

**JÉSSICA DA SILVA PAULINO**

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM  
MAMÍFEROS SILVESTRES DA REGIÃO METROPOLITANA DE  
CAMPINAS, AGLOMERADO URBANO DE JUNDIAÍ E UNIDADE  
REGIONAL BRAGANTINA, ESTADO DE SÃO PAULO**

**RECIFE**

**2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNANBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**JÉSSICA DA SILVA PAULINO**

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM  
MAMÍFEROS SILVESTRES DA REGIÃO METROPOLITANA DE  
CAMPINAS, AGLOMERADO URBANO DE JUNDIAÍ E UNIDADE  
REGIONAL BRAGANTINA, ESTADO DE SÃO PAULO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

**Orientador:**

Prof. Dr. Jean Carlos Ramos da Silva

**Coorientadora:**

Dra. Cristina Harumi Adania

**RECIFE**

**2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM MAMÍFEROS**  
**SILVESTRES DA REGIÃO METROPOLITANA DE CAMPINAS,**  
**AGLOMERADO URBANO DE JUNDIAÍ E UNIDADE REGIONAL**  
**BRAGANTINA, ESTADO DE SÃO PAULO**

Dissertação de Mestrado elaborada por

**JÉSSICA DA SILVA PAULINO**

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Jean Carlos Ramos da Silva

Orientador – Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dra. Fernanda Loffler Niemeyer Attademo

Centro de Estudos e Monitoramento Ambiental – CEMAM

Dra. Renata Pimental Bandeira de Melo

Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador professor Dr. Jean Carlos Ramos da Silva, pela paciência durante esses dois anos, pelas palavras de incentivo e pela atenciosa orientação, sempre pensando de forma positiva e incentivando nas horas mais difíceis.

À minha coorientadora Dra. Cristina Harumi Adania, agradeço pelo aprendizado imensurável. Obrigada confiar e acreditar no meu trabalho.

A toda a equipe da Associação Mata Ciliar, presidida pelo Sr. Jorge Bellix de Campos, instituição que faço parte desde 2014, inicialmente como Aprimoranda, depois como médica veterinária e agora como colaboradora, onde comecei a dar meus primeiros voos. Agradeço imensamente por todos os momentos intensos vividos; foram muitos aprendizados, lágrimas, risadas e amigos que conquistei neste local, e não tenho palavras para agradecer. Agradeço a todos os colaboradores que de forma direta ou indireta me auxiliaram a alcançar meus objetivos e compartilharam diversas experiências.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE por me abrir portas e permitir meu crescimento profissional.

Aos professores Dr. José Soares Ferreira Neto, Dr. Ricardo Augusto Dias e Dr. Marcos Bryan Heinemann do Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), por permitirem a realização da análise das amostras de soros sanguíneos. E a Dra. Gisele Oliveira de Sousa por todos os ensinamentos, paciência e atenção nos dias que passei no laboratório.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelos recursos disponíveis para realização desta pesquisa.

Aos meus pais e irmãos pelo amor e carinho dedicado todos esses anos e pela enorme compreensão nos momentos de ausência que foram necessários para a minha construção. Amo vocês.

A todos os membros da minha família, que mesmo distantes me apoiaram e incentivaram de alguma forma para realização deste sonho.

Aos meus amigos que foram como um combustível para me auxiliar e me incentivar nos momentos mais difíceis, e compartilhar os momentos de alegria.

E finalmente aos animais silvestres, por me ensinarem muito a cada dia, sem dúvida os maiores professores dessa jornada. Minha eterna gratidão.

“Saber muito não lhe torna inteligente. A inteligência se traduz na forma como você recolhe, julga, maneja e, sobretudo, onde e como aplica esta informação.”

Carl Sagan

## RESUMO

Objetivou-se verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em mamíferos silvestres de vida livre da Região Metropolitana de Campinas – RMC (20 municípios), do Aglomerado Urbano de Jundiaí – AUJ (sete municípios) e da Unidade Regional Bragantina – URB (11 municípios), localizadas no Estado de São Paulo. Para tanto, foram utilizadas amostras de soros sanguíneos de 267 mamíferos pertencentes a 26 espécies, 17 famílias e oito ordens (Carnivora, Cetartiodactyla, Cingulata, Didelphimorphia, Lagomorpha, Pilosa, Primates e Rodentia) que foram colhidas na Associação Mata Ciliar, no período de 2012 a 2019. Os soros foram examinados por meio do Teste de Aglutinação Microscópica (MAT) com uma coleção de 24 antígenos vivos de leptospiros dos seguintes sorovares e variantes sorológicas: Australis (Australis e Bratislava), Autumnalis (Autumnalis e Butembo), Batavia (Bataviae), Ballum (Castellonis), Canicola, Celledoni (Whitcombi), Cynopteri, Djasiman (Sentot), Grippytyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae (Copenhageni e Icterohaemorrhagiae), Javanica, Panama, Pomona (Pomona), Pyrogenes, Sejroe (Guaicura, Harjo e Hardjobovis), Shermani e Tarassovi. Os soros foram triados na diluição de 1:100 (ponto de corte), e os que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram titulados em uma série de diluições geométricas de razão dois. Dentre os soros examinados, 11 (4,1%) foram soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. No total, foram 11 mamíferos soropositivos: três cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), dois lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*), dois veados-catingueiros (*Mazama gouazoubira*), um ouriço-cacheiro (*Sphiggurus villosus*), uma capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), um gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) e um sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*). Os sorovares mais prevalentes de acordo com as espécies analisadas foram: cachorro-do-mato (Pomona), lobo-guará (Australis e Icterohaemorrhagiae), ouriço-cacheiro (Autumnalis), capivara (Panama), veado-catingueiro (Panama e Canicola), gambá-de-orelha-branca (Sejroe) e sagui-de-tufo-preto (Autumnalis). Considerando a região, os mamíferos soropositivos da RMC foram oriundos dos municípios de Itatiba e Pedreira, do AUJ de Jundiaí e Louveira e da URB de Atibaia e Bragança Paulista. Esta pesquisa representou o primeiro inquérito sorológico da leptospirose nestas três regiões geográficas de São Paulo.

Palavras-chave: leptospirose, epidemiologia; animais selvagens, zoonose.

## ABSTRACT

The objective was to verify the occurrence of anti-*Leptospira* spp. antibodies in free-living wild mammals in the regions of the Campinas Metropolitan Region - RMC (20 municipalities), Jundiaí Urban Agglomerate - AUJ (seven municipalities), and Bragantina Regional Unit - URB (11 municipalities), State of São Paulo, Brazil. For this purpose, 267 blood serum samples from 26 species, 17 families and eight orders (Carnivora, Cetartiodactyla, Cingulata, Didelphimorphia, Lagomorpha, Pilosa, Primates and Rodentia) were used. In order to obtain more samples (n=62), the mammals were restrained according to the specific protocol for each species. The blood serum were was examined by the Microscopic Agglutination Test (MAT) with a collection of 24 live leptospiral antigens from the following serogroups and serological variants: Australis (Australis and Bratislava), Autumnalis (Autumnalis and Butembo), Batavia (Bataviae), Ballum (Castellonis), Canicola, Celledoni (Whitcombi), Cynopteri, Djasiman (Sentot), Grippytyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae (Copenhageni and Icterohaemorrhagiae), Javanica, Panama, Pomona (Pomona), Pyrogenes, Sejroe (Guaicura, Harjo and Hardjobovis), Shermani, and Tarassovi. The sera were screened at a 1: 100 dilution (cut off), and those with 50% or more agglutination were titrated in a series of geometric dilutions of ratio two. Among the examined sera, 11 (4.1%) were seropositive for anti-*Leptospira* spp. antibodies. In total, there were 11 seropositive mammals: three crab-eating fox (*Cerdocyous thous*), two maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*), two brown brocket (*Mazama gouazoubira*), an orange-spined hairy dwarf porcupine (*Sphiggurus villosus*), a capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), a white-eared opossum (*Didelphis albiventris*) and a black-tufted marmoset (*Callithrix penicillata*). The detected serovars according to the analyzed species were: crab-eating fox (Pomona), maned wolf (Australis and Icterohaemorrhagiae), orange-spined hairy dwarf porcupine (Autumnalis), capybara (Panama), brown brocket (Panama and Canicola), white-eared opossum (Sejroe) and black-tufted marmoset (Autumnalis). Considering the region, the seropositive mammals from RMC came from the municipalities of Itatiba and Pedreira, AUJ from Jundiaí and Louveira and URB from Atibaia and Bragança Paulista. This research represented the first serological survey of leptospirosis in these three geographic regions of the State of São Paulo.

Keywords: leptospirosis, epidemiology; wild animal.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% = por cento

AMC = Associação Mata Ciliar

AUJ = Aglomerado Urbano de Jundiá

CEUA = Comissão de Ética no Uso de Animais

CONCEA = Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CRAS = Centro de Reabilitação de Animais Silvestres

DNA = Ácido desoxirribonucleico.

EMJH = Ellinghausen-Mc Cullough-Johnson-Harris

EMPLASA = Empresa Paulista de Planejamento Metropolitano

FMVZ = Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

IBGE = Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICMBio = Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

LDP = Laboratório de Doenças Parasitárias

MAT = Teste de Aglutinação Microscópica

mg = miligrama

mL = mililitro

°C = graus Celsius

OMS = Organização Mundial de Saúde

ONG = Organização Não Governamental

pH = Potencial Hidrogeniônico

RG = Registro Geral

RMC = Região Metropolitana de Campinas

SINAN = Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SISBIO = Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade

SP = São Paulo

*Spp.* = Espécies

SST = Solução Salina Tamponada

URB = Unidade Regional Bragantina

USP = Universidade de São Paulo

VPS = Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	08
<b>1.1</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	09
<b>1.1.1</b>	<b>Geral</b> .....	09
<b>1.1.2</b>	<b>Específico</b> .....	09
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	09
<b>2.1</b>	<b>AGENTE ETIOLÓGICO</b> .....	10
<b>2.2</b>	<b>DIAGNÓSTICO</b> .....	11
<b>2.3</b>	<b>EPIDEMIOLOGIA</b> .....	12
<b>2.4</b>	<b>LEPTOSPIROSE E SUA IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA</b> .....	13
<b>2.5</b>	<b>OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS <i>Anti-Leptospira</i> spp. EM MAMÍFEROS SILVESTRES DE VIDA LIVRE</b> .....	14
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
<b>3.1</b>	<b>ASPECTOS ÉTICOS</b> .....	17
<b>3.2</b>	<b>ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAS BIOLÓGICAS</b> .....	17
<b>3.3</b>	<b>MAMÍFEROS SILVESTRES</b> .....	20
<b>3.4</b>	<b>CONTENÇÃO E COLHEITA DE AMOSTRA BIOLÓGICA</b> .....	23
<b>3.5</b>	<b>PROCEDIMENTO LABORATORIAL</b> .....	24
<b>3.6</b>	<b>ELABORAÇÃO DE BANCO DE DADOS</b> .....	25
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	25
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	33
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	37
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	38
<b>8</b>	<b>APÊNDICES</b> .....	44

## INTRODUÇÃO

No Brasil, evidenciamos biomas com riquezas florísticas e faunísticas, mas infelizmente a destruição desses ecossistemas pela ação antrópica pode promover consequências desastrosas. Essa aproximação do homem com os animais silvestres favorece a disseminação de agentes infecciosos para novos hospedeiros e ambientes. Sendo assim, o estudo da epidemiologia de zoonoses torna-se de extrema importância para conhecimento de focos naturais, permitindo avaliar os fatores de riscos e doenças que ocorrem nos animais silvestres (MARVULO, 2007).

A leptospirose, uma zoonose bacteriana que afeta animais domésticos, silvestres e o homem, ocorre em todas as partes do mundo, com alta prevalência em países tropicais onde há grandes precipitações pluviométricas (CORRÊA, 2007). Seu agente etiológico é a *Leptospira* spp. que possui mais de 260 sorovares (ADLER e DE LA PEÑA MONTECZUMA, 2010).

Esta enfermidade pode ocorrer no meio urbano, rural ou silvestre e caracteriza-se como epidêmica ou endêmica, influenciada por fatores ambientais e pelas interações dos diferentes grupos de animais envolvidos na sua epidemiologia (LEVETT, 2001). Um exemplo são os roedores e marsupiais, que podem ser carreadores cronicamente infectados, pois eles excretam as leptospiros por meio da urina, contaminando solos, alimento e água (CORRÊA, 2006). O risco das infecções por leptospiros também pode estar principalmente relacionado à diminuição e fragmentação dos habitats naturais, que pode causar diferentes impactos nos ecossistemas, como a redução de área propícia a vida dos animais silvestres, redução da oferta de alimento e abrigo, além de facilidades destes animais ficarem cada vez mais próximos dos humanos (CORRÊA, 2006).

Neste contexto, muitos animais silvestres acabam chegando ao meio urbano devido à degradação do ambiente natural. Dessa forma, para suprir o atendimento desses animais, algumas instituições se propõem em atendê-los, com finalidade de fazer o tratamento, a realização de exames clínicos e laboratoriais para o diagnóstico de enfermidades e posteriormente, realizar a sua soltura na natureza. Como exemplos destas instituições no Brasil, temos a Associação Mata Ciliar (AMC), que possui um Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) localizado no município de Jundiaí, Estado de São Paulo. Esta instituição possibilitou o atendimento e colheita de amostras dos mamíferos silvestres que fizeram parte desta pesquisa para a identificação de anticorpos anti-*Leptospira* spp.

Portanto, animais silvestres em vida livre podem estar expostos à *Leptospira* spp., mas pouco se sabe sobre sua importância como fontes de infecção (BRASIL, 2017). Grande parte dos estudos é direcionada aos roedores sinantrópicos, enquanto que informações sobre a transmissão dos animais silvestres para o homem são escassas (LANGONI, 1999).

No estudo de doenças, é de suma importância realizar a análise, a identificação, avaliação de fatores de risco à saúde, estruturas sociais, econômicas e ambientais de cada região. Sendo assim, o desenvolvimento de estudos que utilizem ferramentas de análise regional relacionados à leptospirose podem favorecer a descrição de padrões de infecção e transmissão, definir fatores de risco e auxiliar na implantação de medidas e planos de ação contra a doença (BIER et al., 2013).

Diante do exposto, existe a necessidade de estudos para uma comparação dos resultados, e assim ajudar a estabelecer o quadro atual da epidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em mamíferos silvestres de vida livre.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 Geral**

Verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em mamíferos silvestres encaminhados à Associação Mata Ciliar, Jundiaí – SP e provenientes de vida livre da Região Metropolitana de Campinas, do Aglomerado Urbano de Jundiaí e da Unidade Regional Bragantina no Estado de São Paulo.

### **1.1.2 Específico**

Identificar os sorovares mais prevalentes nos mamíferos silvestres examinados nas três regiões estudadas.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

A leptospirose apresenta uma distribuição universal sendo considerada uma zoonose de grande importância para a saúde pública (BRASIL, 2017). No Brasil, danos consideráveis ao ecossistema vêm ocorrendo devido à degradação das florestas em decorrência da expansão da agricultura, pecuária, exploração de madeira, mineração, construção de hidrelétricas, urbanização, entre outros. Dessa forma, ocorre um grande desequilíbrio ambiental e muitos

animais silvestres perdem seu habitat e aproximação com o homem, torna-se inevitável (BATISTA et al., 2014).

Esta doença trata-se de uma zoonose de grande importância social e econômica por apresentar elevada incidência em determinadas áreas, bem como por sua letalidade, que pode chegar a até 40% nos casos mais graves (BRASIL, 2017). Segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde de Brasília, a leptospirose é uma zoonose na qual os animais são hospedeiros primários, essenciais para a persistência dos focos da infecção, e os seres humanos são hospedeiros acidentais, terminais, pouco eficientes na perpetuação da mesma (BRASIL, 2019).

Em áreas urbanas, principalmente nas capitais e regiões metropolitanas, esta doença apresenta um caráter epidemiológico mais grave, devido a altas aglomerações populacionais de pessoas de baixa renda, que vivem à beira de córregos, em locais com infraestrutura sanitária precária e com infestações de roedores, que são fatores que predis põem ao aparecimento de pacientes com leptospirose (BRASIL, 2018). Um amplo espectro de animais sinantrópicos, domésticos e silvestres serve como reservatórios para a persistência de focos de infecção. Esses fatores ressaltam a importância do direcionamento das ações preventivas para o controle de animais sinantrópicos que se comportam como reservatórios de leptospiras, como: a anti-ratização e a desratização de roedores e melhoria das condições higiênico sanitárias da população (BATISTA et al., 2014).

## 2.1 AGENTE ETIOLÓGICO

A doença manifesta na forma de uma infecção aguda causada por uma espiroqueta da família Leptospiraceae, filo Spirochaete, ordem Spirochaetales, e gênero *Leptospira*, são organismos flexíveis, helicoidais, móveis e possuem extremidades encurvadas, com flagelos subterminais (PASTER, 1991). Não são visíveis a luz direta, mas à microscopia de campo escuro. São aeróbicos e microaerófilos e crescem em pH ótimo de 7,2 a 7,6 e em temperaturas de 28 a 30°C, sobrevivem em ambientes úmidos e são pouco resistentes ao calor (FAINE et al., 1999). Este gênero compreende espécies patogênicas e saprofíticas, com mais de 260 sorovares distintos, dificultando sua caracterização (MACHRY, 2010).

Diversas espécies de bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* spp. são responsáveis pela etiologia da doença, enquanto outras espécies são consideradas não patogênicas, e possuem menor importância clínica. Atualmente as leptospiras são classificadas em 13 espécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstoni*, *L. borgprterseni*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L.*

*fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilli* e *L. wolffii*. As leptospiras são subdivididas ainda em mais de 260 sorovares, onde cada um apresenta específicas características fenotípicas, determinadas pelos seus antígenos de superfície presentes na membrana citoplasmática (ADLER e DE LA PEÑA MONTECZUMA, 2010).

O sorovar é a unidade taxonômica básica utilizada para a classificação de leptospiras. Porém, a identificação desse gênero bacteriano é bastante dificultada quando se observa que sorovares pertencentes ao mesmo sorogrupo encontram-se distribuídos entre diferentes espécies (ADLER e DE LA PEÑA MONTECZUMA, 2010). Portanto, essa classificação não é baseada no genótipo, e diferentes espécies de leptospira podem apresentar o mesmo sorovar, dependendo dos antígenos expressos em sua membrana (FORNAZZARI, 2015).

Diferentes sorovares podem apresentar imunidade cruzada, e neste caso, os mesmos são agrupados em sorogrupos (LEVETT, 2001). Por este motivo, a literatura internacional recomenda utilizar a nomenclatura baseada em sorogrupos ao fazer referência ao resultado de testes sorológicos que utilizam sorovares como antígenos (FORNAZZARI, 2015).

Dentre os fatores ligados ao agente etiológico que favorecem a persistência dos focos de leptospirose, especial destaque deve ser dado ao elevado grau de variação antigênica, à capacidade de sobrevivência no meio ambiente (até 180 dias) e à ampla variedade de animais suscetíveis que podem hospedar o microrganismo (BRASIL, 2009).

## 2.2 DIAGNÓSTICO

Exames físicos em animais são muito inespecíficos, portanto sempre deve estar associado ao exame laboratorial. No diagnóstico microbiológico as leptospiras podem ser visualizadas por microscopia de campo escuro a partir da observação direta de lâminas confeccionadas com materiais biológicos como sangue, urina, tecidos e LCR (líquido cefalorraquidiano), onde existe a rapidez e possibilidade de diagnóstico precoce. No entanto esse método não é usado com frequência devido à alta subjetividade na leitura (FAINE, 1999).

Entre os métodos sorológicos, destacam-se a soroaglutinação microscópica e macroscópica. A sorotipagem é determinada pelo teste de aglutinação microscópica com absorção cruzada (*cross-agglutinin absorption test* - CAAT), onde são utilizados soros imunes de referência produzidos em coelho. O CAAT é restrito a laboratórios de referência internacional, pois requer a existência de uma coleção completa de cepas de referência do gênero *Leptospira*. O método de referência ainda é o teste de microaglutinação MAT (*Microscopic Agglutination Test*) usando anticorpos monoclonais específicos que, mesmo

quando apresenta títulos elevados para um determinado sorovar, embora sugestivo, não é conclusivo a respeito do sorovar infectante, devido à ocorrência de reações cruzadas. O MAT baseia-se na identificação por microscopia de campo escuro da aglutinação do soro do paciente com antígenos de *Leptospira* (HERMANN et. al., 1991). Essa técnica detecta tanto anticorpos da classe IgM quanto IgG e o provável sorogrupo infectante é o que apresenta maior título, se mais de um sorogrupo apresentar o maior título o resultado é considerado como reação mista e o provável sorogrupo infectante não é determinado (FAINE,1999). A identificação dos sorovares é importante para a epidemiologia, uma vez que eles apresentam relações diretas com alguns animais reservatórios, focos de infecção e distribuição geográfica.

Devido à complexidade do MAT, testes rápidos e com base em ELISA foram desenvolvidos. Tanto o ELISA quanto os testes rápidos têm como finalidade permitir um diagnóstico mais precoce de forma a antecipar a introdução de tratamento com terapia específica (ADLER et al., 2010).

As técnicas de biologia molecular vieram preencher lacunas de sensibilidade e praticidade das outras provas diagnósticas utilizadas na pesquisa de leptospiroses. O DNA, uma molécula muito estável, pode ser facilmente detectada mesmo em amostras autolisadas ou contaminadas, viabilizando o diagnóstico rápido e sensível em muitos casos que outras provas seriam inviáveis (LANGONI, 1999).

### **2.3 EPIDEMIOLOGIA**

As leptospiroses podem hospedar-se em diversos grupos de animais vertebrados; no entanto, os mamíferos são os que, na atualidade, apresentam maior significado epidemiológico na transmissão da doença (BHARTI, 2003). Um dos maiores desafios do estudo da leptospirose tem sido a caracterização de ambientes e modos de transmissão, que são altamente dependentes dos sorovares (BARCELLOS et al., 2003). Alguns sorovares são endêmicos de regiões particulares e cada um deles tende a ser mantido por um hospedeiro específico (VIEIRA et al., 2013). Embora as pesquisas sobre a leptospirose em animais silvestres já tenham avançado em vários países, no Brasil as informações sobre o tema ainda são escassas, deixando uma lacuna no conhecimento da cadeia epidemiológica da doença e dificultando a elaboração de planos de controle em regiões com grande densidade de animais silvestres e ambientes ecologicamente favoráveis (GIRIO et al., 2003).

Do ponto de vista epidemiológico, é importante o conhecimento das espécies animais que atuam como reservatório, e quais os sorovares prevalentes em determinada área (MARINHO, 2008). Alguns inquéritos sorológicos conduzidos em ecossistemas silvestres,

não modificados pela ação humana, referem a presença da infecção em roedores, marsupiais, carnívoros, animais da ordem pilosa entre outros. No entanto, em ecossistemas rurais e urbanos, o principal reservatório de leptospira é constituído pelos roedores sinantrópicos, entre os quais a ratazana ou rato-de-esgoto (*Rattus norvegicus*), que ocupa no mundo todo uma posição de destaque (BRASIL, 2009).

O homem, hospedeiro terminal e acidental da doença, infecta-se ao entrar em contato com a urina de animais infectados de modo direto ou indireto, por meio do contato com água, lama ou solo contaminados. A transmissão inter-humana é muito rara e de pouca relevância epidemiológica (BRASIL, 2018).

Em execução de levantamentos soroepidemiológicos realizados em mamíferos silvestres de vida livre e cativeiro no Brasil, o exame sorológico mais utilizado foi o Teste de Aglutinação Microscópica (MAT) para a pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp.

#### **2.4 LEPTOSPIROSE E SUA IMPORTÂNCIA NA SAÚDE PÚBLICA**

No Brasil, a leptospirose é considerada uma doença endêmica, tornando-se epidêmica em períodos chuvosos. Algumas profissões e ocupações são mais expostas ao risco, e tornam-se mais susceptíveis ao contato com as leptospiras, como trabalhadores em limpeza e desentupimento de esgotos, garis, agricultores, médicos veterinários, tratadores de animais, pescadores, laboratoristas, bombeiros, entre outras. Contudo, a maior parte dos casos ainda ocorre entre pessoas que habitam ou trabalham em locais com infraestrutura sanitária inadequada e exposta à urina de roedores (MAGALHÃES et al., 2006). É uma doença de notificação compulsória no Brasil, e por isso, tanto a ocorrência de casos suspeitos isolados como a de surtos deve ser notificada o mais rápido possível para o desencadeamento das ações de Vigilância Epidemiológica e controle (BRASIL, 2018).

Segundo dados do Ministério da Saúde do Brasil (2019) que foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN, no período de 2000 a 2018 foram confirmados no Brasil 66.080 mil casos de leptospirose em humanos, representando uma média anual de 3.670 casos confirmados. O número de óbitos foi de 6.295, representando uma média de 350 óbitos por ano. O maior número de casos da doença foi observado nas regiões Sudeste (22.434) e Sul (21.383), seguidos pelas regiões Nordeste (11.630), Norte (9.710), e Centro-Oeste (978). Os Estados com maior percentual de casos confirmados foram São Paulo (20%), Rio Grande do Sul (14%) e Santa Catarina (11%). Esse registro também mostrou uma letalidade média de 9,5% ao ano (BRASIL, 2018). Dados também confirmados pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Brasil em 2017, após os registros de dados,

conseguiram apontar que as regiões Sudeste e Sul concentram o maior número de casos em humanos.

A infecção pelo microrganismo ocorre devido à penetração da bactéria através de mucosas (ocular, digestiva, respiratória e/ou genital), da pele escarificada e inclusive da pele íntegra, como ocorre quando da permanência por tempo prolongado em coleções de água contaminada. A eliminação da *Leptospira* ocorre através da urina, de forma intermitente, podendo persistir por períodos de tempo de longa duração, variáveis com as espécies animais e a variante sorológica da leptospira envolvida (BRASIL, 2014).

A imunidade adquirida pós-infecção é sorovar-específica, podendo um mesmo indivíduo apresentar a doença mais de uma vez se o agente causal de cada episódio pertencer a um sorovar diferente do anterior (BRASIL, 2009).

## **2.5 OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM MAMÍFEROS SILVESTRES DE VIDA LIVRE**

Embora as pesquisas sobre a infecção por *Leptospira* spp. em animais selvagens já tenham avançado em vários países (VIEIRA, 2013), no Brasil as informações sobre o tema ainda são escassas, deixando lacunas no conhecimento da cadeia epidemiológica da doença e dificultando a elaboração de planos de controle em regiões com grande densidade de animais silvestres e ambientes ecologicamente favoráveis (GIRIO et al., 2003).

Segundo Fornazzari (2015), apesar da escassez de estudos sobre o impacto da leptospirose na saúde dos animais silvestres, estas publicações indicaram o potencial desta doença como ameaça para conservação de algumas espécies.

De acordo com a literatura consultada, os levantamentos sorológicos da ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em mamíferos silvestres de vida livre no Brasil, pelo Teste de Aglutinação Microscópica (MAT) estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Levantamentos sorológicos da ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em mamíferos silvestres de vida livre no Brasil diagnosticados pelo Teste de Aglutinação Microscópica (MAT).

ESPÉCIE	Pos./N*	%	LOCALIZAÇÃO	AUTORES
Cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> )	13/38	34,2	Pantanal Sul-Mato-Grossense	VIEIRA et al. (2013)
	3/4	75	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
	13/35	37,1	Pantanal Sul-Mato-Grossense	SILVA (2016)
Capivara ( <i>Hydrocaerus hydrochaeris</i> )	27/45	60	Bacia hidrográfica do Alto Tietê	SHIMABUKURO (2006)
Furão ( <i>Galictis cuja</i> )	5/6	83,3	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Gambá-de-orelha-branca ( <i>Didelphis albiventris</i> )	16/195	8,2	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Gambá-de-orelha-preta ( <i>Didelphis aurita</i> )	33/220	15,0	São Paulo/SP	BERTOLA (2006)
Irara ( <i>Eira barbara</i> )	1/1	100	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Jagatirica ( <i>Leopardus pardalis</i> )	1/6	14,3	Pantanal Sul-Mato-Grossense	FORNAZARI et al. (2018)
Lebre ( <i>Lepus europeaus</i> )	0/2	-	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Lobo-guará ( <i>Chrysocyon brachyurus</i> )	2/3	66,7	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Macaco-prego ( <i>Sapajus nigritus</i> )	0/2	-	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Mão-pelada ( <i>Procyon cancrivorus</i> )	1/1	100	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Onça-parda ( <i>Puma concolor</i> )	0/2	-	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Ouriço-cacheiro ( <i>Sphiggurus villosus</i> )	0/13	-	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Quati ( <i>Nasua nasua</i> )	15/45	34,1	Pantanal Sul-Mato-Grossense	VIEIRA et al. (2018)
	17/56	30,3	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
	4/18	22,2	Pantanal Sul-Mato-Grossense	SILVA (2016)
Raposa ( <i>Lycalopex vetulus</i> )	2/4	50,0	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Continua				
Rato-da-árvore ( <i>Oecomys mamorae</i> )	0/8	-	Pantanal Sul-Mato-Grossense	VIEIRA et al. (2013)

<b>ESPÉCIE</b>	<b>Pos./N*</b>	<b>%</b>	<b>LOCALIZAÇÃO</b>	<b>AUTORES</b>
Roedor ( <i>Thrichomys pachyurus</i> )	5/49	10,20	Pantanal Sul-Mato-Grossense	VIEIRA et al. (2013)
Tamanduá bandeira ( <i>Myrmecophaga tridactyla</i> )	0/6	-	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
	12/21	57	Pantanal do Mato Grosso	MIRANDA et al. (2014)
Tamanduá mirim ( <i>Tamandua tetradactyla</i> )	1/5	20	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Tatu galinha ( <i>Dasypus novencinctus</i> )	1/4	25	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)
Veado campeiro ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> )	30/95	31,18	Pantanal Sul-Mato-Grossense	SILVA (2016)
Veado catingueiro ( <i>Mazama gouazoubira</i> )	1/5	20	Região de Botucatu	FORNAZARI et al. (2018)

Legenda: Pos./N =Número de animais soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. /número de animais examinados.

Diante do exposto, torna-se de suma importância a realização de pesquisa na área de animais silvestres de vida livre, em diferentes regiões do Brasil e com diferentes espécies, pois em cada pesquisa realizada será possível observar a ocorrência de animais soropositivos para anticorpos para *Leptospira* spp. Além disso, os resultados encontrados poderão auxiliar no melhor entendimento da cadeia epidemiológica desta zoonose de impacto na saúde pública.

### **3 MATERIAL E METÓDOS**

#### **3.1 ASPECTOS ÉTICOS**

Este estudo foi realizado após a aprovação do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), mediante autorização emitida pelo Sistema de Autorização e Informação da Biodiversidade (SISBIO), nº 67905-1. Além disso, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro Universitário Max Planck, nº P-048/2019.

#### **3.2 ÁREA DE ESTUDO E AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

As três regiões pesquisadas foram a Região Metropolitana de Campinas – RMC, o Aglomerado Urbano de Jundiaí – AUJ e a Unidade Regional Bragantina – URB, localizadas no Estado de São Paulo, Brasil. Essas regiões fazem parte da Macrometrópole Paulista (MMP), que é um dos maiores aglomerados urbanos do Hemisfério Sul.

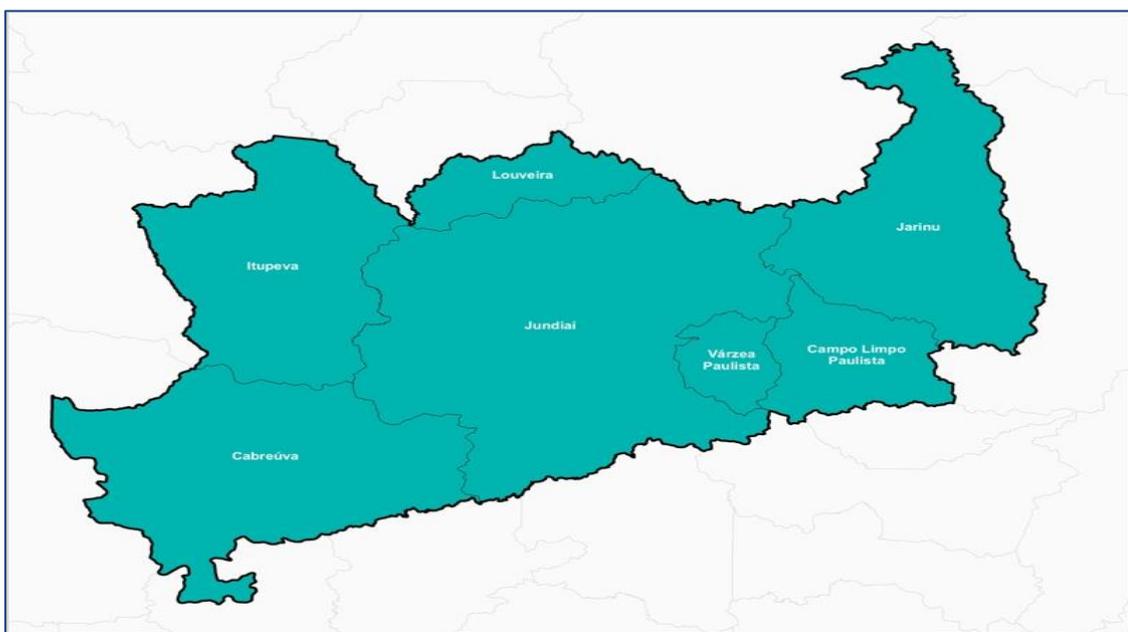
A Região Metropolitana de Campinas foi criada em 2000 e é integrada por 20 municípios: Americana, Artur Nogueira, Campinas, Cosmópolis, Engenheiro Coelho, Holambra, Hortolândia, Indaiatuba, Itatiba, Jaguariúna, Monte Mor, Morungaba, Nova Odessa, Paulínia, Pedreira, Santa Bárbara d'Oeste, Santo Antônio de Posse, Sumaré, Valinhos e Vinhedo. É a segunda maior Região Metropolitana do Estado de São Paulo em população, com mais de 3,1 milhões de habitantes, de acordo com estimativa de 2017 (EMPLASA, 2018) (Figura 1).



**Figura 1.** Mapa da Região Metropolitana de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil.

Fonte: Emplasa (2018)

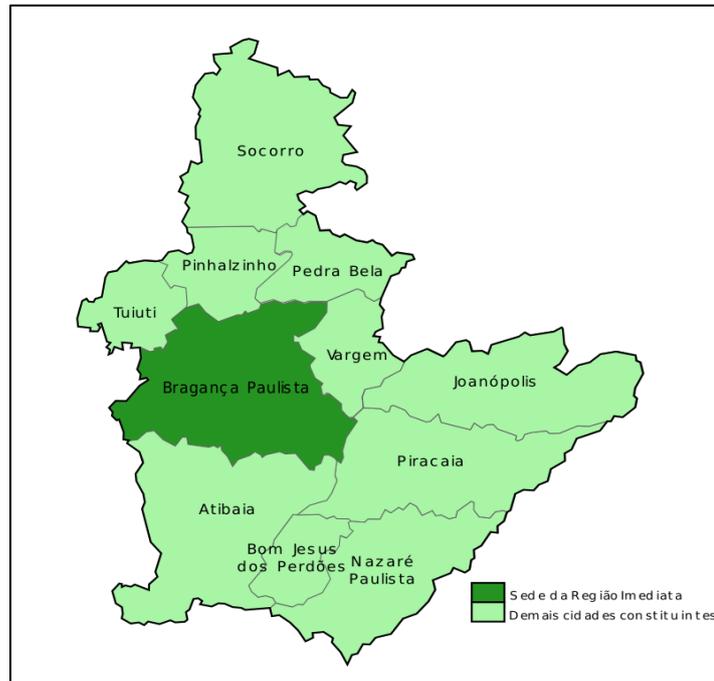
A região do AUJ foi criada em 2011, é integrada por sete municípios: Cabreúva, Campo Limpo Paulista, Itupeva, Jarinu, Jundiaí, Louveira e Várzea Paulista e abriga 790 mil habitantes. O AUJ é também formado por um eixo de urbanização quase contínuo entre duas regiões metropolitanas, São Paulo e Campinas, e é servida por um complexo viário que permite o acesso aos principais aeroportos do Estado e ao maior porto da América Latina, o Porto de Santos (EMPLASA, 2018) (Figura 2).



**Figura 2.** Mapa do Aglomerado Urbano de Jundiaí, Estado de São Paulo, Brasil.

Fonte: Emplasa (2018)

A região do UBR é formada por 11 municípios: Atibaia, Bom Jesus dos Perdidos, Bragança Paulista, Joanópolis, Pedra Bela, Pinhalzinho, Piracaia, Nazaré Paulista, Socorro, Tuiuti e Vargem (EMPLASA, 2018) (Figura 3).



**Figura 3.** Mapa da Região Bragantina, Estado de São Paulo, Brasil.

Fonte: [www.wikiwand.com/pt/Região\\_Geográfica\\_Imediata\\_de\\_Bragança\\_Paulista](http://www.wikiwand.com/pt/Região_Geográfica_Imediata_de_Bragança_Paulista)

Os animais foram recebidos na Associação Mata Ciliar, que é uma organização não governamental (ONG), fundada em 1987 e localizada em Jundiá-SP, nas margens da Serra do Japi. Em 1997, devido à preocupação com a fauna, deu início ao Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) e ao Centro Brasileiro para Conservação de Felinos Neotropicais (Centro de Felinos). O CRAS tem como objetivo receber os animais silvestres trazidos tanto por órgãos públicos como por munícipes, prestar atendimento veterinário, reabilitá-los sempre que possível e realizar sua soltura. Já o Centro de Felinos é referência nacional quando o assunto é preservação e reprodução de espécies de felinos neotropicais. Ao todo, já foram atendidos por esta instituição mais de 25 mil animais silvestres, sendo utilizados os soros sanguíneos dos mamíferos silvestres encaminhados ao CRAS no período de 2012 a 2019 para a presente pesquisa.

### 3.3 MAMÍFEROS SILVESTRES

Foram obtidas amostras de soros sanguíneos dos mamíferos silvestres procedentes das regiões da RMC, AUJ e URB oriundos do banco de amostras de soros sanguíneos da Associação Mata Ciliar (n=267). As amostras de soros destes mamíferos silvestres foram colhidas entre os anos de 2012 e 2019 e estavam estocadas congeladas no freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  (Figuras 4 e 5).

Desta forma, no total foram utilizadas amostras de mamíferos pertencentes a 26 espécies, 17 famílias e oito ordens (Carnivora, Cetartiodactyla, Cingulata, Didelphimorphia, Lagomorpha, Pilosa, Primates e Rodentia) (Tabela 2).



**Figura 4.** Colheita de sangue de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) na Associação Mata Ciliar, Jundiaí – SP.  
Fonte: Associação Mata Ciliar (2019).



**Figura 5.** Colheita de sangue de preguiça-comum (*Bradypus variegatus*), apenas com contenção física.  
Fonte: Associação Mata Ciliar (2019).

**Tabela 2.** Relação dos 267 mamíferos silvestres pesquisados e procedentes da Região Metropolitana de Campinas, Aglomerado Urbano de Jundiaí e Unidade Regional Bragantina, Estado de São Paulo, segundo a taxonomia e região geográfica, 2012-2019.

Ordem, Família e Espécie	N	RMC	AUJ	URB
<b>CARNIVORA</b>	46	21	14	11

<b>Canidae</b>	34	18	7	9
Cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> )	23	10	6	7
Lobo-guará ( <i>Chrysocyon brachyurus</i> )	9	6	1	2
Raposa-do-campo ( <i>Lycalopex vetulus</i> )	2	2	-	-
<b>Felidae</b>	3	2	-	1
Gato-do-mato-pequeno ( <i>Leopardus guttulus</i> )	1	1	-	-
Jaguaritica ( <i>Leopardus pardalis</i> )	2	1	-	1
<b>Mustelidae</b>	2	-	1	1
Iraira ( <i>Eira barbara</i> )	1	-	1	-
Lontra ( <i>Lontra longicaudis</i> )	1	-	-	1
<b>Procyonidae</b>	7	1	6	-
Mão-pelada ( <i>Procyon cancrivorus</i> )	2	1	1	-
Quati ( <i>Nasua nasua</i> )	5	-	5	-
<b>CETARTIODACTYLA (Cervidae)</b>	24			
Veado-catingueiro ( <i>Mazama gouazoubira</i> )	24	3	19	2
<b>CINGULATA (Dasypodidae)</b>	3	2	1	-
Tatu-galinha ( <i>Dasypus novemcinctus</i> )	2	1	1	-
Tatu-peba ( <i>Euphractus sexcinctus</i> )	1	1	-	-
<b>DIDELPHIMORPHIA (Didelphidae)</b>	70	18	43	9
Gambá-de-orelha-branca ( <i>Didelphis albiventris</i> )	30	12	14	4
Gambá-de-orelha-preta ( <i>Didelphis aurita</i> )	40	6	29	5
<b>LAGOMORPHA (Leporidae)</b>	5	2	2	1
Lebre ( <i>Leppus europaeus</i> )	3	2	-	1
Tapeti ( <i>Sylvilagus brasiliensis</i> )	2	-	2	-
<b>PILOSA</b>	18	4	14	-
<b>Bradipodidae</b>	17			
Preguiça-comum ( <i>Bradypus variegatus</i> )	17	4	13	-
<b>Myrmecophagidae</b>	1			
Tamanduá-mirim ( <i>Tamandua tetradactyla</i> )	1	-	1	-
<b>PRIMATES</b>	61	12	36	13
<b>Cebidae</b>	7			
Sauá ( <i>Callicebus personatus</i> )	7	3	3	1

Continua

Ordem, Família e Espécie	N	RMC	AUJ	URB
<b>PRIMATES</b>	46	21	14	11
<b>Callithichidae</b>	15	3	11	1
Sagui-de-tufo-preto ( <i>Callithrix penicillata</i> )	14	3	10	1
Sagui-da-serra-escuro ( <i>Callithrix aurita</i> )	1	-	1	-
<b>Atelidae</b>	39			

Bugio-ruivo ( <i>Alouatta guariba</i> )	39	6	22	11
<b>RODENTIA</b>	40	15	20	5
<b>Caviidae</b>	8			
Capivara ( <i>Hydrocherus hydrochaeris</i> )	8	3	4	1
<b>Echymidae</b>	3			
Ratão-do-banhado ( <i>Myocastor coypus</i> )	3	1	2	-
<b>Erethizontidae</b>	28			
Ouriço-cacheiro ( <i>Sphiggurus villosus</i> )	28	11	13	4
<b>Sciuridae</b>	1			
Esquilo-serelepe ( <i>Sciurus aestuans</i> )	1	-	1	-
<b>TOTAL</b>	267	77	149	41

RMC: Região Metropolitana de Campinas; AUJ: Aglomerado Urbano de Jundiá e URB: Unidade Regional Bragantina.

### 3.4 CONTENÇÃO E COLHEITA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Foi realizada a contenção física e/ou química de animais que chegaram de vida livre, considerando a necessidade, a idade, a espécie e o tamanho do animal, sempre procurando minimizar o estresse de contenção. Os materiais utilizados na contenção física foram: toalhas, luvas de couro, puçás, gaiolas de prensa e caixas de transporte resistentes para abrigar o animal enquanto estavam na clínica.

No caso da contenção química, os fármacos utilizados foram: cloridrato de cetamina (100 mg/mL), cloridrato de xilazina (20 mg/mL), midazolam (5 mg/mL) e isoflurano (1 mL/mL), utilizados de acordo com o protocolo específico para cada espécie de mamíferos silvestres (CUBAS, SILVA e CATÃO-DIAS, 2014). Estes fármacos foram escolhidos por apresentarem grande segurança para animais silvestres e para a equipe, além dos animais retornarem brevemente da indução anestésica.

Dardos em pistola pneumática somente foram utilizados em casos de resgates emergenciais de mamíferos de grande porte, como onças, lobos ou capivaras. Os responsáveis pelo manejo foram às médicas veterinárias da AMC.

Após a realização da contenção físico-química dos animais, foi realizada a colheita de sangue das veias: jugular, cefálica ou safena. Só foram colhidas amostras sanguíneas de animais que estavam há no máximo sete dias fora da natureza. O sangue colhido foi transferido para tubo esterilizado e centrifugado para a obtenção do soro sanguíneo.

Os soros sanguíneos foram estocados em microtubos de polipropileno, identificados com o número do animal, espécie e data da colheita e logo após congelados a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a realização do sorodiagnóstico para leptospirose.

### **3.5 PROCEDIMENTO LABORATORIAL**

As análises sorológicas foram realizadas no Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo – SP.

Os soros sanguíneos dos animais foram examinados por meio do Teste de Aglutinação Microscópica (MAT) (COLE et al., 1973). Na triagem, os soros foram testados com uma coleção de 24 estirpes, mantidos e repicados semanalmente em meio Ellinghausen-Mc Cullough-Johnson-Harris (EMJH) (DIFCO *Laboratories*®) (ALVES et al., 1996), a  $28^{\circ}\text{C}$ : Australis (Australis e Bratislava), Autumnalis (Autumnalis e Butembo), Batavia, Ballum, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Copenhageni, Djasiman, Grippytyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae (Copenhageni e Icterohaemorrhagiae), Javanica, Panama, Pomona (Pomona), Pyrogene, Sejroe (Harjo e Hardjobovis), Shermani e Tarassovi. Os antígenos foram mantidos em meio líquido de EMJH modificado (LEVETT, 2001).

Inicialmente as amostras de soro foram diluídas em Solução Salina Tamponada (SST) na proporção 1:50 (0,1mL de soro acrescentado 4,9 mL do diluente), misturada separadamente com cada um dos 24 antígenos em microplacas de fundo chato de poliestireno com 96 poços e incubadas em temperatura ambiente por no mínimo duas horas. Posteriormente a leitura foi realizada em microscópio de campo escuro com aumento de 100x. As amostras que apresentaram 50% ou mais de leptospiras aglutinadas foram consideradas positivas. Para obter o título final, as amostras reagentes foram testadas novamente para o antígeno reagente, em diluições seriadas na razão de dois (1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600). Posteriormente, para realizar o controle negativo foi utilizada a SST. Para todas as amostras que apresentaram reação para mais de um sorovar, foi considerado como reagente somente aquele que apresentou maior título, ou seja, o título do soro será representado pela recíproca da maior diluição que apresentará resultado positivo. Nos mamíferos selvagens, o provável sorovar infectante será o que apresentará maior título.

### **3.5 ELABORAÇÃO DO BANCO DE DADOS**

Os dados dos mamíferos silvestres foram compilados e inseridos em uma tabela criada no programa *Microsoft Excel* com as seguintes informações: animal, espécie, registro geral na instituição (RG), data de entrada, data de colheita de sangue, região geográfica, família, ordem, sexo, idade, resultado e sorovar. Esse banco de dados foi utilizado no estudo das áreas de ocorrência dos animais soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. e ajudou a identificar frequência relativa e absoluta.

## 4 RESULTADOS

Dentre os soros dos 267 animais silvestres analisados, 11 (4,1%) foram soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. ( $\text{MAT} \geq 100$ ).

As espécies que apresentaram resultados soropositivos foram: gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*, n=1), sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*, n=1), cachorro-domato (*Cerdocyon thous*, n=3), lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*, n=2), ouriço-cacheiro (*Sphiggurus villosus*, n=1), capivara (*Hydrocherus hydrochaeris*, n=1) e veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*, n=2) (Figura 6).

As Tabelas 3 e 4 apresentam os resultados dos mamíferos soropositivos para as três regiões geográficas estudadas. Dos 267 animais analisados, 77 animais foram procedentes da RMC, 149 foram da AUJ e 41 da URB (Tabelas 3 e 4), abrangendo 24 municípios diferentes: Águas de Lindóia, Amparo, Atibaia, Bragança Paulista, Cabreúva, Campinas, Campo Limpo Paulista, Indaiatuba, Itatiba, Itupeva, Jarinú, Jundiaí, Louveira, Mairiporã, Mogi Guaçu, Morungaba, Pedreira, Socorro, Sumaré, Tuiti, Valinhos, Vargem, Várzea Paulista e Vinhedo.



**Figura 6.** Espécies de mamíferos silvestres soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. **A:** gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*); **B:** cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*); **C:** lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*); **D:** capivara (*Hydrocherus hydrochaeris*); **E:** sagui-de-tufo-preto (*Callithrix penicillata*); **F:** ouriço-cacheiro (*Sphiggurus villosus*); **G:** veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*).

Fonte: Associação Mata Ciliar (2018).

**Tabela 3.** Frequência absoluta e relativa (%) dos mamíferos silvestres soropositivos para o diagnóstico de leptospirose na Região Metropolitana de Campinas, Aglomerado Urbano de Jundiá e Unidade Regional Bragantina, 2012-2019.

Ordem, Família e Espécie	N	Pos. (%)	RMC	AUJ	URB
<b>CARNIVORA</b>	46	5 (10,9)	21	14	11
<b>Canidae</b>	34	5 (14,7)	18	7	9
Cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> )	23	3 (13,0)	10*	6*	7*
Lobo-guará ( <i>Chrysocyon brachyurus</i> )	9	2 (22,2)	6*	1*	2
Raposa-do-campo ( <i>Lycalopex vetulus</i> )	2	0 (0)	2	-	-
<b>Felidae</b>	3	0 (0)	2	-	1
Gato-do-mato-pequeno ( <i>Leopardus guttulus</i> )	1	0 (0)	1	-	-
Jaguaritica ( <i>Leopardus pardalis</i> )	2	0 (0)	1	-	1
<b>Mustelidae</b>	2	0 (0)	-	1	1
Irara ( <i>Eira barbara</i> )	1	0 (0)	-	1	-
Lontra ( <i>Lontra longicaudis</i> )	1	0 (0)	-	-	1
<b>Procyonidae</b>	7	0 (0)	1	6	-
Mão-pelada ( <i>Procyon cancrivorus</i> )	2	0 (0)	1	1	-
Quati ( <i>Nasua nasua</i> )	5	0 (0)	-	5	-
<b>CETARTIODACTYLA (Cervidae)</b>	24	2 (8,3)			
Veado-catingueiro ( <i>Mazama gouazoubira</i> )	24	2 (8,3)	3	19	2*
<b>CINGULATA (Dasypodidae)</b>	3	0 (0)	2	1	-
Tatu-galinha ( <i>Dasypus novemcinctus</i> )	2	0 (0)	1	1	-
Tatu-peba ( <i>Euphractus sexcinctus</i> )	1	0 (0)	1	-	-
<b>DIDELPHIMORPHIA (Didelphidae)</b>	70	1 (1,4)	18	43	9
Gambá-de-orelha-branca ( <i>Didelphis albiventris</i> )	30	1 (3,3)	12	14	4*
Gambá-de-orelha-preta ( <i>Didelphis aurita</i> )	40	0 (0)	6	29	5
<b>LAGOMORPHA (Leporidae)</b>	5	0 (0)	2	2	1
Lebre ( <i>Leppus europaeus</i> )	3	0 (0)	2	-	1
Tapeti ( <i>Sylvilagus brasiliensis</i> )	2	0 (0)	-	2	-
<b>PILOSA</b>	18	0 (0)	4	14	-
<b>Bradipodidae</b>	17	0 (0)			
Preguiça-comum ( <i>Bradypus variegatus</i> )	17	0 (0)	4	13	-
<b>Myrmecophagidae</b>	1	0 (0)	-	1	-
Tamanduá-mirim ( <i>Tamandua tetradactyla</i> )	1	0 (0)	-	1	-
<b>PRIMATES</b>	61	1 (1,6)	12	36	13
<b>Cebidae</b>	7	0 (0)	-	-	-
Sauá ( <i>Callicebus personatus</i> )	7	0 (0)	3	3	1

Continua

<b>Ordem, Família e Espécie</b>	<b>N</b>	<b>Pos. (%)</b>	<b>RMC</b>	<b>AUJ</b>	<b>URB</b>
<b>PRIMATES</b>	46	5 (10,9)	21	14	11
<b>Callithichidae</b>	15	1 (6,6)	3	11	1
Sagui-de-tufo-preto ( <i>Callithrix penicillata</i> )	14	1 (7,1)	3	10*	1
Sagui-da-serra-escuro ( <i>Callithrix aurita</i> )	1	0 (0)	-	1	-
<b>Atelidae</b>	39	0 (0)	-	-	-
Bugio-ruivo ( <i>Alouatta guariba</i> )	39	0 (0)	6	22	11
<b>RODENTIA</b>	40	2 (5)	15	20	5
<b>Caviidae</b>	8	1 (12,5)			
Capivara ( <i>Hydrocherus hydrochaeris</i> )	8	1 (12,5)	3*	4	1
<b>Echymidae</b>	3	0 (0)			
Ratão-do-banhado ( <i>Myocastor coypus</i> )	3	0 (0)	1	2	-
<b>Erethizontidae</b>	28	1 (3,6)			
Ouriço-cacheiro ( <i>Sphiggurus villosus</i> )	28	1 (3,6)	11	13*	4
<b>Sciuridae</b>	1	0 (0)			
Esquilo-serelepe ( <i>Sciurus aestuans</i> )	1	0 (0)	-	1	-
<b>TOTAL</b>	267	11(4,1)	77	149	41

N – Número de mamíferos examinados; Pos. – Número de mamíferos soropositivos; AUJ – Aglomerado Urbano de Jundiá; RMC – Região Metropolitana de Campinas e URD – Unidade Regional Bragantina.

\*Região com presença de mamífero soropositivo para anticorpos anti-*Leptospira* spp.

**Tabela 4.** Frequência absoluta e relativa (%) dos mamíferos silvestres soropositivos para o diagnóstico de leptospirose na Região Metropolitana de Campinas, Aglomerado Urbano de Jundiaí e Unidade Regional Bragantina, segundo municípios e espécies, 2012-2019.

Região (Pos./N)	Município (Pos./N)	Espécies (Pos/N)
Aglomerado Urbano de Jundiaí (5/149, 3,4%)	Jundiaí (3/97, 3,1%)	Cachorro-do-mato <i>Cerdocyon thous</i> (1/4, 25%), lobo-guará <i>Chrysocyon brachyurus</i> (1/1, 100%) e veado-catingueiro <i>Mazama gouazoubira</i> (1/15, 6,7%)
	Louveira (2/23, 8,7%)	Ouriço-cacheiro <i>Sphiggurus villosus</i> (1/2, 50%) e sagui-de-tufo-preto <i>Callithrix penicillata</i> (1/3, 33,3%)
Região Metropolitana de Campinas (3/77, 3,9%)	Itatiba (2/28, 7,1%)	Cachorro-do-mato <i>Cerdocyon thous</i> (1/4, 25%) e capivara <i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> (1/2, 50%)
	Pedreira (1/9, 11,1%)	Lobo-guará <i>Chrysocyon brachyurus</i> (1/2, 50%)
Unidade Regional Bragantina (3/41, 7,3%)	Atibaia (1/9, 11,1%)	Cachorro-do-mato <i>Cerdocyon thous</i> (1/4, 25%)
	Bragança Paulista (2/25, 8%)	Gambá-de-orelha-branca <i>Didelphis albiventris</i> (1/4, 25%) e veado-catingueiro <i>Mazama gouazoubira</i> (1/1, 100%)
Total (11/267, 4,1%)		

Pos./N: Relação do número de mamíferos soropositivos pelo número total de mamíferos examinados.

No geral, os sorvares reagentes foram: Serjoe (n=5), Autumnalis (n=4), Australis (n=3), Canicola (n=2), Cynopteri (n=1), Shermani (n=2), Icterohaemorrhagiae (n=2), Panama (n=2) e Pomona (n=1). Dos 11 animais, 7 (63,4%) foram soropositivos para apenas um sorovar, 3 (27,3%) foram positivos para três sorovar e apenas 1 (3,7%) cachorro-do-mato foi positivo para seis sorovar.

Os mamíferos silvestres reagentes possuíam títulos que variaram de 100 até 1600, com soropositividade para nove sorovares diferentes e foram procedentes de seis municípios. Os mamíferos soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. da RMC foram procedentes dos municípios de Itatiba e Pedreira, do AUJ de Jundiaí e Louveira e da URB de Atibaia e Bragança Paulista (Tabela 5).

Os sorovares mais prevalentes de *Leptospira* spp. de acordo com as espécies analisadas foram: cachorro-do-mato (Pomona), lobo-guará (Australis e Icterohaemorrhagiae),

ouriço-cacheiro (Autumnalis), capivara (Panama), veado-catingueiro (Panama e Canicola), gambá-de-orelha-branca (Sejroe) e sagui-de-tufo-preto (Autumnalis).

**Tabela 5.** Frequência absoluta e relativa (%) de mamíferos silvestres soropositivos para diferentes sorovares de *Leptospira* spp. pelo Teste de Aglutinação Microscópica (MAT), segundo taxonomia, região e títulos de anticorpos. Região Metropolitana de Campinas, Aglomerado Urbano de Jundiá e Unidade Regional Bragantina, 2012-2019.

Ordem, Família e Espécie	Região	Municípios	Sorovares	Títulos de Anticorpos				
				100	200	400	800	1600
CETARTIODACTYLA (Cervidae)								
Veado-catingueiro ( <i>Mazama gouazoubira</i> )	Jundiá (AUJ)	Jundiá	Panama	1				
Veado-catingueiro ( <i>Mazama gouazoubira</i> )	Bragantina (URD)	Bragança Paulista	Canicola		1			
DIDELPHIMORPHIA (Didelphidae)								
Gambá-de-orelha-branca ( <i>Didelphis albiventris</i> )	Bragantina (URD)	Bragança Paulista	Sejroe	-	1	-	-	-
RODENTIA (Caviidae)								
Capivara ( <i>Hydrocherus hydrochaeris</i> )	Campinas (RMC)	Itatiba	Panama	1	-	-	-	-
RODENTIA (Erethizontidae)								
Ouriço-cacheiro ( <i>Sphiggurus villosus</i> )	Jundiá (AUJ)	Louveira	Autumnalis	1				
CARNIVORA (Canidae)								
Cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> )	Campinas (RMC)	Itatiba	Sejroe	-	-	-	1	-
			Australis	-	-	-	1	-
			Serjoe	-	-	-	1	-
Cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> )	Bragantina (URD)	Atibaia	Autumnalis	1	-	-	-	-
			Sejroe	-	-	-	-	1
			Canicola	-	-	-	1	-
			Cynopteri	-	1	-	-	-
			Sejroe	-	-	-	-	1
			Shermani	1	-	-	-	-

Continua

Ordem, Família e Espécie	Região	Municípios	Sorovares	Títulos				
				100	200	400	800	1600
CARNIVORA (Canidae)								
Cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> )	Jundiaí (AUJ)	Jundiaí	Australis	-	1	-	-	-
			Autumnalis			1		
			Pomona				1	
Lobo-guará ( <i>Chrysocyon brachyurus</i> )	Jundiaí (AUJ)	Jundiaí	Australis				1	
Lobo-guará ( <i>Chrysocyon brachyurus</i> )	Campinas (RMC)	Pedreira	Icterohaemorrhagiae		1			
			Icterohaemorrhagiae				1	
			Shermani		1			
PRIMATES (Callithichidae)								
Sagui-de-tufo-preto ( <i>Callithrix penicillata</i> )	Jundiaí (AUJ)	Louveira	Autumnalis		1			
<b>TOTAL</b>		-	-	3	8	3	6	2

Legenda: AUJ – Aglomerado Urbano de Jundiaí; RMC – Região Metropolitana de Campinas e URD – Unidade Regional Bragantina.

## 5 DISCUSSÃO

De acordo com o nosso conhecimento, esta pesquisa representou o primeiro inquérito sorológico da leptospirose nestas três regiões geográficas do Estado de São Paulo: Região Metropolitana de Campinas, Aglomerado Urbano de Jundiaí e na Unidade Regional Bragantina.

Houve um número considerável de soros sanguíneos de mamíferos silvestres analisados e foi possível observar uma ocorrência de soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. nas três regiões estudadas de 4,1% (11) dos 267 animais. Este resultado diferiu da maioria das pesquisas realizadas com animais silvestres no Brasil, cuja porcentagem de soropositivos variou de 16,1% a 83% (LENHARO, 2012; VIEIRA et al., 2013; MIRANDA et al., 2014; SILVA, 2016; FORNAZARI et al., 2018; CUTOLO, 2019).

De acordo com os dados obtidos na ficha de cada indivíduo, a maior parte dos animais analisados (n=266) eram oriundos de área urbana, e em caso de estarem na zona rural, estavam próximos de residências, pois geralmente foram resgatados pelos funcionários dos Órgãos Ambientais depois de solicitação de munícipes. Do total, somente um mamífero (bicho-preguiça) estava em área de floresta e Mata Atlântica.

Nas espécies estudadas, os sorovares encontrados foram: Sejroe, Panama, Australis, Autumnalis, Canicola, Cynopteri, Shermani, Pomona e Icterohaemorrhagiae, sendo que algumas amostras apresentaram reação para mais de um sorovar. Os sorovares mais prevalentes de acordo com as espécies analisadas foram: capivara (Panama), cachorro-do-mato (Pomona), gambá-de-orelha-branca (Sejroe), lobo-guará (Australis e Icterohaemorrhagiae), ouriço-cacheiro (Autumnalis), sagui-de-tufo-preto (Autumnalis) e veado-catingueiro (Panama e Canicola).

Entre os animais analisados, sete apresentaram aglutinação para apenas um sorovar, e foi possível observar as seguintes combinações entre animais que apresentaram coaglutinação: cachorro-do-mato número 1 (Sejroe e Australis), cachorro-do-mato número 2 (Autumnalis, Sejroe, Canicola e Shermani) e cachorro-do-mato número 3 (Australis, Autumnalis e Pomona) e lobo-guará número 2 (Icterohaemorrhagiae e Shermani). Os casos de coaglutinação podem ser explicados devido à exposição a mais de um sorovar, a diversidade de reservatórios e ambientes aos quais os animais se expõem (BARWICK, 1998).

Os títulos variaram entre 100 e 1600, conforme mostra a Tabela 5, sendo que apenas um animal (cachorro-do-mato) apresentou dois títulos 1600 para o sorovar Sejroe; um deles Sejroe variante sorológica Sejroe e o outro Sejroe variante sorológica Hardjobovis. Títulos

com valores baixos podem indicar o início ou a fase crônica da doença, ou até mesmo podem estar relacionados com o fato de aquele animal ser o hospedeiro primário (LEVETT, 2001), desse modo, o mesmo autor recomendou obter mais de uma amostra sanguínea com intervalos de uma semana, pois as aglutininas são detectáveis na circulação sanguínea a partir do sétimo dia da doença, atingindo nível máximo em 21 dias. Em animais silvestres, temos a dificuldade do estresse excessivo do animal, e de muitas vezes ter que anestesiá-lo para colheita de sangue, não sendo viável a presente pesquisa manter o animal internado por mais tempo para obter outras amostras de sangue.

Foram detectados nove sorovares responsáveis pela infecção pela *Leptospira* spp. dos mamíferos das três áreas de estudo, o que demonstrou que dentre os 11 animais analisados, houve uma grande sorovariedade. O sorovar Sejroe foi observado cinco vezes em duas diferentes espécies: gambá-de-orelha-branca e cachorro-do-mato. No estudo de Cutolo (2019) realizado em Monte Mor – SP, município da RMC, também não foi encontrado um gambá-de-orelha-branca com esse sorovar. Já na pesquisa realizada por Fornazari et al. (2018) realizada em Botucatu - SP, o sorovar Sejroe foi encontrado em quati (*Nasua nasua*) e tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*). Em pesquisa realizada em animais silvestres e domésticos no Pantanal/MS, foi detectado sorovar Sejroe em búfalos criados para produção, mas nenhum em animal silvestre (VIEIRA et al., 2013).

Considerando faixa etária dos mamíferos examinados, obteve-se o resultado dos 11 indivíduos (100%) soropositivos, todos adultos. Com relação ao sexo, cinco fêmeas foram soropositivas (dois lobos-guarás, dois cachorros-do-mato e um gambá-de-orelha-branca) e os demais animais (n=6), eram de sexo desconhecido, pela ausência de informações na ficha do cadastro na instituição.

Quanto à época do ano, dentre os 11 mamíferos soropositivos eles foram encaminhados à AMC em janeiro (n=4), fevereiro (n=1), março (n=1), abril (n=2), maio (n=1), junho (n=1) e em setembro (n=1), totalizando oito indivíduos no período chuvoso (novembro a abril) e três no período seco (maio a outubro). Na maior parte dos casos, a ocorrência de enchentes é considerada um fator de risco para a leptospirose animal e humana, pois durante as épocas chuvosas ocorre maior facilidade de disseminação do agente, eliminado pela urina de roedores e outros reservatórios (BRASIL, 2018).

Dos 70 gambás-de-orelhas-brancas e gambás-de-orelhas-pretas analisados, apenas um estava infectado (1,4%), divergindo dos achados verificados por Fornazari et al. (2018) e Bertola (2006), que encontraram 16% (16/195) e 15% (33/220), respectivamente dos animais positivos. Na pesquisa de Cutolo (2019) foi observada uma presença de gambá-de-orelha-

branca reagentes de 35,9% (14/39). O sorovar encontrado na presente pesquisa foi Sejroe e acredita-se ser primeira descrição na espécie *Didelphis albiventris* (gambá-de-orelha-branca). Os gambás estão presentes abundantemente em regiões tropicais, tanto nas florestas quanto em zona urbana, pois são extremamente adaptáveis em diferentes habitats (SANCHES, 2012).

O sorovar Australis foi encontrado em dois dos três cachorros-do-mato avaliados, sendo que os animais foram provenientes de regiões distintas, assim como nos estudos de Silva et al. (2015) e Fornazari et al. (2018). Cynopteri e Shermani também foram encontrados em cachorros-do mato, diferindo da pesquisa de Cutolo 2019, na qual foi observado apenas em gamba-de-orelha-branca e ratão-do-banhado.

O sorovar Panama foi encontrado em dois herbívoros, capivara (procedente da RMC) e veado-catingueiro (procedente do AUJ), dados não encontrados em outros animais de vida livre no Brasil. Em pesquisa realizada no Pantanal do Mato Grosso do Sul foi encontrado apenas um cachorro-do-mato (SILVA, 2016). Já na pesquisa realizada por Lenharo et al. (2012), onde foram investigados animais silvestres de cativeiro (n=72), foi encontrado o sorovar Panama na mesma espécie de canídeo.

Os sorovares Autumnalis e Panama foram identificados em cachorro-do-mato, sagui-de-tufo-preto e ouriço-cacheiro, em outros estudos como de Consorte-McCrea e Santos (2014) em carnívoros do Pantanal, mas nenhum estudo verificou infecção em primatas. Estudos com primatas de vida livre mostraram que a baixa ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. na natureza. Isto deve estar associado aos hábitos arborícolas dos primatas neotropicais, o que reduz a exposição a agentes contaminantes no solo e contato com roedores infectados (REID, 1993).

Os sorovares Canicola, Pomona e Panama foram identificados em: cachorro-do-mato (Canicola e Pomona), veado-catingueiro (Canicola e Panama) e capivara (Panama), diferente do que mostrou no estudo de Silva et al. (2015), onde foram detectados 19 cervídeos infectados por Pomona e nenhum por Canicola. Já no trabalho de Cutolo (2019), foi observado o sorovar Canicola em capivara. Foi identificado no lobo-guará, o sorovar Icterohaemorrhagiae, também encontrado na pesquisa realizada em canídeos do Cerrado, por Rodrigues et al. (2012). Neste estudo em nenhuma amostra dos 40 canídeos silvestres, foi encontrado o sorovar Australis, diferente do lobo-guará proveniente da cidade de Jundiá – SP, que apresentou reatividade para este sorovar. Acredita-se que o sorovar Australis encontrado na presente pesquisa, é a primeira descrição na espécie *Chrysocyon brachyurus* (lobo-guará). Outro fato que chamou bastante atenção é que neste caso o animal foi resgatado

na zona urbana, diferindo dos animais de outras pesquisas, que foram capturados em área de mata (RODRIGUES et al. 2012; FORNAZARI et al., 2018).

Roedores silvestres são considerados reservatórios do sorovar *Icterohaemorrhagiae* (SANTA ROSA, 1975) e estes animais fazem parte de 65% da alimentação do lobo-guará (MOTA-JUNIOR, 1996). Novas investigações devem ser realizadas para verificar esta relação na exposição do agente neste canídeo silvestre, pois foi encontrado este sorovar em um lobo-guará do município do Pedreira (RMC). De todas as espécies soropositivas para infecção por *Leptospira* spp., o lobo-guará é a única que está classificada na Lista Vermelha como quase ameaçada de extinção (PAULA, 2015), devendo receber grande atenção quando se trata do tema conservação e saúde.

Outro aspecto relevante é que carnívoros podem agir como “bioacumuladores” de exposição à patógenos, visto que, por ocuparem o topo da rede trófica, o consumo de hospedeiros infectados resulta em altas taxas de infecção (JORGE, 2010). O cão doméstico tem papel importante na transmissão da leptospirose ao homem, por manter a leptospira por longo período nos rins, podendo eliminá-la na urina sem apresentar sinais clínicos ou após obter a melhora clínica. Esse fato se torna mais agravante devido aos hábitos domésticos de sua estreita relação com os humanos (BATISTA, 2004; MELLO, 2007). No entanto, o real papel dos carnívoros silvestres no ciclo da leptospirose e o impacto desta nas populações de vida livre ainda são desconhecidos (JORGE, 2010).

Em comparação com a perda de habitats, caça e poluição, a ocorrência de doenças pode parecer um problema menor para conservação de espécies silvestres (JORGE, 2010). A ocorrência de patógenos pode afetar a abundância e distribuição de animais e nas últimas décadas o impacto das doenças nas populações de espécies silvestres de vida livre tem chamado a atenção de conservacionistas. As mudanças ecológicas, incluindo expansão das atividades humanas, crescimento agropecuários, fragmentação de habitats, poluição, entre outros, permitem o aumento do contato entre espécies de patógenos e novas populações de hospedeiros (CLEAVELAND, 2000).

Além disso, a transmissão de doenças entre animais domésticos e silvestres é ainda mais preocupante se estes estão em ambientes fragmentados, o que hoje em dia é uma situação bastante comum para grande parte dos animais silvestres brasileiros.

Diante destes fatores, devem ser realizadas mais pesquisas, com maior número de animais silvestres de cada espécie, a fim de enriquecer os resultados. Torna-se fundamental realizar a colheita de sangue de todos os mamíferos atendidos nos Centros de Triagens de Animais Silvestres e nos Centros de Reabilitação de Animais Silvestres, pois dessa forma,

não apenas a leptospirose, mas diversas doenças podem ser diagnosticadas e estudadas, ajudando assim a entender toda a cadeia epidemiológica de diversas enfermidades. Nesta ótica, pode-se utilizar a abordagem da Saúde Única na junção de atividades de prevenção e controle da leptospirose relacionadas às saúdes humana, animal e do meio ambiente.

## 6 CONCLUSÃO

Esta pesquisa representou o primeiro inquérito sorológico da leptospirose nestas três regiões geográficas do Estado de São Paulo. Foi importante para saber que existe o risco de contaminação, sendo assim de grande importância para saúde pública.

As regiões estudadas apresentaram uma prevalência geral de 4,1% de animais soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. Acredita-se ser a primeira descrição do sorovar Sejroe na espécie gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) e o sorovar Australis na espécie de logo-guará (*Chrysocyon brachyurus*).

O estudo sobre a presença de patógenos em animais silvestres é essencial para implementação de programas de controle e erradicação de doenças para o desenvolvimento de políticas de saúde pública e animal e de manejo e conservação de espécies silvestres.

## 7 REFERÊNCIAS

ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3, p. 287-296, 2010.

ALVES, C. J. et al. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos sororeatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 63, p. 1-18, 1996.

BARCELLOS, C. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 5, p. 1283-1292, 2003.

BARWICK, R. S. et al. Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 36, n. 2, p. 153-165, 1998.

BATISTA, C. S. A. et al. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 131-136, 2004.

BERTOLA, P. B. **Estudo da leptospirose (*Leptospira sp*) em gambás (*Didelphis aurita* e *D. albiventris*) no município de São Paulo – SP, 1995-2003**. 2006. 87f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BHARTI, A. R., et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Infectious Diseases**, v. 3, n. 2, p. 757-771, 2003.

BIER, D. et al. Análise espacial do risco de leptospirose canina na Vila Pantanal, Curitiba, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 74-79, 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Casos confirmados de leptospirose no Brasil, grandes regiões e Unidades Federadas (2000 a 2017)**. Brasília: MS, 2019.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília: MS, 2009.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia leptospirose: diagnóstico e manejo clínico**. Brasília: MS, 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Leptospirose animal**. Paraná: MS, 2018.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de controle de roedores**. Brasília: MS, 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Óbitos por Leptospirose no Brasil, grandes regiões e Unidades Federadas (2000 a 2017)**. Brasília: MS, 2017.

CLEAVELAND, S. et al. Serological and Demographic evidence for domestic dog as a source of canine distemper virus infection for Serengeti wildlife. **Veterinary Microbiology**, n. 72, n. 3, p. 217-227 2000.

COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PURSELL A. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. **Applied Microbiology**, v. 25, p. 976-980, 1973.

CONSORTE-MCCREA, A.G.; SANTOS, E. F.; **Ecology and conservation of the maned wolf: multidisciplinary perspectives**. 1. ed. CRC Press, 2014. 127 p.

CORRÊA, S. H. R. Leptospirose. *In*: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. cap. 44, p. 736-739.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. 2470 p.

CUTOLO, A. A. Anticorpos para *Leptospira spp.* em mamíferos silvestres do município de Monte Mor, Estado de São Paulo. 2019. 51f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, São Paulo.

EMPLASA. **Aglomeraco Urbana de Jundia**. São Paulo, 2018. Acessado em: 23 jun. 2018. Disponível em: <<https://www.emplasa.sp.gov.br/AUJ>>.

EMPLASA. **Região Metropolitana de Campinas**, São Paulo, 2018. Acessado em: 23 jul. 2019. Disponível em: <<https://www.emplasa.sp.gov.br/RMC>>

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira* and leptospirosis. **Medical Sciences**, v. 2, n. 2, p. 272-277, 1999.

FARIA, M. T. et al. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. **Acta Tropica**, v. 108, n. 2, p.1-5, 2008.

FORNAZARI, F. et al. *Leptospira* reservoirs among wildlife in Brazil: Beyond rodents. **Acta Tropica**, v. 178, n. 1, p. 205-21, 2018.

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

HERRMANN, J.L. et al. Genome Conservation in Isolates of *Leptospira interrogans*. **Journal of Bacteriology**, Paris, v. 173, n. 23, p. 7582-7588, 1991.

JORGE, R. S. P. et al. Ocorrência de patógenos em carnívoros selvagens brasileiros e suas implicaoes para a conservao e saúde pública. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 3, p. 686-710, 2010.

LANGONI, H. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educao Continuada do CRMV-SP**, v. 2, fascículo I, p. 52 - 58, 1999.

LENHARO, D. K.; SANTIAGO, M. E. B.; LUCHEIS, S. B. Avaliao sorológica para leptospirose em mamíferos silvestres procedentes do Parque Zoológico Municipal de Bauru, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, n. 3, p. 333-341, 2012.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.

MACHRY, L. Caracterização de cepas de referência de *Leptospira* sp utilizando a técnica de pulsed field gel electrophoresis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 166-169, 2010.

MAGALHÃES, D. F. et al. Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 167-174, 2006.

MARINHO, M. Leptospirose: Fatores epidemiológicos, fisiopatológicos e imunopatogênicos. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n.3, p. 428-434, 2008.

MARVULO, M. F. V. Zoonoses. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. cap. 74, p. 1250-1256.

MELLO, L. P. P.; MANHOSO, F. F. R. Aspectos epidemiológicos da leptospirose canina no Brasil. **Unimar Ciência**, v. 16, n. 2, p. 27-32, 2007.

MIRANDA, F. R.; et al. Serosurvey of *Leptospira interrogans*, *Brucella abortus* and *Clamydophila abortus* infection in free-ranging giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) from Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 462-465, 2014.

MOTA-JUNIOR, J. C., TALAMONI, S. A., LOMBARDI, J. A., SIMOKOMAKI, K. Diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in Central Brazil. **Journal of Zoology**, v. 240, n. 1, p. 277-284, 1996.

PASTER, B. J. et al. Phylogenetic Analysis of the Spirochetes. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 2, p. 6101- 6109, 1991.

PAULA, R.C.; DEMATTEO, K. *Chrysocyon brachyurus*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, 2015. Acessado em: 02 jan. 2020. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T4819A82316878.en>>

REID, H. A.; HERRON, A. J, HINES, M.E.; ORCHARD, D. E. A.; ALTMAN, N. H. Leptospirosis in a white lipped tamarin (*Saguinus labiatus*). **Laboratory of Animal Science**, v. 43, n. 3, p. 2589, 1993.

RODRIGUES, T. C. S. et al. Ocorrência de anticorpos contra *Leptospira spp.* em canídeos selvagens de vida livre no cerrado brasileiro. **Veterinária Notícias**, v. 18, n. 2, p. 51-56, 2012.

SANCHES, V. Q. A. et al. Home-range and space use by *Didelphis albiventris* (Lund 1840) (Marsupialia, Didelphidae) in Mutum Island, Paraná river, Brazil, **Biota Neotropical**, v. 12, n.4, p. 50-55, 2012.

SANTA ROSA, C.A. et al. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of a new serotype in the pyrogenes group. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, n. 9, p. 1363-1365, 1975.

SHIMABUKURO, J. S. **Estudo da soroprevalência de *Leptospira spp.* em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) na bacia hidrográfica do Alto Tietê, SP.** 2006. 50f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), São Paulo, São Paulo.

SILVA, F. J. et al. Pesquisa de leptospirosas e de anticorpos contra leptospirosas em animais e humanos de propriedades rurais nos biomas brasileiros Pantanal e Caatinga. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, n. 3, p. 234-248, 2015.

SILVA, T. R. **Detecção de anticorpos contra *Leptospira spp.* em animais de vida livre do Pantanal do Mato Grosso do Sul.** 2016. 47 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Jaboticabal, São Paulo.

TABOR, G. M. Defining Conservation Medicine. *In*: AGUIRRE, A. A, OSTFELD, R. S. G. M, TABOR, C. **Conservation medicine: ecological health in practice.** New York: Oxford University Press, 2002. Cap. 1, p. 8-16.

VIEIRA, A. S. et al. Identificação de mamíferos silvestres do Pantanal Sul-Mato-Grossense portadores de *Leptospira* spp. **Revista Ciência Animal Brasileira**, Mato Grosso do Sul, v. 14, n. 3, p. 373-380, 2013.

WHIKIWAND. **Região Geográfica Imediata de Bragança Paulista. 2019.** Disponível em: < [www.wikiwand.com/pt/Região\\_Geográfica\\_Imediata\\_de\\_Bragança\\_Paulista](http://www.wikiwand.com/pt/Região_Geográfica_Imediata_de_Bragança_Paulista)> Acesso em 05 fev. 2020.

## APÊNDICES

**Quadro 1.** Teste de Aglutinação Microscópica aplicada à leptospirose em mamíferos silvestres segundo o número de identificação do animal e o código da identificação do sorovar reator.

Nº Animal Sorovar mais prevalente	1-A	2	2-A	2-B	5	7	10-A	10-B	12	13-A	15-A	15-C	16
64 (Gambá-de-orelha-branca) Sejroe	NR	200	NR										
206 Sagui-de-tufo-preto) Autumnalis	NR	NR	NR	200	NR								
212 (Cachorro-do-mato 1) -	NR	800	NR	800	800	NR							
215 (Lobo-guará) – Australis e	800	NR											
230 (Cachorro-do-mato 2) -	NR	1600	100	NR	800	200	NR	NR	NR	NR	NR	1600	100
232 (Ouriço-cacheiro) - Autumnalis	NR	NR	NR	200	NR								
240 (Lobo-guará) Icterohaemorrhagiae	NR	NR	NR	NR	NR	NR	200	400	NR	NR	NR	NR	200
241 (Capivara) - Panama	NR	400	NR	NR	NR	NR							
250 (Veado-catingueiro) – Panama	NR	100	NR	NR	NR	NR							
251 (Veado-catingueiro) Canicola	NR	NR	NR	NR	400	NR							
254 Cachorro-do-mato 3) – Pomona	200	NR	400	NR	NR	NR	NR	NR	NR	800	NR	NR	NR
Total	(01)	(01)	(00)	(02)	(01)	(00)	(00)	(01)	(02)	(01)	(00)	(00)	(00)

Proporção de reatores = 11/267 (4,1%), sendo:

- Gambá-de-orelha-branca = Sejroe; Sagui-de-tufo-preto = Autumnalis; Cachorro-do-mato= Pomona; Ouriço-cacheiro= Autumnalis; Lobo-guará: Australis e Icterohaemorrhagiae; Capivara = Panama; Veado= Panama e Canicola
- NR: Animal não reagente;
- Sorovares e Variantes sorológicas: 1-A= Australis (Australis); 2= Sejroe (Guaicura); 2-A= Autumnalis (Autumnalis); 2-B=Autumnalis (Butembo); 5= Canicola (Canicola); 7= Cynopteri (Cynopteri); 10-A= Icterohaemorrhagiae (Copenhageni); 10-B=Icterohaemorrhagiae (Icterohaemorrhagiae); 12= Panama (Panama); 13-A= Pomona (Pomona); 15-A= Sejroe (Harjo); 15-C= Sejroe (Hardjobovis); 16= Shermani (Shermani)

■ Título mais altos entre os reatores;

■ Não houve título dominante

**Quadro 2.** Sorovares utilizados no Teste de Aglutinação Microscópica (MAT) – 2019. Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) Doenças Parasitárias (LDP) do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP).

<b>CÓDIGO</b>	<b>SOROVARES</b>	<b>VARIANTE SOROLÓGICA</b>	<b>CÓDIGO</b>	<b>SOROVAR</b>	<b>VARIANTE SOROLÓGICA</b>
1-A	Australis	Australis	10-A	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
1-B	Australis	Bratislava	10-B	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
2	Sejroe	Guaicura	11	Javanica	Javanica
2-A	Autumnalis	Autumnalis	12	Panama	Panama
2-B	Autumnalis	Butembo	13-A	Pomona	Pomona
3	Ballum	Castellonis	14	Pyrogene	Pyrogenes
4	Batavia	Bataviae	15-A	Sejroe	Hardjo (Hardjoprajitno)
5	Canicola	Canicola	15-C	Sejroe	Hardjobovis
6	Celledoni	Whitcombi	16	Shermani	Shermani
7	Cynopteri	Cynopteri	17	Tarassovi	Tarassovi
9	Grippotyphosa	Grippotyphosa	36	Pomona	Pomona
8	Hebdomadis	Hebdomadis	ST	Djasiman	Sentot