Lesões hepáticas e renais em jacarés-açu (*Melanosuchus niger*) de vida livre na Amazônia brasileira destinados ao consumo humano

Hepatic and Renal Lesions in Free Ranging Black Caimans (*Melanosuchus niger*) in the Brazilian Amazon for Human Consumption

Adriana Maciel de Castro Cardoso¹, Alex Junior Souza de Souza^{2,3}, Rodrigo Caldas Menezes⁴, Natália Freitas de Souza¹, Washington Luiz Assunção Pereira¹ & Rogério Tortelly⁵

ABSTRACT

Background: The black caiman (*Melanosuchus niger*), belongs to the order *Crocodylia*, family *Alligatoridae*. More than a hundred species of helminths, mainly trematodes and nematodes, parasitize crocodilians around the world and a considerable number of species of ascaris have been described in crocodilians. There are few descriptions of hepatic and renal diseases affecting *M. niger*, and no articles related to the histopathological aspects of this species were found. The aim of this study was to evaluate gross and microscopically the liver and kidneys of 100 specimens of *Melanosuchus niger* slaughtered in Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, from natural populations.

Materials, Methods & Results: The capture of the alligators was performed during the night, by members of the community itself in the channels and lagoons of the Reserve's lowland ecosystem. For the capture procedures, ties and harpoons were used and the animals were identified through the red glow of the eyes using the spot light lanterns. After being conducted to the slaughter area, the animals were submitted to the previous biometry to select which animals were appropriated for slaughter, they should measure between 2.10 m and 2.80 m. A total of 88 livers and 95 kidneys of *M. niger* of natural populations were analysed gross and microscopically, independently of gross lesions. The fragments collected for histopathological examination were approximately 0.5 cm thick and they were packed in appropriated identified containers with formalin 10% solution. The collection procedures were accompanied by field records for data recording. After fixation of the collected material, it were processes by habitual techniques for paraffin inclusion and hematoxylin-eosin staining. Grossly, none of the livers examined presented alterations and two kidneys presented parasitism. The hepatic microscopic analysis indicates in 3/88 cases, multiple foci of necrosis. In 7/88 cases, it was observed in the hepatic parenchyma, granulomas, mainly with epithelioid cells. In the histopathological examination of the kidney, the only alteration observe in 8/95 cases was the presence of granulomas.

Discussion: The occurrence of *Sebekia oxycephala* nymphs, a pentastomid, in the liver of *Alligator mississippiensis* was reported in other researches. The parasite *Sebekia mississippiensis* was observed in liver and lungs of *A. mississippiensis*. similar alterations were also noticed in this research. The coccidiosis related to hepatic manifestations in crocodilians is related to the parasite that may belong to the genus *Goussia*. In the liver, under the oocysts form leads to a diffuse hydropic degeneration of hepatocytes. In this study it was also observed the hydropic degeneration, however, associated to the necrosis areas that had in the periphery epithelioid cells infiltrated, without parasitic participation. Two renal trematodes are known in crocodilians, *Deurithrema gingae* and *Renivermis crocodyli* both in *Crocodylus porosus*. Also it was found in the renal parenchyma few encapsulated and well delimited parasites by a severe tissue reaction. Based on the gross and microscopic found, it is concluded that liver and kidney, although multiple organ functions, were not prone to infections, with granulomas being the main manifestation, and the etiopathogenesis of the areas of hepatic necrosis could not be defined.

Keywords: *Melanosuchus*, liver, kidney, granuloma, pathology.

Descritores: *Melanosuchus*, fígado, rim, granuloma, patologia.

DOI: 10.22456/1679-9216.83467

Received: 24 January 2018

Accepted: 7 June 2018

Published: 30 June 2018

¹Laboratório de Patologia Animal (LABOPAT), Instituto da Saúde e Produção Animal (ISPA), Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, PA, Brazil. ²Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), Faculdades Integradas do Tapajós (FIT), Santarém, PA. ³Seção de Hepatologia, Instituto Evandro Chagas (IEC), Belém. ⁴Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IEC), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brazil. ⁵Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brazil. CORRESPONDENCE: A.M.C. Cardoso [drikamaciel@yahoo.com.br - Tel.: +55 (91) 98819 5336]. Laboratório de Patologia Animal, ISPA, Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA. Av. Presidente Tancredo Neves n. 2501. CEP 66077-901 Belém, PA, Brazil.

INTRODUÇÃO

O jacaré-açu (*Melanosuchus niger*) pertencente à ordem *Crocodylia*, família *Alligatoridae*, também conhecido como Caiman negro, *black caiman*, lagarto negro, é a única espécie do gênero *Melanosuchus* [12]. Distribui-se pela região amazônica em países como o Brasil, Colômbia, Bolívia, Equador, Peru e algumas regiões da Guiana e Guiana Francesa [18].

Mais de uma centena de espécies de helmintos, principalmente trematódeos e nematoides, parasitam crocodilianos em todo o mundo [4]. Um grande número de espécies de ascarídeos tem sido descrito em crocodilianos, mostrando a rica e interessante biodiversidade dos parasitas [9].

Há poucas descrições sobre moléstias hepáticas e renais que acometem *M. niger*, não tendo sido encontrado durante a realização do levantamento bibliográfico nenhum artigo relacionado a aspectos histopatológicos desta espécie. *Alligator mississippiensis* e *Crocodylus niloticus* apresentam mais dados de literatura devido à importância histórica e econômica que estas espécies desempenham no comércio de peles [10].

Fundamentando-se no fato de que os relatos de enfermidades em crocodilianos são baseados em animais submetidos a sistemas de confinamento, objetivou-se neste estudo descrever as lesões macro e microscopicamente do fígado e rins de *Melanosuchus niger* oriundos de vida livre e abatidos na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá (RDSM).

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

A área da RDSM foi subdividida em duas partes. Uma Área Focal, com cerca de um sexto da área total, e uma Área Subsidiária complementar. A área focal tem 260.000 ha e é limitada no leste pela confluência dos rios Solimões e Japurá e a noroeste pelo paranã do Aranapu. O estudo foi realizado na área focal da RDSM, na comunidade de São Raimundo do Jarauá, pertencente ao município de Uarini/AM, com área total de 563 Km².

Captura dos animais

A captura dos jacarés foi realizada durante o período da noite, por membros da própria comu-

nidade nos canais e lagoas do ecossistema de várzea da Reserva. Para os procedimentos de captura foram utilizados laços e arpões e os animais eram identificados através do brilho vermelho dos olhos, pelo uso de lanternas do tipo *spot light*. Após serem conduzidos até a área de abate eram submetidos à biometria prévia para seleção dos animais destinados ao abate, os quais deveriam medir entre 2,10 m e 2,80 m. O Governo do Estado do Amazonas foi a instituição responsável pelo abate (processo no IBAMA nº 02001.005297/2006-19 e autorização nº 088/2007 - COFAN).

Processamento do material

Foram analisados macro e microscopicamente, 88 fígados e 95 rins de *Melanosuchus niger*, oriundos de populações naturais, independente de apresentarem alteração macroscópica. Os fragmentos colhidos para exame histopatológico possuíam aproximadamente 0,5 cm de espessura e foram acondicionados em frascos devidamente identificados contendo solução de formol a 10%. Os procedimentos de coleta foram acompanhados por fichas de campo para registro de dados.

Após fixação o material coletado foi processado pelas técnicas habituais para inclusão em parafina e coloração pela hematoxilina - eosina, no laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia, para posterior leitura em microscópio óptico.

RESULTADOS

Macroscopicamente nenhum dos fígados (Figura 1) examinados apresentou alteração e dois rins apresentaram parasitismo, entretanto, desses dois casos não foi possível obter material para exame histopatológico porque foi encaminhado para o setor de inspeção.

A análise microscópica hepática indicou em 3/88 casos, focos múltiplos de necrose (Figura 2), envoltos por infiltrado misto, granulocítico e de células epitelióides, além de vacuolização próxima às áreas de necrose. Em 7/88 casos observou-se também no parênquima hepático, granulomas (Figura 3) com predominância de células epitelióides.

No exame histopatológico renal a única alteração observada em 8/95 casos foi a presença de granulomas (Figura 4), os quais possuíam na área central estrutura parasitária.

Figura 1. Fígado de Jacaré-açu. Espessa cápsula fibrosa revestindo o órgão, sem alterações.

Figura 2. Fígado de Jacaré-açu. Áreas de necrose com aspecto eosinófilo bem definido (setas) envolvidas por infiltrado granulocítico e de células epitelióides (cabeça de seta), circunjacentes a estas áreas, observou-se hepatócitos em vacuolização. [Hematoxilina - Eosina. Obj. 20x].

Figura 3. Fígado de Jacaré-açu. Granuloma focal (seta). [Hematoxilina - Eosina. Obj. 10x].

Figura 4. Rim de Jacaré-açu. Granuloma focal com estrutura parasitária (seta) interna e reação inflamatória (cabeça de seta). [Hematoxilina - Eosina. Obj. 40x].

DISCUSSÃO

Hazen *et al.* [8] relataram a ocorrência de ninfas de *Sebekia oxycephala*, um pentastomídeo, no fígado de *Alligator mississippiensis*, causando considerável necrose e hemorragia neste órgão. Microscopicamente foi presenciado ainda infiltrado mononuclear e *germinal center* nos tecidos ao redor dos pentastomídeos. Schoeb *et al.* [16] também observaram *Sebekia mississippiensis* no fígado e nos pulmões de *A. mississippiensis*, porém com alterações histopatológicas não relacionadas à presença do parasita. Levando-se em consideração o aspecto de necrose hepática observada pelos primeiros autores, similar alteração também foi

encontrada nesta pesquisa, mas sem estar associada à hemorragia.

A coccidiose que apresenta manifestação hepática em crocodilianos, é atribuída a um parasita que pode pertencer ao gênero *Goussia*. No fígado, sob a forma de oocisto leva à degeneração hidrópica difusa dos hepatócitos, sendo a localização principal nos sinusóides hepáticos, provavelmente no interior das células de Kupffer e, previamente, nos macrófagos circulantes. Não havendo resposta inflamatória associada à presença do agente no órgão [6]. Neste estudo também observou-se degeneração hidrópica, entretanto, associado às áreas de necrose que possuíam

na periferia infiltrado de células epitelióides, sem a participação parasitária.

A respeito do granuloma focal encontrado no fígado de *Melanosuchus niger* estudados, este tipo de alteração não apresenta etiologia específica, podendo ter causa multifatorial, incluindo diversas bactérias atípicas que desenvolvem processos granulomatosos sistêmicos ou focais, como no caso em questão que em répteis, são comuns.

Contudo, existem relatos de lesões granulomatosas recém-formadas contendo material basofílico no centro, associadas à necrose e infiltrado de heterófilos devido à salmonelose em fígado de répteis [3]. Diferentemente dos achados dos últimos autores mencionados, não foram encontradas lesões granulomatosas com as características mencionadas e associadas a estas.

Nematóides do gênero *Eustrongylides* também induzem a formação de granulomas na região subcapsular do fígado. Estas lesões podem ser observadas, como granulomas maduros e imaturos, contendo parasitas degenerados e não-degenerados, respectivamente [14]. Divergindo dos achados do trabalho anterior, os granulomas observados não continham nenhuma forma parasitária.

Dois trematódeos renais são conhecidos em crocodilianos, *Deurithrema gingae* e *Renivermis crocodyli* [1,2], ambos de *Crocodylus porosus*. Também foram encontrados no parênquima renal alguns exemplares encapsulados e delimitados por uma reação tissular severa. Nos rins de crocodilo do Nilo também tem sido encontrado *Exotidendrium* sp. [9]. Nematódeos não identificados com 5 mm de comprimento foram encontrados em rins edemaciados de gavião jovem mantido em cativeiro [13]. Não existem relatos de parasitos renais em *M. niger*, apesar de terem sido observados no presente estudo em dois casos, sem causar nenhum tipo de alteração macroscópica no órgão, como hemorragia, fibrose, cistos, entre outras.

A classificação taxonômica dos parasitos encontrados não foi determinada.

Em tecido granulomatoso foi observado com imunohistoquímica positividade elevada de inclusão clamidial em tecido renal de cinco répteis estudados, principalmente nos macrófagos e nas áreas necróticas [17]. Micobacteriose disseminada foi encontrada em *Crocodylus johnstoni*. Os granulomas tipicamente apresentavam uma área central de necrose com o micro-organismo rodeado por células gigantes multinucleadas. Dependendo da cronicidade do processo também podia ser encontrada cápsula fibrótica [15]. Divergindo dos trabalhos anteriores, na presente pesquisa a reação granulomatosa ocorreu como forma delimitante de agente parasitário desconhecido, uma vez que este podia ser observado na área central da lesão.

CONCLUSÃO

Baseando-se nos achados macro e microscópicos conclui-se que o fígado e rim, apesar de serem órgãos de múltiplas funções mostraram-se pouco sujeitos a infecções, sendo a principal manifestação na forma de granulomas, não podendo ser definida a etiopatogenia das áreas de necrose no fígado.

Funding. Este estudo foi financiado pela Pró-reitoria de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal Rural da Amazônia (No. 032010-028).

Ethical approval. Os aspectos Legais para pesquisa em animais selvagens foram atendidos, constando autorização do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) processo nº 16337-1 assim como Anuência do gestor da Unidade de Conservação Estadual número 037/08 Centro Estadual de Unidades de Conservação/AM (CEUC) - Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Amazonas (SDS).

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Blair D. 1985. *Deurithrema gingae* n. g., n. sp. (Digenea: Plagiorchioidea) from the kidneys of a saltwater crocodile (*Crocodylus porosus* Schneider) from Australia. *Systematic Parasitology*. 7: 69-73.
- 2 Blair D., Purdie J. & Melville L. 1989. *Renivermis crocodyli* (Digenea: Exotidendriidae) n. g., n. sp. from the kidneys of the saltwater crocodile *Crocodylus porosus* in Australia. *Systematic Parasitology*. 14: 181-186.
- 3 Cambre R.C., Green E., Smith E.E., Montali R.J. & Bush M. 1980. Salmonellosis and arizonosis in the reptile collection at the National Zoological Park. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 177: 800-803.
- 4 Catto J.B. 1991. Taxonomia e ecologia dos helmintos parasitos de *Caiman crocodilus yacare* do Pantanal Mato-Grossense. 147f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

- 5 Fudge A.M. 2000. *Laboratory medicine avian and exotic pets*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 486p.
- 6 Gardiner C.H., Imes G.D., Jacobson E.R. & Foggin C.M. 1986. Sporulated Coccidian Oocysts resembling *Goussia* Labbe, 1896 in the viscera of Nile Crocodile. *Journal of Wildlife Diseases*. 22(4): 575-577.
- 7 Giguère S., Prescott J.F., Baggot J.D., Walker R.D. & Dowling P.M. 2006. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. 4th edn. Ames: Blackwell Publishing, 626p.
- 8 Hazen T.C., Aho J.M., Murphy T.M., Esch G.W. & Schmidt G.D. 1978. The Parasite Fauna of the American Alligator (*Alligator mississippiensis*) in South Carolina. *Journal of Wildlife Diseases*. 14: 435-439.
- 9 Huchzermeyer F.W. 2003. *Crocodiles: biology, husbandry and diseases*. Cambridge: CABI Publishing, 337p.
- 10 Huchzermeyer F.W. 2002. Diseases of farmed crocodiles and ostriches. *Revue scientifique et technique de l'Office international des épizooties*. 21(2): 265-276.
- 11 Jacobson E.R. 2007. *Infectious Diseases and Pathology of Reptiles. Color Atlas and Text*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 716p.
- 12 Martin S. 2008. Global diversity of crocodiles (Crocodilia, Reptilia) in freshwater. *Journal Hydrobiologia*. 595(1): 587-591.
- 13 Maskey T.M., Kölle P., Hoffmann R., Anders C.C. & Schleich H.H. 1998. Disastrous impact of intestinal infection in captive bred gharial hatchlings. *Veröffentlichungen aus dem Fuhlrott-Museum*. 4: 291-294.
- 14 Mihalca A.D., Fictum P., Skoric M. & Modry D. 2007. Severe granulomatous lesions in several organs from Eustrongylides larvae in a free-ranging dice snake, *Natrix tessellata*. *Veterinary Pathology*. 44: 103-105.
- 15 Reavill D. 2009. Urogenital Tract Diseases of Reptiles and Amphibians. In: *81st Western Veterinary Conference* (San Diego, USA). v722.
- 16 Schoeb T.R., Heaton-Jones T.G., Clemmons R.M., Carbonneau D.A., Woodward A.R., Shelton D. & Poppenga R.H. 2002. Clinical and Necropsy Findings Associated with Increased Mortality among American Alligators of Lake Griffin, Florida. *Journal of Wildlife Diseases*. 38(2): 320-337.
- 17 Soldati G., Lu Z.H., Vaughan L., Polkinghorne A., Zimmerman D.R., Huder J.B. & Pospischil A. 2004. Detection of Mycobacteria and Chlamydiae in Granulomatous Inflammation of Reptiles: A Retrospective Study. *Veterinary Pathology*. 41(4): 388-397.
- 18 Thorbjarnarson J.B. 2010. Black caiman *Melanosuchus niger*. In: Manolis S.C. & Stevenson C. (Eds). *Crocodiles: status survey and conservation action plan*. 3rd edn. Darwin: Crocodile Specialist Group, pp.29-39.