pathogenic *Leptospira* spp. in the reproductive system and fetuses of wild boars (*Sus scrofa*) in Italy. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 12, p. 0008982, 28 dez. 2020.

DELGADO, G. B.; CUNHA, R. C.; VASCONCELLOS, F. A.; SILVA, É. F. A leptospirose bovina e sua importância na saúde única: uma revisão integrativa. **Research, Society And Development**, v. 11, n. 3, p. 58311326702, 8 mar. 2022.

ELLWANGER, J. H.; CHIES, J. A. B. Zoonotic spillover: understanding basic aspects for better prevention. **Genetics And Molecular Biology**, v. 44, n. 11, p. 20200355-20200373, 2021.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2 ed. Melbourne: MediSci, 1999.272p.

FERNANDES, J. J.; PEIXOTO, A. L.; FARIAS, A. S. S.; PINHEIRO, T. J.; COSTA, D. F.; SILVA, M. L. C. R.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; MALOSSI, C. D.; ULLMANN, L. S.; AZEVEDO, S.S. Didelphis albiventris as a carrier of *Leptospira* sp. in the central nervous tissue in the semiarid region of Northeast, Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases**, v. 73, p. 101560, dez. 2020.

FERNANDES, J. J.; PINHEIRO, T. J.; COSTA, D. F.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; MALOSSI, C. Da.; ULLMANN, L. S.; SILVA, M. L. C. R.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J.; HIGINO, S. S. S. *Leptospira interrogans* infection in tegu lizard (*Tupinambis merianae*), Brazil. **Ciência Rural**, v. 50, n. 12, p. 1678-4596, nov. 2020.

FERREIRA, D.R.A.; LAROQUE, P. O.; WAGNER, P.G.C.; HIGINO, S. S. S.; AZEVEDO, S. S.; REGO, E. W.; MOTA, R. A. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em *Cebus* spp. mantidos em cativeiro no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 11, p. 1019-1023, nov. 2011.

FORNAZARI, F.; LANGONI, H.; MARSON, P. M.; NÓBREGA, D. B.; TEIXEIRA, C. R. *Leptospira* reservoirs among wildlife in Brazil: beyond rodents. **Acta Tropica**, v. 178, p. 205-212, fev. 2018.

GALAN, D. I.; ROESS, A. A.; PEREIRA, S. V. C.; SCHNEIDER, M. C. Epidemiology of human leptospirosis in urban and rural areas of Brazil, 2000–2015. **Plos One**. v. 16, n. 3, p. 0247763, 4 mar. 2021.

GAVIRIA, A. Z.; MARTIN, R. B. What do we know about the origin of COVID-19 three years later? **Revista Clínica Española (English Edition)**, v. 223, n. 4, p. 240-243, abr. 2023.

GIRIO, R. J. S.; ANDRADE-CRUVINEL, T. M.; VASCONCELLOS, S. A.; REPETTI, C. S. F.; FRIOLANI, M.; BUENO, P.C.S.; FELIX, M.; TEIXEIRA, D. B. Serological survey and DNA screening of *Leptospira* spp. in free-living adult tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigrurus*) in a forest reserve Southeast São Paulo State, Brazil. **Journal Of Medical Primatology**. v. 50, n. 1, p. 3-8, 2 set. 2020.

HUBER, D.; HABUŁ, J.; TURK, N.; VINICKI, K.; ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN, I.C. Acute lethal leptospirosis in a red fox (*Vulpes vulpes*). **Journal Of Comparative Pathology**, v. 201, p. 77-80, fev. 2023.

Identificação de mamíferos silvestres do pantanal sul-mato-grossense portadores de *Leptospira* spp. **Ciência Animal Brasileira**. v. 14, n. 3, p. 373-380, 29 set. 2013.

JOBBINS, S. E.; ALEXANDER, K. A. Evidence of *Leptospira* sp. infection among a diversity of African wildlife species: beyond the usual suspects. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**. v. 109, n. 5, p. 349-351, 10 fev. 2015.

LATA, K.; KOONWAR, S.; KANTA, C.; KALYAN, R. K.; VERMA, S. K. Prevalence of Neuroleptospirosis in Pediatric Acute Encephalitis Syndrome Cases: an experience of northern india tertiary care centre. **Indian Journal Of Public Health Research & Development**, v. 13, n. 2, p. 1-2, jul. 2022.

LILENBAUM, W; MONTEIRO, R.V; RISTOW, P; FRAGUAS, S; CARDOSO, V.S; FEDULLO, L.P.L. Leptospirosis antibodies in mammals from Rio de Janeiro Zoo, Brazil. **Research In Veterinary Science**, v. 73, n. 3, p. 319-321, dez. 2002.

LOUREIRO, A. P.; LILENBAUM, W. Genital bovine leptospirosis: a new look for an old disease. **Theriogenology**, v. 141, p. 41-47, jan. 2020.

MAGALHÃES, G. M.; ALVARENGA, P. B.; MEDEIROS-RONCHI, A. A.; MOREIRA, T; A.; GUNDIM, L. F.; GOMES, D. O.; LIMA, A. M. C. Leptospirosis in slaughtered cows in the Triangulo Mineiro, Minas Gerais: prevalence, serological profile and renal lesions. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 1-2, 11 fev. 2020.

MEDEIROS, E. J. S.; FERREIRA, L. C. A.; ORTEGA, J. M.; COSATE, M. R. V.; SAKAMOTO, T. Genetic basis underlying the serological affinity of *Leptospiral* serovars from serogroups Sejroe, Mini and Hebdomadi. **Infection, Genetics And Evolution**, v. 103, p. 105345, set. 2022.

NGUYEN, L.; CHIMUNDA, T. Neuro-leptospirosis – A batty diagnostic enigma. **Idcases**, v. 32, p. 01731-22, 2023.

NOGUEIRA, D. B.; COSTA, F. T. R.; BEZERRA, C. S.; SOARES, R. R.; BARNABÉ, N. N. C.; FALCÃO, B. M. R.; SILVA, M. L. C. R.; COSTA, D. F.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; MALOSSI, C. D. *Leptospira* sp. vertical transmission in ewes maintained in semiarid conditions. **Animal Reproduction Science**, v. 219, p. 106530, ago. 2020.

NORCONK, M. A.; ATSALIS, S.; TULLY, G.; SANTILLÁN, A.M.; WATERS, S.; KNOTT, C.D.; ROSS, S. R.; SHANEE, S.; STILES, D. Reducing the primate pet trade: actions for primatologists. **American Journal Of Primatology**, v. 82, n. 1, p. 1-9, 26 dez. 2019.

PADILHA, T. C.; ZITELLI, L. C.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; ROSA, V. B.; SOUZA, U.; PETERS, F. B.; JARDIM, M.; TRIGO, T. C.; RODRIGUES, R. O. Serosurvey of antibodies against zoonotic pathogens in free-ranging wild canids (*Cerdocyon thous* and *Lycalopex gymnocercus*) from Southern Brazil. **Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases**, v. 79, p. 101716, dez. 2021.

PEDROSA, E. P.; CASTRO, C. S. S.; ROCHA, F. L. Threats to the brown-throated three-toed sloth *Bradypus variegatus* Schinz, 1825 (Pilosa: bradypodidae) in an urban environment in state of paraíba, brazil. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 8, n. 19, p. 1169-1181, 2021.

PHILIP, N.; AFFENDY, N. B.; MASRI, S. N.; YUHANA, M. Y.; THAN, L. T. L.; SEKAWI, Z.; NEELA, V. K. Combined PCR and MAT improves the early diagnosis of the biphasic illness leptospirosis. **Plos One**, v. 15, n. 9, p. 0239069, 11 set. 2020.

PICARDEAU, M. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still terra incognita?. **Nature Reviews Microbiology**, , v. 15, n. 5, p. 297-307, 6 mar. 2017.

PIMENTA, C. L. R. M.; BEZERRA, C.S.; MORAIS, D. A.; SILVA, M. L. C. R.; NOGUEIRA, D. B.; COSTA, D. F.; SANTOS, C. S. A. B.; HIGINO, S. S. S.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S. de. Seroprevalence and predominant serogroups of *Leptospira* sp. in serological tests of ruminants in northeastern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, n. 4, p. 1513, 7 jun. 2019.

REAGAN, K. L.; SYKES, J. E. Diagnosis of Canine Leptospirosis. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, , v. 49, n. 4, p. 719-731, jul. 2019.

RIZZO, H.; ROCHA, L.L.L.; DINIZ, D.D.M.; LIMA, G. S.; JESUS, T. K. S.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; CASTRO, V. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in horses from Rio Grande do Norte, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 42. 16 mai. 2022.

ROCHA, L. M. S. B.; FARIA, P. J. A.; SOARES, R. R.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P; MALOSSI, C. D.; ULMANN, L. S.; SILVA, M. L. C. R.; HIGINO, S. S. S.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J. *Leptospira* spp. of the Urinary Tract of Female Carrier Goats in Semi-Arid Conditions. **Acta Scientiae Veterinariae**, 2 de fev. 2022

ROCHA, W.B.; SCHEIN, F.B.; BOAS, R. Vilas; ASSIS, N.A.; MATHIAS, L.A.; SILVA, G.C.P.; FERREIRA, M.B.; SANTOS, M.D. Prevalence and risk factors associated with anti-*Leptospira* spp agglutinins in cattle from dairy farmers in Ji-Paraná, RO, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [S.L.], v. 74, n. 3, p. 367-374, jun. 2022.

RODAMILANS, G. M.; FONSECA, M. S.; PAZ, L. N.; FERNANDEZ, C. C.; BIONDI, I.; LIRA-DA-SILVA, R. M.; MEYER, R.; PINNA, M. H.; PORTELA, R. D. *Leptospira interrogans* in wild *Boa constrictor* snakes from Northeast Brazil periurban rainforest fragments. **Acta Tropica**, v. 209, p. 105572-105576, set. 2020.

RODRIGUES, N. N.; MARTINEZ, R. A. Wildlife in our backyard: interactions between Wied's marmoset *Callithrix kuhlii* (Primates: Callithrichidae) and residents of Ilhéus, Bahia, Brazil. **Wildlife Biology**, , v. 20, n. 2, p. 91-96, abr. 2014.

SANTOS, C. L. .IMPACTOS DA URBANIZAÇÃO EM BACIAS HIDROGRÁFICAS: o caso da bacia do rio jaguaribe, cidade de João Pessoa/PB. **Revista de Geociências do Nordeste**, , v. 2, p. 1025-1033, 27 out. 2016.

SERRA-MEDEIROS, S.; ORTEGA, Z.; ANTUNES, P. C.; HERRERA, H. M.; OLIVEIRA-SANTOS, L. G. R. Space use and activity of capybaras in an urban area. **Journal Of Mammalogy**, v. 102, n. 3, p. 814-825, 15 mar. 2021.

SHAHEEN, M. N. F. The concept of one health applied to the problem of zoonotic diseases. **Reviews In Medical Virology**, v. 32, n. 4, 20 jan. 2022.

SHINYA, S.; MURAOKA, Y.; NEGISHI, D.; KOIZUMI, N. Molecular epidemiology of *Leptospira* spp. among wild mammals and a dog in Amami Oshima Island, Japan. **Plos One**, v. 16, n. 4, 22 abr. 2021.

- SOARES, R. R.; BARNABÉ, N. N. C.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; MALOSSI, C. D.; ULLMANN, L. S.; COSTA, D. F.; SILVA, M. L. C. R.; HIGINO, S. S. S.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J. Investigation of the Presence of *Leptospira interrogans* in Urinary and Genital Tracts of Male Goats Raised in the Semiarid Region of Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 218, p. 106880, jan. 2023.
- SOUSA, M. S.; SILVA, M. L. C. R.; AZEVEDO, S. S.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.; MALOSSI, C. D.; ULLMANN, L. S.; NASCIMENTO, H. H. L.; KOMMERS, G. D.; NERY, T. F. L.; LUCENA, R. B. *Leptospira interrogans* infection of southern tamanduas (*Tamandua tetradactyla*, Linnaeus, 1758) in Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, p. 2222-2225, 6 mar. 2020.
- STEPHENS, P. R.; GOTTDENKER, N.; SCHATZ, A. M.; SCHMIDT, J. P.; DRAKE, John M. Characteristics of the 100 largest modern zoonotic disease outbreaks. **Philosophical Transactions Of The Royal Society B: Biological Sciences**, v. 376, n. 1837, p. 20200535-20200549, 20 set. 2021.
- STODDARD, R. A.; GEE, J. E.; WILKINS, P. P.; MCCAUSTLAND, K.; HOFFMASTER, A.R.. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the *LipL32* gene. **Diagnostic Microbiology And Infectious Disease**, v. 64, n. 3, p. 247-255, jul. 2009.
- SYKES, J. E.; REAGAN, K. L.; NALLY, J. E.; GALLOWAY, R. L.; HAAKE, D. A. Role of Diagnostics in Epidemiology, Management, Surveillance, and Control of Leptospirosis. **Pathogens**, v. 11, n. 4, p. 395-419, 24 mar. 2022.
- TAYLOR, L. H.; LATHAM, S. M.; WOOLHOUSE, M. E. J. Risk factors for human disease emergence. **Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London. Series B: Biological Sciences**, v. 356, n. 1411, p. 983-989, 29 jul. 2001.
- TAZERJI, S. S.; NARDINI, R.; SAFDAR, M.; SHEHATA, A. A.; DUARTE, P. M. An Overview of Anthropogenic Actions as Drivers for Emerging and Re-Emerging Zoonotic Diseases. **Pathogens**, v. 11, n. 11, p. 1376-1402, 18 nov. 2022.
- VIEIRA, A. S.; NARDUCHE, L.; MARTINS, G.; PÉRES, I.A.H.F. S.; ZIMMERMANN, N. P.; JULIANO, R. S.; PELLEGRIN, A. O.; LILENBAUM, W. Detection of wild animals as carriers of *Leptospira* by PCR in the Pantanal biome, Brazil. **Acta Tropica**, v. 163, p. 87-89, nov. 2016.
- VIEIRA, A. S.; ROSINHA, G. M. S.; VASCONCELLOS, S. A.; MOARIS, Z. M.; VIANA, R. C.; OLIVEIRA, C. E.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. R.; MOURÃO, G. M.; BIANCHI, R. C.; NATALIE OLIFIERS, N.; RADEMAKER, V.; ROCHAS, F. L.; PELLEGRIN, A. O. VINCENT, A. T.; SCHIETTEKATTE, O.; GOARANT, C.; NEELA, V. K.; BERNET, E.; THIBEAUX, R.; ISMAIL, N.; KHALID, M. K. N. M.; AMRAN, F.; MASUZAWA, T.. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 5, p. 0007270-00007295, 23 mai. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *HEALTH TOPICS: zoonoses*. GENEVA: (2020).
Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>>. Acesso em
10 de Março de 2023.

ŽELE-VENGUŠT, D.; LINDTNER-KNIFIC, R.; MLAKAR-HRŽENJAK, N.; JERINA, K.;
VENGUŠT, G. Exposure of Free-Ranging Wild Animals to Zoonotic *Leptospira interrogans*
Sensu Stricto in Slovenia. **Animals**, v. 11, n. 9, p. 2722, 17 set. 2021.

ZHANG, C.; XU, J.; ZHANG, T.; QIU, H.; LI, Z.; ZHANG, E.; LI, S.; CHANG, Y.; GUO,
X.; JIANG, X. Genetic characteristics of pathogenic *Leptospira* in wild small animals and
livestock in Jiangxi Province, China, 2002–2015. **Plos Neglected Tropical Diseases**, v. 13,
n. 6, p. 0007513-0007531, 24 jun. 2019.