

DANIEL BARRETO DE SIQUEIRA

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM MARSUPIAIS E
ROEDORES SILVESTRES DA MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DE
PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL**

RECIFE

2010

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

DANIEL BARRETO DE SIQUEIRA

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM MARSUPIAIS E
ROEDORES SILVESTRES DA MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DE
PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL**

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

Orientador:

Prof. Dr. Jean Carlos Ramos da Silva

Co-Orientador:

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

RECIFE

2010

Ficha catalográfica

S613s Siqueira, Daniel Barreto de
Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em
marsupiais e roedores silvestres da Mata Atlântica do
Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil./ Daniel Barreto
de Siqueira. -2010.
57 f. : il.

Orientador: Jean Carlos Ramos da Silva.
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária).
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
de Medicina Veterinária, Recife, 2010.
Inclui referências e anexo.

1. Animais silvestres 2. Saúde Pública 3. Protozoário
4. Toxoplasmose 5. Medicina da Conservação I. Jean Carlos
Ramos da Silva, orientador.
II. Título.

CDD 636.9

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

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM MARSUPIAIS E
ROEDORES SILVESTRES DA MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DE
PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL**

Dissertação de Mestrado elaborada por
DANIEL BARRETO DE SIQUEIRA

Aprovada em: 25./ 02./ 2010

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. JEAN CARLOS RAMOS DA SILVA
Orientador – Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. LEUCIO CÂMARA ALVES
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. JOSÉ WILTON PINHEIRO JÚNIOR
Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

Dra. MARIA FERNANDA VIANNA MARVULO
Instituto Brasileiro para Medicina da Conservação – Tríade

Dedico

à Stella,

pelo amor sincero e vibração em todas as etapas da minha vida

e

a Airton,

pelo incentivo e conselhos incondicionais!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, *Airton Siqueira* e *Stella Maris*, que sempre me incentivaram, aconselharam e vibraram em cada fase da minha vida.

Aos meus irmãos, *André Siqueira*, *Tiago Siqueira* e *Lais Siqueira*, que sempre estão por perto em todas as situações.

Em especial a *Catarina Lopes*, que sempre esteve e sempre estará ao meu lado torcendo em cada luta e vibrando com cada vitória.

A todos os amigos do projeto *Didelphis/BioPerSant*, *Sandra Monteiro*, *Vanessa Ribeiro*, *Diogo Lima*, *Rafael Lima*, *Ricardo Cunha*, *Roberto Citelli*, *Tatiana Souza*, *Marcio Silva*, *Mariana Camilo*, *Ana Maymone*, *Paloma Machado*, *Daniela Costa*, *Allan Kardec*, *Geraldo Moura*, *Alexandre Malta*, *Paulo Asfora*, *Danilo Kluyber*, *Renata Sedano*, *Celine Hequet*, *Émilie Longpré*, por todos os momentos vividos durante as atividades de campo e laboratoriais, e pelo senso de equipe e companheirismo estabelecido ao longo de nossa convivência. Especialmente ao *Filipe Martins Aléssio*, por toda experiência que tivemos neste projeto.

Aos meus antigos orientadores e sempre amigos *MV Lúcia Virgínia Barbosa* e *Dr. Gileno Xavier*.

Ao meu orientador e amigo, *Prof. Dr. Jean Carlos Ramos da Silva*, por ser um exemplo de profissional e por todos os ensinamentos teóricos e práticos.

À companheira de profissão, *Dra. Maria Fernanda Vianna Marvulo*, por mostrar-me a simplicidade das coisas no nosso dia a dia.

A todas as Unidades de Conservação Estação Ecológica de Tapacurá, Parque Estadual Dois Irmãos, Estação Ecológica de Caetés, Parque Ecológico São José, Campo de Instrução Marechal Newton Cavalcanti.

Especialmente aos coordenadores das Unidades de Conservação Estação Ecológica de Caetés, *Sra. Sandra Maria de Almeida Cavalcanti*, e Estação Ecológica de Tapacurá, o *Sr. Paulo Martins*, pelo acolhimento imensurável.

Ao *Instituto Brasileiro para Medicina da Conservação – Triade*, pelo apoio ao desenvolvimento de um projeto que traz informações à comunidade científica visando à saúde ecológica na Mata Atlântica de Pernambuco.

Ao *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq* pelo suporte financeiro (Projeto Universal, processo número: 478.229/2007-0).

À *Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE e Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ da Universidade de São Paulo/USP*, pela realização das análises laboratoriais e pelo apoio logístico.

Ao *Instituto Chico Mendes para a Conservação da Biodiversidade – ICMBio* pela licença de capturas no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO (números 11854-1 e 10769-2).

Enfim, a todos que de alguma forma fizeram parte do projeto *Didelphis/BioPerSant*, seja direta ou indiretamente.

*Se nós não estamos preservando o meio ambiente em que vivemos,
nós estamos deixando de nos preservar.*

Daniel Barreto de Siqueira (2001)

RESUMO

DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM MARSUPIAIS E ROEDORES SILVESTRES DA MATA ATLÂNTICA DO ESTADO DE PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL

A intensificação de estudos dos possíveis patógenos transmitidos por marsupiais e roedores se faz necessária para buscar estratégias de prevenção e controle das enfermidades, visando à saúde ambiental dos ecossistemas e da população humana e animal. O objetivo desta pesquisa foi determinar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em sete espécies de marsupiais e em sete espécies de roedores silvestres capturados em oito áreas de Mata Atlântica do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Entre dezembro de 2007 e março de 2009, foram capturados 397 animais, sendo 223 marsupiais e 174 roedores, machos e fêmeas, de idades variadas. Os soros sanguíneos foram testados pelo Teste de Aglutinação Modificada (MAT) utilizando taquizoítos inativados na formalina e 2-mercaptoetanol, e ponto de corte na diluição de 1:25. Anticorpos anti-*T. gondii* foram verificados em 6,7% (15/223) de marsupiais e 5,7% (10/174) de roedores com títulos de 25 (seis marsupiais e seis roedores), 50 (sete marsupiais e três roedores) e 500 (dois marsupiais e um roedor). Com relação às espécies de marsupiais, 11,7% (9/77) de *Didelphis albiventris*, 10,0% (1/10) de *Monodelphis domestica*, 9,5% (2/21) de *Metachirus nudicaudatus*, 3,8% (1/26) de *Didelphis aurita*, 2,3% (1/43) de *Marmosa murina* e 2,3% (1/43) de *Marmosa demerarae* foram soropositivos. Dos roedores, foram soropositivos 33,3% (3/9) de *Rattus rattus*, 8,3% (2/24) de *Nectomys rattus*, 5,5% (2/36) de *Akodon cursor* e 3,0% (3/100) de *Thrichomys laurentius*. Sobre a procedência, observou-se que 75,0% (6/8) das áreas de captura havia animais soropositivos. Os resultados dessa pesquisa representam o primeiro registro de anticorpos anti-*T. gondii* em marsupiais e roedores silvestres no Nordeste do Brasil. A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* indicou uma infecção prévia dos animais soropositivos e a dispersão do parasita nos fragmentos de Mata Atlântica da Região Metropolitana do Recife. Os resultados mostraram que os marsupiais e roedores possuíram um papel na cadeia epidemiológica de *T. gondii* na Mata Atlântica de Pernambuco.

Palavras chave: animais silvestres, saúde pública, protozoário, toxoplasmose, Medicina da Conservação.

ABSTRACT

SEROPREVALENCE OF *Toxoplasma gondii* IN WILD MARSUPIALS AND RODENTS FROM ATLANTIC FOREST OF PERNAMBUCO, NORTHEASTERN REGION OF BRAZIL

In order to improve the environmental health of ecosystems and the health of human and animal populations, studies about possible pathogens transmitted by wild rodents and marsupials are essential to pursue new strategies to prevent and control the spread of diseases. The aim of this study was to determine the seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in seven species of wild marsupials and seven species of wild rodents captured in seven areas of the Atlantic Forest in the State of Pernambuco, in the Northeast of Brazil. Between December 2007 and March 2009, we captured a total of 397 animals: 223 marsupials and 174 rodents, male and females of different age groups. The serum blood samples were tested using the Modified Agglutination Test (MAT) containing tachyzoites that were inactivated in formalin and 2-mercaptoetanol. The cutoff was set at 1:25. Antibodies against *T. gondii* were determined in 15/223 (6.7%) of marsupial blood samples 10/174 (5.7%) of rodent blood samples. Antibody titles were: 25 in six marsupials and six rodents, 50 in seven marsupials and three rodents; and 500 in two marsupials and one rodent. Serum of the following species of marsupials presented positive results: 11.7% (9/77) *Didelphis albiventris*, 10.0% (1/10) *Monodelphis domestica*, 9.5% (2/21) *Metachirus nudicaudatus*, 3.8% (1/26) *Didelphis aurita*, 2.3% (1/43) *Marmosa murina* and 2.3% (1/43) *Marmosa demerarae*. Serum samples of the following species of rodents presented positive results 33.3% (3/9) *Rattus rattus*, 8.3% (2/24) *Nectomys rattus*, 5.5% (2/36) *Akodon cursor* and 3.0% (3/100) of *Thrichomys laurentius*. Regarding the site of capture, positive animals were captured in 75.0% (6/8) of sites. The results of this study are the first record of anti-*T. gondii* antibodies in marsupials and rodents in Northeastern Brazil. The detection of antibodies against *T. gondii* in the serum of marsupials and rodents in the Atlantic Forest of Pernambuco suggests that the agent has spread in the biome and indicates previous infection of animals that had positive serum test results. The results of this study suggest that small mammals can play an important role in the epidemiological chain of *T. gondii* in the Atlantic Forest of Pernambuco, in the Northeast of Brazil.

Key words: wild animals, public health, protozoan, toxoplasmosis, Conservation Medicine

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1	Filhote de <i>D. albiventris</i> no marsúpio durante gestação externa	17
Figura 2	Áreas de captura.....	24
Figura 3	Captura de <i>D. albiventris</i> em armadilha de modelo <i>Tomahawk</i>.	26
Figura 4	Armadilha de modelo <i>Sherman</i>.....	26
Figura 5	<i>Grid</i> de captura.....	26
Figura 6	Utilização de brinco de alumínio como método de marcação.....	27
Figura 7	Marcação por meio de tatuagem.....	27
Figura 8	Colheita de sangue por venopunção.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Proporção de soropositivos para anticorpos anti-<i>Toxoplasma gondii</i> em marsupiais e roedores silvestres da Mata Atlântica do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.	31
-----------------	--	-----------

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Mata Atlântica e o ambiente urbano.....	16
2.2	Pequenos mamíferos silvestres.....	16
2.2.1	Marsupiais.....	17
2.2.2	Roedores.....	18
2.3	Toxoplasmose.....	19
2.3.1	Agente etiológico.....	19
2.3.2	Ciclo biológico.....	19
2.3.3	Métodos de diagnóstico.....	20
2.3.4	A importância dos marsupiais e roedores silvestres na epidemiologia da toxoplasmose.....	21
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1	Área de estudo.....	23
3.2	Animais.....	24
3.3	Captura, contenção e marcação dos animais.....	25
3.4	Colheita de material biológico.....	27
3.5	Procedimento laboratorial.....	28
3.6	Análise dos dados.....	29
3.7	Aspectos éticos.....	29
4	RESULTADOS.....	30
5	DISCUSSÃO.....	32
6	CONCLUSÃO.....	36
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
8	REFERÊNCIAS.....	38
	Anexo 1: Lista de roedores do Estado de Pernambuco.....	46
	Anexo 2: Descrição morfológica das espécies de marsupiais e roedores.....	48
	Anexo 3: Ficha de captura e processamento I.....	56
	Anexo 4: Ficha de captura e processamento II.....	57
	Anexo 5: Procedimento técnico do Teste de Aglutinação Modificado (MAT).....	58

1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é um dos ecossistemas mais ameaçados na conservação da vida silvestre e sua proximidade com grandes centros urbanos pode oferecer uma situação ímpar de eventos que possam influenciar diretamente com o processo saúde-doença, como a dispersão de patógenos, vetores, animais sinantrópicos, pragas urbanas, contaminantes tóxicos e a possibilidade de exposição a esgotos e lixo. Este cenário pode favorecer o aparecimento de doenças de suma importância para estudos epidemiológicos (SILVA, 2005).

Dentre as enfermidades, a toxoplasmose é uma zoonose de grande importância na saúde pública e animal, possuindo uma distribuição mundial, sendo causada pelo *Toxoplasma gondii*. Os felídeos são considerados as fontes de infecção do *T. gondii* e os principais mantenedores do parasito no meio ambiente (DUBEY, 1994). Este coccídeo também possui uma ampla variedade de hospedeiros intermediários e praticamente todos os animais endotérmicos são susceptíveis à infecção, inclusive o homem (DUBEY; BEATTIE, 1988).

Os marsupiais australianos e os primatas neotropicais são os animais silvestres mais susceptíveis à toxoplasmose clínica e fatal (DUBEY; BEATTIE, 1988; GARREL, 1999). Na Filadélfia, Pensilvânia, Estados Unidos da América (EUA) Dubey e Crutchley (2008) observaram em cangurus (*Macropus eugenii*, *M. rufogriseus*), que foram importados da Nova Zelândia, sinais de letargia, perda de peso e incoordenação durante os pulos, perda progressiva da visão até a cegueira completa e morte súbita. Todavia, poucos são os dados sobre a morbidade e mortalidade da toxoplasmose nos marsupiais da fauna brasileira. Os marsupiais e roedores também apresentam um papel importante na epidemiologia da toxoplasmose, pois podem servir de presas para os felídeos e outros carnívoros e também serem caçados por humanos (DEOFEO et al., 2002).

Embora os felídeos sejam os únicos hospedeiros definitivos e, portanto, as únicas espécies capazes de eliminar oocistos nas fezes, os marsupiais principalmente do gênero *Didelphis* (gambá, timbu) e roedores silvestres podem ser consumidos por humanos, principalmente na população rural. Este fator pode tornar as espécies de marsupiais e roedores importantes fontes de infecção da toxoplasmose para os humanos, uma vez que podem conter cistos teciduais e servirem de vias de transmissão pelo consumo da carne mal cozida (DUBEY, 1994).

Nos humanos, podem ser observados abortos, natimortos ou óbitos neonatais (FIGUEIRÓ-FILHO et al., 2005). Crianças infectadas podem não apresentar sinais clínicos ao nascer, mas muitas apresentam sinais tardios da doença, como coriorretinite e retardamento mental (DUBEY, 1994).

Além disso, estudos sorológicos mostraram os marsupiais (CARME et al., 2002; DE THOISY et al., 2003; YAI et al., 2003; DUBEY; CRUTCHLEY, 2008) e roedores silvestres (DEFEO et al., 2002; HEJLÍCEK et al., 1997; CARME et al., 2002; DE THOISY et al., 2003; YAI et al., 2008; DUBEY et al., 2006; DABRITZ et al., 2008) de vida livre e de cativeiro como soropositivos para *T. gondii* em diversas regiões do mundo, como Brasil, Guiana Francesa, Granada, Estados Unidos e Nova Zelândia. Contudo, estudos nesta temática na Mata Atlântica do Nordeste do Brasil são inexistentes.

Neste contexto, o objetivo desta pesquisa foi determinar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em marsupiais e roedores silvestres da Mata Atlântica do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Mata Atlântica e o ambiente urbano

A Mata Atlântica é um mosaico de biodiversidade composto por vários tipos importantes de vegetação, distribuída ao longo de 27 graus de latitude sul (3°S a 30°S), e apresenta grandes variações de altitude, desde o nível do mar até 2.700m (PINTO; BRITO, 2005). É um dos cinco *hotspots* prioritários de biodiversidade mundial (CARVALHO, 2006) e sua localização no litoral está próxima a várias capitais brasileiras.

O cenário atual mostra que grande parte da extensão da Mata Atlântica está localizada em regiões com maior concentração humana do Brasil, onde a densidade demográfica chega a milhares de habitantes por quilômetro quadrado (IBGE, 2010). Este bioma brasileiro é um dos mais biodiversos do planeta e, ao mesmo tempo, um dos mais ameaçados pela ação antrópica, restando cerca de 7,5% de sua cobertura original (MYERS et al., 2000).

Os principais problemas existentes no entorno da Mata Atlântica estão relacionadas com as ocupações humanas irregulares e desordenadas da terra para moradia, como especulação imobiliária e extração dos recursos florestais (HIROTA, 2006). O reflexo deste cenário é o processo contínuo de degradação de áreas naturais e, dentre outras consequências, espécimes silvestres tendem a sair de seus territórios naturais, podendo trazer sérios prejuízos à saúde ambiental, pública e animal (SILVA et al., 2008).

Apesar da Mata Atlântica se localizar quase em sua totalidade próximo a grandes centros urbanos, que albergam diversas universidades e institutos de pesquisa, os estudos com foco em biodiversidade e saúde são ainda inexpressivos (SILVA, 2005).

2.2 Pequenos mamíferos silvestres

Entre os mamíferos, existe uma variação muito grande de tamanho corpóreo, hábitos de vida e preferências de habitat (PARDINI et al., 2004). De acordo com a definição de Fonseca (1989), os pequenos mamíferos são relativamente de curta longevidade, têm tamanhos de corpo pequenos (geralmente menos de 1.000 gramas) e são principalmente noturnos. Dentre eles, incluem os marsupiais e roedores.

2.2.1 Marsupiais

Os marsupiais são conhecidos como mamíferos primitivos e se caracterizam por apresentarem uma dobra de pele abdominal que origina uma bolsa provida com glândulas mamárias, chamada de marsúpio (FINNIE et al., 1986), embora nem todas as espécies neotropicais apresentem esta estrutura.

Inicialmente os marsupiais foram agrupados na ordem Marsupialia, porém, atualmente, estão redistribuídos em ordens distintas, estando presentes nas Américas apenas as ordens Didelphimorphia, Paucituberculata e Microbiotheria (MALTA e LUPPI, 2006). Todavia, para fins didáticos nesta dissertação será utilizado o termo “marsupial”.

Este grupo de animais também possui um curto período de gestação e nascimento de filhotes em estágio imaturo, quase embrionário, que escalam a pelagem da mãe até as mamas, onde se fixam até completarem o seu desenvolvimento (ROSSI et al., 2006). Este período é considerado por alguns autores como gestação externa (Figura 1) (ADAMSKY; DEMMER, 1999).

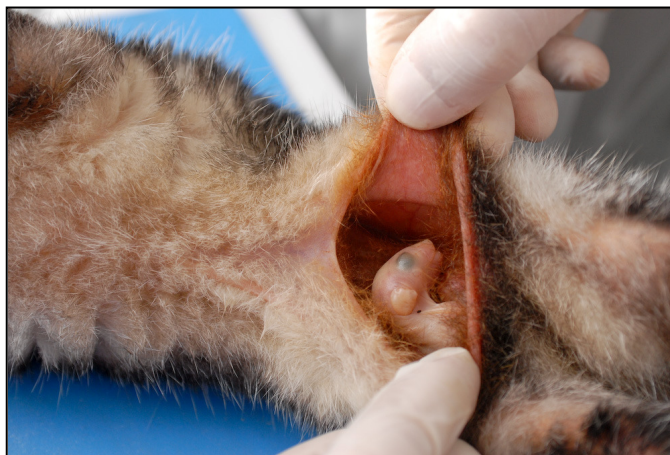


Figura 1 – Filhote de *Didelphis albiventris* no marsúpio durante gestação externa. Foto: Alexandre Severo (2009).

Existem 260 espécies de marsupiais distribuídas em 16 famílias, e são distribuídas nas regiões da Austrália e ilhas circundantes, como Nova Guiné, Celebes, Molucas, e nas Américas (FINNIE et al., 1986; MALTA; LUPPI, 2006).

Os marsupiais do Brasil compreendem 47 espécies, de pequenos (10g) a relativamente grandes (4kg) e são distribuídos principalmente em ambientes de floresta ombrófila densa (Amazônia e Mata Atlântica), podendo ser também encontrados em outros biomas, como o Cerrado e o Pantanal (CÁCERES; MONTEIRO FILHO, 2006). Em Pernambuco, existem as seguintes espécies de marsupiais da família Didelphidae: rato-cachorro (*Caluromys philander*); timbu, cassaco ou saruê (*Didelphis albiventris*, *D. marsupialis*); rato-pequeno-da-mata (*Gracilinamus agilis*); catito, marmosa (*Marmosa murina*, *M. karimii*); catito (*Micoureus demerarae*); *Monodelphis domestica*; cuíca-de-três-listras (*M. americana*), cuíca-de-quatro-olhos (*Metachirus nudicaudatus*) (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002).

O número de estudos sobre hábitos alimentares de marsupiais brasileiros, na natureza, tem aumentado nos últimos anos. A dieta é predominantemente onívora, contudo com especializações alimentares muito particulares, havendo as mais variadas tendências desde a frugivoria até a carnivoria. Os gambás do gênero *Didelphis* são as espécies mais generalistas entre os marsupiais, por outro lado existem espécies mais especialistas como as do gênero *Caluromys*, com hábitos mais frugívoros, e *Metachirus* que é predominantemente insetívora (SANTORI; ASTÚA DE MORAES, 2006). Por este motivo, os marsupiais cumprem uma importante função dentro do ecossistema em que vivem, pois contribuem para o controle das populações de suas presas e são excelentes dispersores de sementes na natureza (CÁCERES, 2002).

2.2.2 Roedores

A ordem Rodentia representa a maior ordem dos mamíferos e compreende duas subordens, 29 famílias, 443 gêneros e 2.021 espécies no mundo (CLARK; OLFERT, 1986; LANGE; SCHMIDT, 2006). A diversidade dos roedores compreende animais com peso de poucos gramas, como os murídeos, até a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), que pode chegar a mais de 50kg (CLARK; OLFERT, 1986). As espécies de roedores silvestres de Pernambuco, segundo Monteiro da Cruz et al. (2002) estão descritas no Anexo 1.

Os roedores possuem algumas características morfológicas marcantes, tais como presença de incisivos proeminentes, de cor amarelada ou alaranjada, que estão em constante crescimento e que precisam ser desgastados pelo ato de roer. O não desgaste contribui para má oclusão ou fricção inadequada dos dentes. O pênis é direcionado para trás e o testículo pode ser inguinal ou abdominal, sendo em várias espécies inguinais somente no período reprodutivo. A realização da coprofagia é uma estratégia importante de complementação

nutricional, como por exemplo, de cianocobalamina e ácido fólico (CLARK; OLFERT, 1986; PESSOA, 2006).

Existem roedores silvestres que possuem hábitos diurnos e outros que são noturnos. O hábito alimentar pode variar grandemente. Muitos roedores são onívoros enquanto outros possuem dieta mais especializada. Podem ter hábitos carnívoros, frugívoros, granívoros, piscívoros ou insetívoros. Por este motivo, também são espécies que cumprem importante função dentro do ecossistema em que vivem, por contribuírem para o controle das populações de suas presas e para a dispersão de sementes na natureza (CLARK; OLFERT, 1986; PESSOA, 2006).

2.3 Toxoplasmose

2.3.1 Agente etiológico

A toxoplasmose é uma zoonose de grande importância para a saúde pública e animal, possuindo distribuição mundial, sendo causada pelo *Toxoplasma gondii* (Nicolle; Manceaux, 1909) (DUBEY, 1994). Este protozoário intracelular obrigatório foi descoberto em 1908 em um pequeno roedor africano denominado gondi (*Ctenodactylus gondi*). O gênero *Toxoplasma* é derivado de “*toxon*”, palavra grega que significa “arco” e “*plasma*” que se refere a “corpo”, ou seja, corpo em forma de arco que é a forma como os taquizoítos se apresenta *in vitro* (DUBEY; BEATTIE, 1988).

2.3.2 Ciclo biológico

Existem três formas principais de transmissão do *T. gondii* para os hospedeiros, sendo pela ingestão de esporozoítos em oocistos eliminados nas fezes de felídeos, ingestão de carne crua ou mal cozida contendo bradizoítos em cistos teciduais e pela via transplacentária por meio de taquizoítos (DUBEY, 1994).

Nos tecidos do organismo dos hospedeiros, o ciclo biológico do *T. gondii* é muito semelhante nos felídeos e nos hospedeiros intermediários. Quando ingeridos, os oocistos liberam oito esporozoítos, que penetram nas células intestinais e se multiplicam por reprodução assexuada nas células intestinais e nos linfonodos. Nesta fase, transformam-se em taquizoítos (forma de multiplicação rápida – “*tachus*” = rápido). Os taquizoítos invadem o tecido muscular, Sistema Nervoso Central – SNC, vísceras e olhos, se multiplicam

intracelularmente, causam lise celular e desencadeiam reação inflamatória local. Os taquizoítos livres podem atravessar a placenta e infectar o feto, porém a transmissão vertical ocorre somente nas fases iniciais da infecção primária e quando não há resposta imune do hospedeiro. Também só ocorre em fêmeas que adquirem o parasita durante a gestação (DUBEY; BEATTIE, 1988; DAVIDSON, 2000).

A transmissão congênita é muito importante nos humanos. Crianças infectadas podem não apresentar sinais clínicos ao nascer, mas muitas apresentam sinais tardios da doença, como coriorretinite, hidrocefalia, retardamento mental, convulsões e calcificação cerebral (ACHA; SZYFRES, 1986; DUBEY, 1994). Também podem ser observados abortos, natimortos ou óbitos neonatais (FIGUEIRÓ-FILHO et al., 2005). Estes sinais clínicos também podem ser observados em ovinos, caprinos e suínos (DUBEY; BEATTIE, 1988).

O desenvolvimento de resposta imune do hospedeiro leva ao encistamento no organismo. Nesta fase, transformam-se em bradizoítos e se multiplicam por reprodução sexuada, de forma lenta (“*bradys*” = lento), os quais permanecem latentes sem causar sinais clínicos. Os cistos teciduais podem permanecer viáveis por muitos anos e permanecem protegidos da resposta imune do hospedeiro. Nos hospedeiros imunodeprimidos, os cistos teciduais podem se romper e os bradizoítos readquirirem as características invasivas dos taquizoítos ocorrendo reativação da infecção latente. A encefalite é o sinal clínico predominante da toxoplasmose em humanos infectados com o vírus da imunodeficiência humana – HIV (DUBEY, 1994; DAVIDSON, 2000).

2.3.3 Métodos de diagnóstico

O diagnóstico da infecção pelo *T. gondii* pode ser estabelecido por testes sorológicos, pela Reação em Cadeia da Polimerase – PCR, por exames histopatológicos, ou pelo isolamento do parasita. Contudo, a utilização de testes sorológicos para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* é o método inicial e principal do diagnóstico (MONTROYA, 2002) principalmente para a realização de estudos epidemiológicos (DUBEY; BEATTIE, 1988).

Entre os testes sorológicos, estão disponíveis no diagnóstico da toxoplasmose a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), o Teste de Hemaglutinação Indireta (HI), o Teste de Aglutinação em Látex (AL), o Teste do Corante (Sabin-Feldman), o ELISA e o Teste de Aglutinação Modificada (MAT) utilizando taquizoítos inativados pela formalina e 2-mercaptoetanol (DUBEY; DESMONTS, 1987; DUBEY; BEATTIE, 1988; DUBEY;

THULLIEZ, 1989; DUBEY et al.; 1995). Entre eles, o MAT possui um diferencial importante, que é a facilidade da técnica e a dispensa do uso de conjugado específico para cada espécie (DUBEY; DESMONTS, 1987).

2.3.4 A importância dos marsupiais e roedores silvestres na epidemiologia da toxoplasmose

O *Toxoplasma gondii* possui uma ampla variedade de hospedeiros intermediários e praticamente todos os animais endotérmicos são susceptíveis à infecção, inclusive o homem (DUBEY; BEATTIE, 1988). Em animais susceptíveis (mamíferos e aves) poucas são as informações sobre a capacidade do agente em causar doença clínica (VITALIANO et al., 2004), sendo necessários estudos mais aprofundados.

Os felídeos são considerados as fontes de infecção do *T. gondii* e os principais mantenedores do parasito no meio ambiente. Em condições naturais, os felídeos eliminam os oocistos nas fezes geralmente após a primo-infecção que pode ser nos primeiros meses ou ao longo da vida. Estes oocistos contaminam o meio ambiente, água e alimentos, o que possibilita a sua ingestão pelo homem, animais domésticos e silvestres. Em condições ideais de temperatura e umidade, os oocistos eliminados nas fezes esporulam no meio ambiente entre um e cinco dias, representando a principal via de transmissão para os hospedeiros intermediários. Quando as condições são desfavoráveis ao seu desenvolvimento, os oocistos podem permanecer viáveis durante 18 meses no ambiente (YILMAZ; HOPPKINS, 1972; DUBEY, 1994).

Os pequenos mamíferos silvestres terrestres (marsupiais e roedores) são hospedeiros intermediários do *T. gondii* e os felinos e outros carnívoros podem se infectar pela predação destes animais (DEOFEO et al., 2002). Emmons (1987) relatou a predação por jaguatirica (*Leopardus pardalis*) de cuíca-de-quatro-olhos (*Metachirus nudicaudatus*), cuíca (*Marmosa demerarae*) e gambá-de-orelha-preta (*Didelphis marsupialis*), e por onça-pintada (*Panthera onca*) de gambá-de-orelha-preta (*D. marsupialis*) e cuíca-de-quatro-olhos (*M. nudicaudatus*). Os marsupiais e roedores podem se infectar após ingerirem oocistos do solo, vegetação ou água contaminada, e os cistos podem ser encontrados no SNC e no tecido muscular (DEOFEO et al., 2002; DABRITZ et al., 2008).

A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* foi verificada em espécies de marsupiais do novo mundo, dentre elas o gambá-de-orelha-preta (*Didelphis marsupialis*) no Brasil, EUA e Guiana Francesa (FERRARONI; MARZOCHI, 1980; SMITH; FRENKEL, 1995; CARME et

al., 2002; DE THOISY et al., 2003; YAI et al., 2003), gambá-de-orelha-branca (*D. albiventris*) na Guiana Francesa (DE THOISY et al., 2003), gambá-de-cara-branca (*D. virginiana*) no México e EUA (SUSÁN; CEBALLOS, 2005; MITCHELL et al., 2006; DUBEY et al., 2009), marmosa (*Marmosa* sp) no Brasil (FERRARONI; MARZOCHI, 1980) e cuíca-de-quatro-olhos (*Metachirus nudicaudatus*) na Guiana Francesa (DE THOISY et al., 2003).

Em roedores silvestres, anticorpos anti-*T. gondii* foram verificados em camundongos da espécie *Mus musculus* no México, EUA e Arábia Saudita (MORSY et al., 1994; SMITH; FRENKEL, 1995; DUBEY et al., 2009) e do gênero *Peromyscus* spp nos EUA (SMITH; FRENKEL, 1995); em ratos das espécies *Rattus norvegicus* nos EUA, Arábia Saudita e Índia (MORSY et al., 1994; SMITH; FRENKEL, 1995; DUBEY et al., 2006) e *Sigmodon hispidus* nos EUA (SMITH; FRENKEL, 1995); roedores do gênero *Proechimys* spp (FERRARONI; MARZOCHI, 1980) e capivaras (*H. hydrochaeris*) (YAI et al., 2008) no Brasil, ouriço (*Coendou mexicanus*) na Costa Rica (MORALES et al., 1996) e cutia (*Dasyprocta agouti*) e paca (*Agouti paca*) na Guiana Francesa (CARME et al., 2002).

Considerando a soroprevalência de *T. gondii* em marsupiais e roedores do Brasil, estudos foram realizados em 63,6% (21/33) em gambás-de-orelha-preta (*D. marsupialis*) e marmosa (*Marmosa* sp) pelo Teste de Hemaglutinação Indireta na região norte (FERRARONI; MARZOCHI, 1980); em 20,4% (82/396) em gambás-de-orelha-preta (*D. marsupialis*) pelo MAT e em 37,4% (148/396) pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) na região sudeste (YAI et al., 2003). Em roedores silvestres (*Proechimys* sp) foram encontrados 61,1% (11/18) na região norte (FERRARONI; MARZOCHI, 1980) e 75,0% (48/64) em capivaras (*H. hydrochaeris*) na região sudeste (YAI et al., 2008).

Em outros países, a soroprevalência de *T. gondii* utilizando-se o MAT em marsupiais do novo mundo variou de 2,9% (1/34) a 29,0% (2/7) em gambás-da-cara-branca (*D. virginiana*) nos EUA (SMITH et al., 1992; MITCHELL et al., 2006) e em roedores variou de 0,0% (0/9) em *R. norvegicus* nos EUA a 60,0% (22/37) em *A. paca* na Guiana Francesa (SMITH et al., 1992; DE THOISY et al., 2003).

A proximidade da Mata Atlântica com os grandes centros urbanos oferece uma situação ímpar para realização de estudos epidemiológicos da toxoplasmose nos marsupiais e roedores (SILVA, 2005), pois estes animais podem servir de presas para os gatos ferais e errantes (SUZÁN; CEBALLOS, 2005) e outros carnívoros, além de serem caçados por humanos para o consumo de sua carne.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

Os marsupiais e roedores foram capturados em sete áreas de Mata Atlântica da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, e em uma localizada na região sul do Estado: Estação Ecológica de Tapacurá – 776 hectares (Latitude: 8° 3'23.12"S, Longitude: 35°10'48.53"O), São Lourenço da Mata; Parque Estadual de Dois Irmãos – 384,42 hectares (Latitude: 8° 0'20.79"S, Longitude: 34°56'51.85"O), Recife; Campo de Instrução Marechal Newton Cavalcanti (CIMNC) – 6.280 hectares (Latitude: 7°50'23.53"S, Longitude: 35° 6'3.97"O), Paudalho; Parque Ecológico São José – 478 hectares (Latitude: 7°50'19.83"S, Longitude: 34°59'52.86"O), Igarassu; remanescentes de Mata Atlântica na região de Aldeia – 488 hectares (Latitude: 7°57'31.86"S, Longitude: 34°59'6.99"O), Camaragibe; Estação Ecológica de Caetés – 157 hectares (Latitude: 7°55'17.23"S, Longitude: 34° 55'44.39"O), Paulista; Alguns gambás do gênero *Didelphis* foram capturados no *campus* da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife; e Reserva Biológica de Saltinho – 548 hectares (Latitude: 8°40'09.23"S, Longitude: 35°08'47.75"O), Tamandaré.

Alguns gambás do gênero *Didelphis* foram capturados em áreas de atuação do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA na Região Metropolitana do Recife, não sendo este considerado como área de estudo por não ter havido uma sistematização de capturas.

A Figura 2 ilustra o mapa das áreas de estudo.

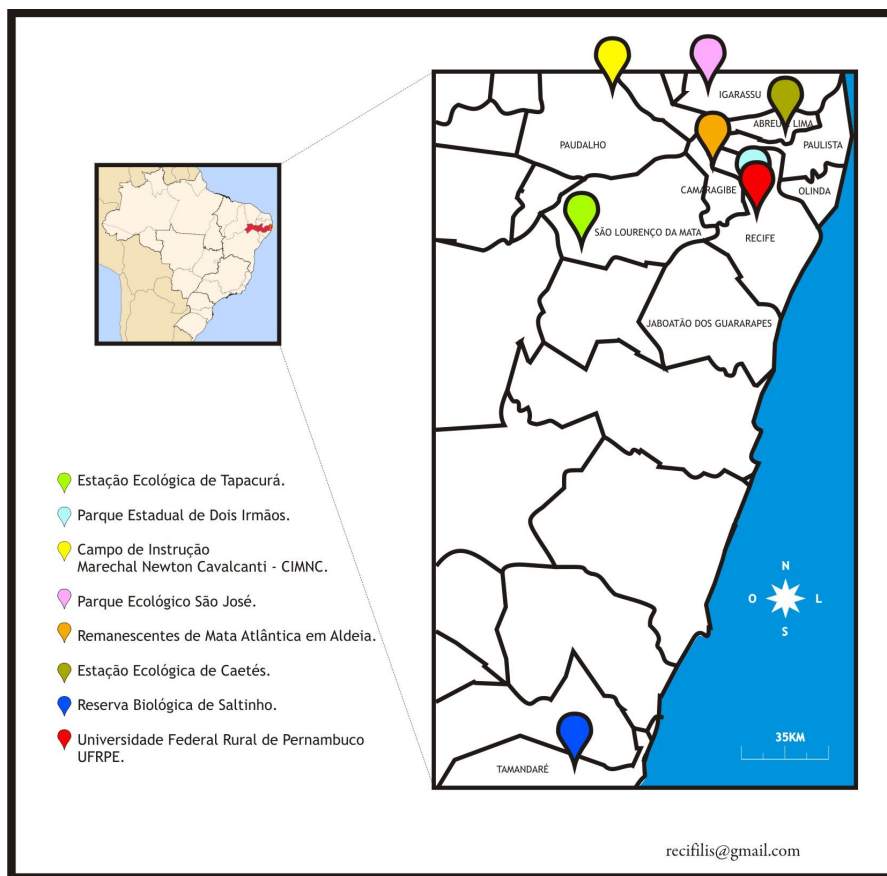


Figura 2 – Áreas de captura. Fonte: Recifilis (2010)

3.2 Animais

No total foram capturados 397 pequenos mamíferos silvestres, sendo 223 marsupiais e 174 roedores.

Entre os marsupiais, 115 eram machos e 108 fêmeas. Com relação à idade, dois eram filhotes, 58 jovens, 14 subadultos e 149 adultos. Ao todo, foram capturadas sete espécies, sendo três cuícas-lanosa (*Caluromys philander*), 77 gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*), 26 gambás-de-orelha-preta (*Didelphis aurita*), 43 cuícas (*Marmosa demerarae*), 43 marmosas (*Marmosa murina*), 21 cuícas-de-quatro-olhos (*Metachirus nudicaudatus*) e 10 catitas ou cuícas-de-rabo-curto (*Monodelphis domestica*).

Dos roedores, 90 eram machos e 84 fêmeas. Com relação à idade, oito eram filhotes, 31 jovens e 135 adultos. Também foram capturadas sete espécies de roedores, sendo 36 ratos-

do-chão (*Akodon cursor*), três ratos-de-cana (*Cerradomys subflavus*), um esquilo (*Guerlinguetus alphonsei*), um camundongo (*Mus musculus*), 24 ratos d'água (*Nectomys rattus*), nove ratos-de-telhado (*Rattus rattus*), 100 punarés (*Thrichomys laurentius*).

A idade dos marsupiais foi determinada pela análise da dentição conforme descrito por Macedo et al. (2006) e dos roedores foi estabelecida de acordo com os aspectos morfológicos externos, utilizando-se como parâmetro a classificação filhote, jovem e adulto.

As características morfológicas dos marsupiais e roedores silvestres são apresentadas no Anexo 2.

3.3 Captura, contenção e marcação dos animais

Foram realizadas 26 expedições de campo entre dezembro de 2007 e março de 2009, sendo cada período de captura composto por cinco noites consecutivas, a cada 15 dias, totalizando um esforço de captura de 25.231 armadilhas/noite.

Para a captura dos animais, foram utilizadas armadilhas de modelo *Tomahawk* e *Sherman*, do tipo *Live trap* (Figuras 3 e 4). Elas foram dispostas no solo ou em galhos de árvores e obedeceram dois métodos distintos: *grid* e transecto.

O *grid* foi formado por oito linhas e 10 colunas, totalizando 80 pontos de captura espaçados 25 metros entre cada (Figura 5). Estas coordenadas foram feitas por meio de técnicas de georreferenciamento com auxílio de um aparelho de Sistema de Posicionamento Global (GPS) e em cada ponto de captura constaram duas armadilhas, perfazendo um total de 160 armadilhas. Concomitante ao *grid* também foram montadas armadilhas a cada 10 metros em trilhas pré-existentes (transecto). As armadilhas foram monitoradas diariamente a partir das 05:00h da manhã. Pedacos de abacaxi foram utilizados para atrair e capturar os animais.



Figura 3 – Captura de *D. albiventris* em armadilha de modelo *Tomahawk*. Foto: Daniel Siqueira (2008).



Figura 4 – Armadilha modelo *Sherman*. Foto: Danilo Kluyber (2008).

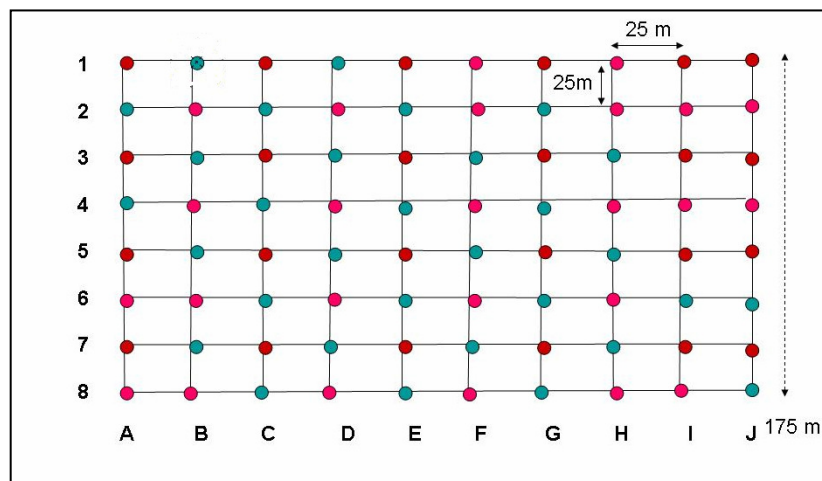


Figura 5 – *Grid* de captura. Fonte: Filipe Aléssio (2008).

No momento da verificação das armadilhas, os animais capturados foram contidos fisicamente, utilizando-se luvas de raspa de couro, e acondicionados em sacos de pano para ser transportados até as instalações físicas das áreas de estudo e manejados para a colheita de material biológico.

A contenção química foi feita procurando-se minimizar o estresse da contenção. O protocolo anestésico utilizado foi a associação do cloridrato de cetamina (50mg/mL; VETANARCOL, König, Brazil) nas dosagens de 30mg/kg para marsupiais e 100mg/kg para roedores, com o cloridrato de xilazina (20mg/mL; XILAZIN, Syntec, Brazil), 2mg/kg para marsupiais e 5mg/kg para roedores (MALTA; LUPPI, 2006; PESSOA, 2006). Ambos os

anestésicos foram administrados pela via intramuscular na região glútea, utilizando uma única seringa descartável 1 ou 3mL e agulhas hipodérmicas (25x7 mm e 13x4,5mm). Os animais foram monitorados por meio dos parâmetros fisiológicos (frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura) até o momento da recuperação anestésica e foram liberados no local de origem. Os dados da anestesia foram registrados por indivíduo em ficha de captura e processamento I, conforme o Anexo 3.

Cada animal foi identificado por marcação individual com brincos de alumínio numerados (ZT 900®, Zootech), colocados na orelha esquerda, ou com uso da tatuagem na face medial do membro pélvico direito, utilizando-se um tatuador (Mei-cha Dynasty Zafiro 2000®) (Figuras 6 e 7). O critério utilizado para o tipo de marcação foi determinado pelo tamanho do animal.

Nos casos de recaptura, os animais foram novamente manejados e colhidos material biológico (sangue) para a identificação de possíveis casos recentes de infecção pelo *T. gondii*.



Figura 6 – Utilização de brinco de alumínio como método de marcação. Foto: Danilo Kluyber (2008).



Figura 7 – Marcação por meio de tatuagem. Foto: Tatiana Souza (2008).

3.4 Colheita de material biológico

As amostras sanguíneas foram colhidas pela venopunção da veia caudal lateral (Figura 8) e depois foram acondicionadas em frasco de vidro estéril 4 mL sem anti-coagulante. Após a centrifugação, os soros sanguíneos foram estocados em microtubos de polipropileno previamente identificados pelo número de marcação do animal, nome científico, local e data da colheita. Este material foi armazenado sob congelamento (-20°C) até o momento do seu processamento laboratorial.

As amostras biológicas foram registradas por indivíduo em uma ficha de captura e processamento II (Anexo 4).



Figura 8 – Colheita de sangue por venopunção (veia caudal lateral). Foto: Danilo Kluyber (2008).

3.5 Procedimento laboratorial

O exame sorológico para toxoplasmose foi realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP) e no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DMV/UFRPE).

Para a determinação de anticorpos anti-*T. gondii* foi utilizado o Teste de Aglutinação Modificado (MAT) utilizando taquizoítas inativados pela formalina e 2-mercaptoetanol (DUBEY; DESMONTS, 1987).

Primeiramente foi realizado um exame de triagem dos soros na diluição de 1:25 e as amostras soropositivas foram submetidas ao exame confirmatório nas diluições de 1:25, 1:50 e 1:500. Os títulos dos soros foram determinados pela maior diluição que apresentou aglutinação. O ponto de corte foi estabelecido em título 25, representando uma infecção passada pelo *T. gondii* (DEOFEO et al., 2002; YAI et al., 2003). Soros controles positivos e negativos procedentes da soroteca do Laboratório de Doenças Parasitárias – DMV/UFRPE foram incluídos em cada teste. O procedimento técnico encontra-se descrito no Anexo 5.

3.6 Análise dos dados

Foi utilizado o programa Epiinfo 6.0 para o cálculo das frequências e os intervalos de confiança de 95%. Os resultados sorológicos foram demonstrados segundo espécie, sexo, idade e procedência.

3.7 Aspectos éticos

Nas atividades desenvolvidas com os marsupiais e roedores capturados, examinados e soltos ao seu ecossistema de origem, foram resguardados o bem-estar animal minimizando o estresse no momento do manejo.

Este projeto possuiu licença do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO Número 11854-1 e 11854-2.

4 RESULTADOS

Anticorpos anti-*T. gondii* (MAT \geq 25) foram encontrados em 6,7% (15/223) dos marsupiais e em 5,7% (10/174) dos roedores. A Tabela 1 apresenta dados sobre a proporção de soropositivos para anticorpos anti-*T. gondii* com respectivo intervalo de confiança de 95% e os títulos do MAT, de acordo com as espécies de marsupiais e roedores.

Dos marsupiais soropositivos, 53,3% (8/15) eram machos e 46,7% (7/15) fêmeas; 26,7% (4/15) eram jovens e 73,3% (11/15) adultos. Dos roedores, 60,0% (6/10) eram machos e 40,0% (4/10) fêmeas; 20,0% (2/10) eram jovens e 80,0% (8/10) adultos.

Sobre a procedência, observou-se que 75,0% (6/8) das áreas de captura havia animais soropositivos. Dos marsupiais, foram detectados animais soropositivos na Estação Ecológica de Tapacurá 26,7% (4/15), Parque Ecológico São José 6,7% (1/15), Estação Ecológica de Caetés 20,0% (3/15), CIMNC 13,3% (2/15), IBAMA 13,3% (2/15) e no *campus* UFRPE 20,0% (3/15). Os animais procedentes do IBAMA foram capturados nos bairros do Rosarinho em Recife e Sucupira em Jaboatão dos Guararapes.

As áreas de capturas de roedores soropositivos foram Estação Ecológica de Tapacurá 30,0% (3/10), Parque Ecológico São José 10,0% (1/10), Estação Ecológica de Caetés 20,0% (2/10) e Aldeia 40,0% (4/10).

Foram recapturados nove marsupiais das espécies *D. albiventris* (n = 4), *M. murina* (n = 2), *M. demerarae* (n = 2), *D. aurita* (n = 1) no intervalo entre 28 e 111 dias e todos os animais continuaram soronegativos para *T. gondii*.

Tabela 1: Proporção de soropositivos para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em marsupiais e roedores silvestres da Mata Atlântica do Estado de Pernambuco.

Ordem, Família	Espécie	Animais			IC 95% (%)	Títulos MAT		
		Examinados	Positivos	%		25	50	500
Didelphimorphia, Didelphidae	<i>Caluromys philander</i>	3	0	0,00	[0,00-0,76]	0	0	0
	<i>Didelphis albiventris</i>	77	9	11,69	[5,49-21,03]	2	7	0
	<i>Didelphis aurita</i>	26	1	3,85	[0,10-19,64]	1	0	0
	<i>Marmosa demerarae</i>	43	1	2,32	[0,06-12,29]	0	0	1
	<i>Marmosa murina</i>	43	1	2,32	[0,06-12,29]	1	0	0
	<i>Metachirus nudicaudatus</i>	21	2	9,52	[1,17-30,38]	2	0	0
	<i>Monodelphis domestica</i>	10	1	10,00	[0,25-44,50]	0	0	1
Rodentia, Cricetidae	<i>Akodon cursor</i>	36	2	5,55	[0,68-18,66]	2	0	0
	<i>Cerradomys subflavus</i>	3	0	0,00	[0,00-0,76]	0	0	0
	<i>Nectomys rattus</i>	24	2	8,33	[1,02-27,00]	0	1	1
Rodentia, Muridae	<i>Mus musculus</i>	1	0	0,00	[0,00-97,50]	0	0	0
	<i>Rattus rattus</i>	9	3	33,33	[7,48-70,07]	3	0	0
Rodentia, Echimyidae	<i>Thrichomys laurentius</i>	100	3	3,00	[0,62-8,52]	1	2	0
Rodentia, Sciuridae	<i>Guerlinguetus alphonsei</i>	1	0	0,00	[0,00-97,50]	0	0	0
Total		397	25	6,30	[4,12-9,15]	12	10	3

Legenda: % = Porcentagem de positivos; IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%; MAT: Teste de Aglutinação Modificada.

5 DISCUSSÃO

Os estudos sorológicos para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em marsupiais e roedores na Mata Atlântica do Nordeste do Brasil são inexistentes. Nessa pesquisa, observou-se maior ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em gambás-de-orelha-branca (*D. albiventris*) 11,69% (9/77) e em ratos-de-telhado (*R. rattus*) 33,33% (3/9). O fato desses marsupiais e roedores possuírem comportamento sinantrópico e, conseqüentemente, viverem próximos a habitações humanas, há também uma maior aproximação desses pequenos mamíferos com os gatos errantes e ferais no ambiente silvestre. A presença de felídeos tende a aumentar o potencial de contaminação do solo com oocistos de *T. gondii* (DUBEY, 1994).

Os resultados sorológicos da cuíca-de-quatro-olhos (*M. nudicaudatus*), cuíca-de-rabo-curto (*M. domestica*) e rato-d'água (*N. rattus*) variaram entre 8,3% a 10%. Essas espécies de marsupiais vivem exclusivamente no solo (VIEIRA, 2006) e o rato-d'água (*N. rattus*) é um roedor que possui hábitos semi-aquáticos (BONVICINO et al., 2008). Estes fatores podem contribuir para o aumento na probabilidade de contato com os oocistos de *T. gondii* no solo ou na água. Por outro lado, a menor ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* detectada em marmosa (*M. murina*) 2,32% (1/43) e cuíca (*M. demerarae*) 2,32% (1/43) pode ter sido influenciada por que esses animais utilizam como área de uso essencialmente o estrato arbóreo e eventualmente o terrestre (SANTOS et al., 2004; VIEIRA, 2006), dificultando assim a exposição ao agente.

Em uma revisão da infecção por *T. gondii* em roedores silvestres e sinantrópicos em diversas regiões do mundo, Dabritz et al. (2008) observaram que os roedores que viviam nos ambientes semi-aquáticos tiveram maiores ocorrências de anticorpos anti-*T. gondii* do que os que habitavam os ambientes mais áridos. De Thoisy et al. (2003) relataram sobre a maior ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em mamíferos neotropicais de hábitos terrestres, tais como cuíca-de-quatro-olhos (*M. nudicaudatus*), tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*), paca (*Agouti paca*), cutia (*Dasyprocta agouti*), ratão-do-banhado (*Myoprocta acouchy*), veado (*Mazama* sp), porco-do-mato (*Tayassu tajacu*) e/ou terrestres e arborícolas, como gambá-de-orelha-branca (*D. albiventris*), gambá-de-orelha-preta (*D. marsupialis*), tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*), papa-mel (*Eira barbara*) e quati (*Nasua nasua*). Também foi relatado que o uso de microhabitats também pôde variar na ocorrência da infecção pelo *T. gondii*, uma vez que os oocistos podem estar mais concentrados em ambientes úmidos, devido

ao seu depósito pelo fluxo de água. Os oocistos podem sobreviver por longos períodos na água e no solo úmido, especialmente se eles estão protegidos da luz do sol (YILMAZ; HOPPKINS, 1972; DUBEY, 1994). É importante considerar que a via transplacentária em roedores é outra forma importante de transmissão vertical por taquizoítos (OWEN; TREES, 1998; MARSHALL et al., 2004).

Considerando os estudos de ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em marsupiais e roedores do Brasil, pesquisas foram realizadas em marsupiais das espécies gambás-de-orelha-preta (*D. marsupialis*) e marmosa (*Marmosa* sp) na região norte e 63,6% (21/33) foram soropositivos pelo Teste de Hemaglutinação Indireta (HI) (FERRARONI; MARZOCHI, 1980); gambás-de-orelha-preta (*D. marsupialis*) na região sudeste apresentaram anticorpos anti-*T. gondii* em 20,4% (82/396) pelo MAT e em 37,4% (148/396) pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (YAI et al., 2003). Em roedores silvestres (*Proechimys* sp) foram encontrados soropositivos 61,1% (11/18) na região norte (FERRARONI; MARZOCHI, 1980) e 75,0% (48/64) em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) na região sudeste, sendo realizado pelo teste de HI e MAT, respectivamente (YAI et al., 2008).

Em outros países, a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* utilizando-se o MAT em marsupiais do novo mundo variou de 2,9% (1/34) a 29,0% (2/7) em gambás-da-cara-branca (*Didelphis virginiana*) nos EUA (SMITH et al., 1992; MITCHELL et al., 2006) e em roedores sinantrópicos e silvestres variou de 0,0% (0/9) em ratazana (*Rattus norvegicus*) nos EUA a 60,0% (22/37) em paca (*Agouti paca*) na Guiana Francesa (SMITH et al., 1992; DE THOISY et al., 2003).

Nos testes sorológicos usados para o diagnóstico da infecção por *T. gondii* em marsupiais e roedores foram utilizados os testes de HI, MAT e RIFI (FERRARONI; MARZOCHI, 1980; SMITH et al., 1992; DEOFEO et al., 2002; YAI et al., 2003; MITCHELL et al., 2006; DE THOISY et al., 2003; YAI et al., 2008). Nestes testes, a RIFI necessita de um conjugado específico para cada espécie (DUBEY; BEATTIE, 1988). Já os testes de aglutinação (HI e MAT) dispensam o uso de conjugado específico para cada espécie animal e são fáceis de serem executados. Neste trabalho, optou-se pelo uso do MAT por ser mais utilizado por diversos autores (SMITH et al., 1992; DE THOISY et al., 2003; YAI et al., 2003; MITCHELL et al., 2006; YAI et al., 2008) e também a utilização de taquizoítos inativados na formalina e 2-mercaptoetanol auxiliam no aumento da especificidade e sensibilidade deste teste sorológico.

Nenhuma das variáveis analisadas espécie, sexo, idade e procedência foram estatisticamente significantes. No entanto foi verificada uma maior ocorrência de anticorpos

anti-*T. gondii* em machos de marsupiais e de roedores. Estes resultados corroboram com outros autores (FERRARONI; MARZOCHI, 1980).

A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* nos marsupiais e roedores aumentou com a idade dos animais. Esse achado pode ser explicado pelos indivíduos mais velhos apresentarem um tempo de exposição maior no meio ambiente contaminado pelo protozoário. Dabritz et al. (2008) observaram que a soropositividade de *T. gondii* em roedores silvestres foram cerca de três vezes maior para os indivíduos adultos em relação aos indivíduos jovens. Todavia, a longevidade curta dos marsupiais neotropicais reduz a oportunidade de exposição ao *T. gondii* (DE THOISY et al., 2003).

A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* entre os fragmentos de Mata Atlântica estudados em Pernambuco foi 75,0% (6/8). Esses resultados sugerem a dispersão do *T. gondii* nos fragmentos de Mata Atlântica da Região Metropolitana do Recife. A não detecção de anticorpos anti-*T. gondii* nos animais procedentes da Reserva Biológica de Saltinho e do Parque Estadual de Dois Irmãos pode ter sido subestimada devido ao baixo número de indivíduos analisados, que foram dois e cinco animais, respectivamente. A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* no Nordeste do Brasil não se limita apenas aos ambientes naturais de Mata Atlântica. Oliveira et al. (2009) relataram sobre a contaminação generalizada com oocistos deste parasita no solo em áreas rurais desta região e, no Estado de Pernambuco, nas cidades de Camaragibe, Paudalho, Caruaru e Gravatá.

A proximidade da Mata Atlântica com os grandes centros urbanos oferece uma situação ímpar para realização de estudos epidemiológicos da toxoplasmose nos marsupiais e roedores (SILVA, 2005), pois estes animais podem servir de presas para os gatos errantes e ferais (SUZÁN; CEBALLOS, 2005) e outros carnívoros, além de serem caçados por humanos.

O hábito do consumo de carne mal cozida ou crua pelos humanos são fatores que podem tornar as espécies de marsupiais e roedores importantes vias de transmissão da toxoplasmose (DUBEY, 1994). De acordo com funcionários da Estação Ecológica de Tapacurá, o punaré (*Thrichomys laurentius*) é uma espécie de roedor bastante caçada e consumida pela população do entorno desta Unidade de Conservação.

Os gambás brasileiros do gênero *Didelphis* também são espécies muito consumidas, principalmente pela população rural. Estes marsupiais representam riscos à saúde dos humanos na América do Sul, pois são consideradas importantes fontes de infecção na epidemiologia de várias zoonoses (TRAVI et al., 1994; SANTIAGO et al., 2007) e podem possuir hábitos sinantrópicos por adaptar-se facilmente a diferentes ambientes. Sabe-se que as

populações sinantrópicas de gambás e roedores são atraídas para os ambientes peridomiciliares quando há disponibilidade de alimentos e abrigos, como lixos armazenados em locais inadequados e entulhos deixados próximo às casas.

Ainda há uma grande quantidade de informações para serem coletadas sobre infecção por *T. gondii* em vida selvagem, sendo necessário ainda saber como esta tem a habilidade de infectar uma grande quantidade de animais e o que realmente ativa a doença clínica. Também é muito importante conhecer os fatores ecológicos e epidemiológicos que podem favorecer nas taxas de transmissão dos agentes infecciosos, assim como suas implicações para a conservação do meio ambiente (SUZÁN et al., 2000). A detecção de anticorpos em populações silvestres pode sugerir a presença de um agente infeccioso e desempenhar um importante papel como um indicador de doenças associadas à fragmentação de ecossistemas (SUZÁN; CEBALLOS, 2005).

Da mesma forma, a intensificação de estudos dos possíveis patógenos que podem ser transmitidos pelos marsupiais e roedores na Mata Atlântica se faz necessária para identificar reservatórios naturais e buscar estratégias de prevenção e controle das enfermidades, visando à saúde ambiental dos ecossistemas e da população humana e animal.

Particularmente na toxoplasmose, devem-se direcionar estratégias de controle para as populações de gatos errantes e ferais que vivem no entorno e no interior das Unidades de Conservação (SUZÁN; CEBALLOS, 2005) do Brasil. É importante também a realização de atividades de educação em saúde para a população humana principalmente no que diz respeito ao controle de natalidade dos felinos domésticos, visando minimizar a predação dos felinos nas populações silvestres e sinantrópicas de marsupiais e roedores e da população humana pelo consumo predatório destes pequenos mamíferos.

Deve-se também ter em mente que os animais silvestres desempenham um papel importante para o equilíbrio ambiental e para o processo saúde-doença (SILVA, 2005) e, por isso, devem-se buscar estratégias de conservação das suas populações e não a dizimação das espécies.

6 CONCLUSÃO

Esses resultados representam o primeiro registro da ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em marsupiais e roedores silvestres no Nordeste do Brasil, servindo como uma referência sobre o papel destes pequenos mamíferos na cadeia epidemiológica da toxoplasmose na Mata Atlântica de Pernambuco.

Também representam o primeiro registro no mundo da ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em gambá-de-orelha-preta (*D. aurita*), cuíca (*M. demerarae*), marmosa (*M. murina*), cuíca-de-rabo-curto (*M. domestica*) e em roedores das espécies rato-do-chão (*A. cursor*), rato-d'água (*N. rattus*), rato-de-telhado (*R. rattus*) e punaré (*T. laurentius*) entre os roedores.

A detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em marsupiais e roedores na Mata Atlântica de Pernambuco indicou uma infecção prévia dos animais soropositivos e a dispersão do parasita possivelmente por oocistos nos fragmentos de Mata Atlântica da Região Metropolitana do Recife.

Os marsupiais e roedores possuem um papel na cadeia epidemiológica de *T. gondii* na Mata Atlântica de Pernambuco, Nordeste do Brasil, pois podem servir como fontes de infecção e/ou vias de transmissão.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização de pesquisas epidemiológicas de enfermidades que possuem importância para a saúde pública, animal e ambiental assume grande destaque para a comunidade científica e para a saúde ecológica, principalmente quando trabalhamos com populações de animais silvestres no ambiente *in situ*, onde as informações ainda são carentes.

Em populações de animais silvestres que possuem hábitos generalistas e sinantrópicos, como é o caso de algumas espécies de marsupiais e roedores, esses estudos são ainda mais expressivos, pois esses animais passam a representar maior risco à saúde humana, uma vez que há uma maior proximidade no ambiente urbano.

O inquérito sorológico realizado nessa pesquisa indicou uma infecção prévia dos animais soropositivos e a dispersão da infecção pelo *T. gondii* nas áreas estudadas, porém é fundamental que estudos mais aprofundados sejam realizados para se concluir o verdadeiro papel dos marsupiais e roedores na cadeia epidemiológica do *T. gondii* na Mata Atlântica de Pernambuco.

8 REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2. ed. Washington: Organization Panamericana de la Salud, 1986. (Publicación Científica n. 503). 989 p.

ADAMSKY, F. M.; DEMMER, J. Two stages of increase IgA transfer during lactation in the marsupial, *Thricosurus vulpecula* (Brush-tail possum). **Journal of Immunology**, v. 162, p. 6009-6015, 1999.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil: com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano da Saúde - OPAS/OMS, 2008. 122p.

CÁCERES, N. C. Food habits and seed dispersal by the white-eared opossum, *Didelphis albiventris*, in Southern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 37, n. 2, p. 97-104, 2002.

CÁCERES, N. C.; MONTEIRO FILHO, E. L. A. **Os Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução**. Campo Grande: Editora UFMS, 2006. 364 p.

CARME, B.; AZNAR, C.; MOTARD, A.; DEMAR, M.; DE THOISY, B. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* in noncarnivorous free-ranging neotropical mammals in French Guiana. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 2, n. 1, p. 11-17, 2002.

CARVALHO, J. C. Iniciativas políticas para a conservação da Mata Atlântica brasileira. In: GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. **Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2005. Cap. 9, p. 133-136.

CLARK, J. D.; OLFERT, E. D. Rodents (Rodentia). In: FOWLER, M. E. **Zoo and wild animal medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. 2 ed. Cap. 46. p. 726-748.

DABRITZ, H. A.; MILLER, M. A., GARDNER, I. A., PACKHAM, A. E., ATWILL, E. R., CONRAD, P. A. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in wild rodents from Central Coastal California and a review of *T. gondii* prevalence in rodents. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 3, p. 675-83, 2008.

DAVIDSON, M. G. Toxoplasmosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, n. 5, p. 1051-1062, 2000.

DE THOISY, B.; DEMAR, M.; AZNAR, C.; CARME, B. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free-ranging neotropical mammals. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 2, p. 456-459, 2003.

DEOFEO, M. L.; DUBEY, J. P.; MATHER, T. N.; RHODES, R. C. Epidemiologic investigation of seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats and rodents. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 12, p. 1714-1717, 2002.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton: CRC Press, 1988. 220 p.

DUBEY, J. P.; BHAIYAT, M. I.; MACPHERSONT, C. N. L.; DE ALLIE, C.; CHIKWETO, A.; KWOK, O. C. H.; SHARMA, R. N. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in rats (*Rattus norvegicus*) in Grenada, West Indies. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 5, p. 1107-1108, 2006.

DUBEY, J. P.; CRUTCHLEY, C. Toxoplasmosis in wallabies (*Macropus rufogriseus* and *Macropus eugenii*): blindness, treatment with atovaquone, and isolation of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 4, p. 929-933, 2008.

DUBEY, J. P.; DESMONTS, G. Serologic responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal**, v. 19, n. 4, p. 337-339, 1987.

DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R.; THULLIEZ, P. Long-term antibody responses of cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 6, p. 887-893, 1995.

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Serologic diagnosis of toxoplasmosis in cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 194, n. 9, p. 1297-1299, 1989.

DUBEY, J. P.; VELMURUGAN, G. V.; ALVARADO-ESQUIVEL, C.; ALVARADO-ESQUIVEL, D.; RODRÍGUEZ-PEÑA, S.; MARTÍNEZ-GARCÍA, S.; GONZÁLEZ-HERRERA, A.; FERREIRA, L. R.; KWOK, O. C. H.; Su, C. Isolation of *Toxoplasma gondii* from animals in Durango, Mexico. **Journal of Parasitology**, v. 95, n. 2, p. 319-322, 2009.

EMMONS, L. H. Comparative feeding ecology of felids in a neotropical rainforest. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 20, p. 271-283, 1987.

FERRARONI, J. J.; MARZOCHI, M. C. A. Prevalência da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em animais domésticos, silvestres e grupamentos humanos na Amazônia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 75, n. 1-2, p. 99-109, 1980.

FIGUEIRÓ-FILHO, E. A.; LOPES, A. H. A.; SENEFFONTE, F. R. A.; SOUZA JR, V. G.; BOTELHO, C. A.; FIGUEIREDO, M. S.; DUARTE, G. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da região Centro-Oeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 27, n. 8, p. 442-449, 2005.

FINNIE, E. P.; BERGIN, T. J.; HUME, I. D.; BUTLER, R.; BEVERIDAE, I. Monotremes and marsupials (Monotremata and Marsupialia). In.: FOWLER, M. E. **Zoo and wild animal medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. 2 ed. Cap. 36, p. 557-593.

FONSECA, G. A. B. Small mammal species diversity in Brazilian tropical primary and secondary forests on different sizes. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 6, n. 3, p. 381-422, 1989.

GARREL, D. M. Toxoplasmosis in zoo animals. In: FOWLER, M. E.; MILLER, R. E. **Zoo and wild animal medicine. Current therapy 4**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1999. p. 131-135.

HEJLÍČEK, K.; LITERÁK, I.; NEZVAL, J. Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 33, n. 3, p. 480-485, 1997.

HIROTA, M. M. Monitoramento da cobertura da Mata Atlântica brasileira. In: GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. **Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2006. Cap. 4, p. 60-65.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 02 mar. 2010.

LANGE, R. R.; SCHMIDT, E. M. S. Rodentia – roedores silvestres (capivara, cutia, paca, ouriço). In: ZALMIR, S. C.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. Cap. 29, p. 475-491.

MACEDO, J.; LORETTO, D.; VIEIRA, M. V.; CERQUEIRA, R. Classes de desenvolvimento em marsupiais: um método para animais vivos. **Mastozoologia Neotropical**, v. 13, n. 1, p. 133-136, 2006.

MACRINI, T. E. *Monodelphis domestica*. **Mammalian Species**, n. 760, p. 1-8, 2004.

MALTA, M. C. C.; LUPPI, M. M. Marsupialia – Didelphimorphia (gambá, cuíca). In: ZALMIR, S. C.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. Cap. 23, p. 340-357.

MARSHALL, P. A.; HUGHES, J. M.; WILLIAMS, R. H.; SMITH, J. E.; MURPHY, R. G.; HIDE, G. Detection of high levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in natural urban populations of *Mus domesticus*. **Journal of Parasitology**, v. 128, n. 1, p. 39-42, 2004.

MITCHELL, S. M.; RICHARDSON, D. J.; LINDSAY, D. S. Prevalence of agglutinating to *Toxoplasma gondii* in striped skunks (*Mephitis mephitis*), opossums (*Didelphis virginiana*)

and raccoons (*Procyon lotor*) from Connecticut. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 3, p. 664-665, 2006.

MONTEIRO DA CRUZ, M. A. O.; CABRAL, M. C. C.; SILVA, L. A. M.; CAMPELLO, M. L. C. B. Diversidade da mastofauna no estado de Pernambuco. In: TABARELLI, M; SILVA, J. M. C. (orgs). **Diagnóstico da biodiversidade de Pernambuco**. Recife: Massangana, 2002. vol. 2, p. 557-579.

MONTOYA, J. G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 185, supl. 1, p. S73-82, 2002.

MORALES, J. A.; PEÑA, M. A.; DUBEY, J. P. Disseminated toxoplasmosis in a captive porcupine (*Coendou mexicanus*) from Costa Rica. **Journal of Parasitology**, v. 82, n. 1, p. 185-186, 1996.

MORSY, T. A.; SABRY, A. H.; HABIB, K. S.; ARAFA, M. A.; EL BAHRAWY, A. F.; AL DAKHIL, M. M. Antibodies against toxoplasma in commensal rodents trapped in Riyadh Region, Saudi Arabia. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 24, n. 2, p. 279-284, 1994.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.

OLIVEIRA, J. A.; BONVICINO, C. R. Ordem Rodentia. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Orgs.). **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Nélío R. dos Reis, 2006. Cap. 12, p. 347-406.

OLIVEIRA, L. N.; COSTA JUNIOR, L. M.; DE MELO, C. F.; RAMOS SILVA, J. C.; BEVILAQUA, C. M. L.; AZEVEDO, S. S.; MURADIAN, V.; ARAÚJO, D. A. F. V.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the Northeast Region of Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 95, n. 1, p. 235-237, 2009.

OWEN, M. R.; TREES, A. J. Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* from chronically infected house (*Mus musculus*) and field (*Apodemus sylvaticus*) mice determined by polymerase chain reaction. **Journal of Parasitology**, v.116, n. 4, p. 299-304, 1998.

PARDINI, R.; DITT, E. H.; CULLEN JR. L.; BASSI, C.; RUDRAN, R. Levantamento rápido de mamíferos terrestres de médio e grande porte. In: CULLEN, JR. L.; RUDRAN, R.; VALLADARES-PAUDA, C. **Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre**. Curitiba: Editora UFPR, 2004. Cap. 8, p. 181-201.

PESSOA, C. A. Rodentia – roedores de companhia (hamster, gerbil, cobaia, chinchila, rato). In: ZALMIR, S. C.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds.). **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. Cap. 28, p. 432-474.

PINTO, L. P.; BRITO, M. C. Dinâmica da perda da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira: uma introdução. In: GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. **Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2005. Cap. 1, p. 27-30.

ROSSI, R. V.; BIANCONI, G. V.; PEDRO, W. A. Ordem Didelphimorphia. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Orgs.). **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Nélcio R. dos Reis, 2006. Cap. 2, p. 27-66.

SANTIAGO, M. E. B.; VASCONCELOS, R. O.; FATTORI, K. R.; MUNARI, D. P.; MICHELIN, A. F.; LIMA, V. M. F. An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). **Veterinary Parasitology**, v. 150, p. 283-290, 2007.

SANTORI, R. T.; ASTÚA DE MORAES, D. Alimentação, nutrição e adaptações alimentares de marsupiais brasileiros. In: CÁCERES, N. C.; MONTEIRO FILHO, E. L. A. (Orgs.). **Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução**. Campo Grande: Editora UFMS, 2006. Cap. 17, p. 241-254.

SANTOS, A. B.; LÓSS, S.; LEITE, Y. R. L. Padrões de uso de estratos da floresta por pequenos mamíferos no Parque Estadual da Fonte Grande, Vitória, Espírito Santo. **Natureza on line**, v. 2, n. 2, p. 27–33, 2004.

SILVA, J. C. R. Biodiversidade e saúde. In: FRANKE, C. R.; ROCHA, P. L. B.; KLEIN, W.; GOMES, S. L. (Orgs.). **Mata Atlântica e biodiversidade**. Salvador: UFBA, 2005. v. 1, p. 191-219.

SILVA, J. C. R.; SIQUEIRA, D. B.; MARVULO, M. F. V. Ética e bem-estar em animais silvestres: Unidades de Conservação. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 11, supl., p. 61-65, 2008.

SMITH, K. E.; ZIMMERMAN, J. J.; PATRON, S.; BERAN, G. W.; HILL, H. T. The epidemiology of toxoplasmosis on Iowa swine farms with an emphasis on the roles of free-living mammals. **Veterinary Parasitology**, v. 42, n. 3-4, p. 199-211, 1992.

SMITH, D. D., FRENKEL, J. K. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in wild mammals of Missouri and east central Kansas: biologic and ecologic considerations of transmission. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 31, n. 1, p. 15-21, 1995.

SUZÁN, G.; CEBALLOS, G. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two nature reserves within Mexico city limits. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 36, n. 3, p. 479–484, 2005.

SUZÁN, G.; GALINDO, M. F.; CEBALLOS, G. La importancia del estudio de enfermedades en la conservación de fauna silvestre. **Veterinaria México**. v. 31, n. 3, p. 223-230, 2000.

TRAVI, B. L.; JARAMILLO, C.; MONTOYA, J.; SEGURA, I.; ZEA, A.; GONÇALVES, A.; VELEZ, I. D. *Didelphis marsupialis*, an important reservoir of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* and *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 50, n. 5, p. 557-565, 1994.

VIEIRA, E. M. Padrões de uso vertical do habitat por marsupiais brasileiros. In: CÁCERES, N. C.; MONTEIRO FILHO, E. L. A. **Os Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e evolução**. Campo Grande: Editora UFMS, 2006. Cap. 15, p. 217-228.

VITALIANO, S. N.; SILVA, D. A. O.; MINEO, T. W. P.; FERREIRA, R. A.; BEVILACQUA, E.; MINEO, J. R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 122, p. 253-260, 2004.

YAI, L. E. O.; CAÑON-FRANCO, W. A.; GERALDI, V. C.; SUMMA, M. E. L.; CAMARGO, M. C. G. O.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* antibodies in the South American opossum (*Didelphis marsupialis*) from the city of São Paulo, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 4, p. 870-871, 2003.

YAI, L. E. O.; RAGOZO, A. M. A.; AGUIAR, D. M.; DAMACENO, J. T.; OLIVEIRA, L. N.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Isolation of *Toxoplasma gondii* from capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) from São Paulo State, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 5, p. 1060–1063, 2008.

YILMAZ, S. M.; HOPKINS, S. H. Effects on different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. **Journal of Parasitology**, v. 58, n.5, p. 938-39, 1972.

Anexo 1

Lista de roedores do Estado de Pernambuco (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002).

Família	Nome comum	Nome científico
Caviidae	Preá	<i>Cavia aperea</i>
	Preá	<i>Cavia aperea aperea</i>
	Preá	<i>Galea spixii</i>
	Mocó	<i>Kerodon rupestris</i>
Dasyproctidae	Cutia	<i>Dasyprocta azarae</i>
	Cutia	<i>D. leporina</i>
	Cutia	<i>D. prymnolopha</i>
	Cutia	<i>Dasyprocta</i> sp
Agoutidae	Paca	<i>Agouti paca</i>
Muridae	---	<i>Akodon arviculoides</i>
	Rato-do-chão	<i>A. cursor</i>
	Rato-do-chão	<i>Bolomys lasiurus</i>
	---	<i>Holichilus brasiliensis</i>
	Rato-de-cana	<i>H. sciureus</i>
	Camundongo	<i>Mus musculus</i>
	Rato-d'água	<i>Nectomys squamipes</i>
	Rato-do-mato	<i>Oligoryzomys stramineus</i>
	---	<i>Oryzomys delicatus</i>
	---	<i>O. eliurus</i>
	Rato-de-cana	<i>O. subflavus</i>
	Rato-focinhundo	<i>Oxymycterus angularis</i>
	---	<i>Pseudoryzomys</i> sp
	Ratazana, guabiru	<i>Rattus norvegicus</i>
	Rato-de-casa	<i>R. rattus</i>
	---	<i>Rattus</i> sp
	---	<i>Rhipidomys cearanus</i>
Rato-de-algodão	<i>R. mastacalis</i>	
---	<i>Weidomys pyrrhohinos</i>	
Cricetidae	Rato-de-seis-gramas	<i>Calomys calosus</i>

continua

Família	Nome comum	Nome científico
	Rato-de-seis-gramas	<i>Calomys</i> sp
	Rato-espinho	<i>Nelomys</i> sp
	Rato-de-árvore	<i>Rhipidomys</i> sp
Echimyidae	Rato-das-árvores, rato-espinho	<i>Echymys nigrispinis</i>
	Punaré	<i>Trichomys apereoides</i>
Erethizontidae	Coandu, ouriço, porco-espinho	<i>Coendou prehensilis</i>
Hydrochaeridae	Capivara	<i>Hydrochaeris</i> <i>hydrochaeris</i>
Sciuridae	Serelepe, caxinguelê, quatipara	<i>Sciurus aestuans</i>
	Esquilo	<i>Sciurus ingraumi</i>
	Paracatota, coati-côco, coati-puru	<i>Sciurus</i> sp

Anexo 2

DESCRIÇÃO MORFOLÓGICA DAS ESPÉCIES DE MARSUPIAIS E ROEDORES

1 Marsupiais

O *Caluromys philander* (Linnaeus, 1758) (Figura 1), conhecido por cuíca-lanosa, tem cabeça pequena e cinza e os olhos grandes circundados por um anel pardo. De sua nuca, parte uma listra longitudinal escura que se estende até o focinho, passando por entre os olhos. O dorso é pardo tornando-se gradualmente amarelo nas partes inferiores. Possui cauda preênsil, porte mediano (142-350g) e é provido de marsúpio rudimentar (ROSSI et al., 2006).



Figura 1 – Cuíca-lanosa (*Caluromys philander*).
Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Didelphis albiventris* (Lund, 1840) (Figura 2), conhecido popularmente por gambá-de-orelha-branca, timbu, cassaco, mucura ou saruê, possui variações consideráveis na sua coloração, predominando a cor grisalha, conferida por pêlos negros misturados a pêlos esbranquiçados. A face apresenta três listras negras, sendo dois sobre os olhos e um na fronte. As orelhas são pretas na base e branco-rosadas na metade distal. É provido de marsúpio e cauda preênsil, e seu peso varia entre 500 e 2.750g (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002; ROSSI et al., 2006).



Figura 2 – Gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*). Foto: Filipe Aléssio (2008).

O *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826) (Figura 3), também conhecido por timbu, cassaco, mucura ou saruê e por gambá-de-orelha-preta, possui porte médio com massa corporal entre 670 e 1.882g, cauda preênsil e marsúpio. Sua coloração dorsal pode ser negra ou grisalha. As listras negras na face seguem o mesmo padrão de *D. albiventris*, porém a orelha é completamente negra (ROSSI et al., 2006).



Figura 3 – Gambá-de-orelha-preta (*Didelphis aurita*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Marmosa demerarae* (Thomas, 1905) (Figura 4), conhecido por cúica, possui porte mediano com peso variando entre 89 e 149g, não possui marsúpio e é provido de cauda preênsil. Possui uma larga faixa de pêlos escurecidos ao redor dos olhos, pelagem dorsal longa, lanosa, de coloração marrom-acinzentada e pelagem ventral de base cinza e ápice creme (ROSSI et al., 2006).



Figura 4 – Cuíca (*Marmosa demerarae*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

A *Marmosa murina* (Linnaeus, 1758) (Figura 5), conhecida por cúica ou marmosa, possui porte pequeno (18-100g), cauda preênsil e nua. Não possui marsúpio. Sua coloração uniforme é marrom-acinzentada, porém pode ser creme no ventre. Possui uma faixa de pêlos escurecidos ao redor dos olhos (ROSSI et al., 2006).



Figura 5 – Marmosa (*Marmosa murina*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Metachirus nudicaudatus* (Geoffroy, 1803) (Figura 6), conhecido por cúica-de-quatro-olhos, apresenta pelagem curta e densa, de coloração marrom-acinzentada e creme no ventre. A face tem tons mais escuros com uma mancha branca ou creme bem definida sobre cada olho. A cauda é não preênsil e nua em praticamente toda a sua extensão. Possui porte mediano com massa corpórea entre 91 e 480g (ROSSI et al., 2006).



Figura 6 – Cuíca-de-quatro-olhos (*Metachirus nudicaudatus*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Monodelphis domestica* (Wagner, 1842) (Figura 7), conhecido por catita ou cúica-de-rabo-curto, é uma espécie de porte pequeno (80-150g), possui coloração dorsal marrom-acinzentada e ventral, de cor cinza tingida de laranja, e não possui marsúpio. A cauda não preênsil é recoberta por muitos pêlos em seu terço basal (MACRINI, 2004).



Figura 7 – Catita ou cúica-de-rabo-curto (*Monodelphis domestica*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

2 Roedores

O *Akodon cursor* (Winge, 1887) (Figura 8), conhecido popularmente como rato-do-chão, é uma espécie de tamanho pequeno, com massa corporal de 16 a 56g, possui orelhas grandes e cauda pouco menor do que o comprimento do corpo. A pelagem do dorso varia do castanho claro ao escuro sem limite definido com a pelagem do ventre, que é amarelada ou cinza-esbranquiçada (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002; OLIVEIRA; BONVICINO, 2006).



Figura 8 – Rato-do-chão (*Akodon cursor*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Cerradomys subflavus* (Wagner, 1842) (Figura 9), conhecido vulgarmente por rato-de-cana, possui tamanho médio a grande, com peso em torno de 73g, e a cauda é maior que o comprimento do corpo. A coloração do dorso varia de castanho-escura a castanho-amarelada, com pêlos mais claros nas laterais e limite pouco definido com o ventre, que é esbranquiçado ou amarelado (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002; BONVICINO et al., 2008).



Figura 9 – Rato-de-cana (*Cerradomys subflavus*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Nectomys rattus* (Figura 10), conhecido por rato-d'água, é um animal de tamanho grande (100-400g), a pelagem do corpo é castanho-escuro e brilhante, ventre esbranquiçado com algumas partes amareladas. Possui cauda robusta, pouco pilosa, com pêlos pequenos. As patas posteriores são grandes e robustas e apresentam membranas interdigitais (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002; OLIVEIRA; BONVICINO, 2006; BONVICINO et al., 2008).

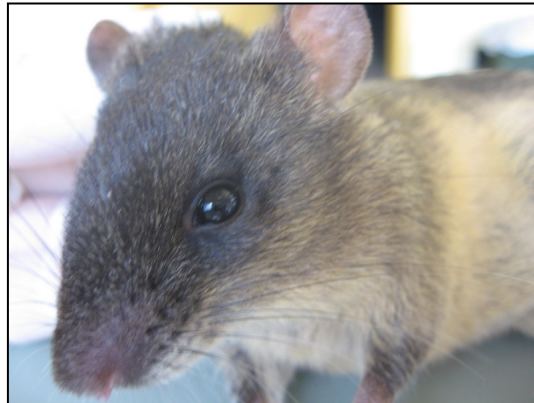


Figura 10 – Rato d'água (*Nectomys rattus*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Mus musculus* (Linnaeus, 1758) (Figura 11), conhecido por camundongo ou catita, é um pequeno roedor (10-24g) com pelagem uniformemente cinzento-amarelada, orelhas grandes, sem limite definido entre as superfícies dorsal e ventral (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002; OLIVEIRA; BONVICINO, 2006; BONVICINO et al., 2008).



Figura 11 – Camundongo ou catita (*Mus musculus*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Rattus rattus* (Linnaeus, 1758) (Figura 12), conhecido popularmente por rato-de-telhado, é um roedor de tamanho médio a grande, com cauda maior do que o corpo e patas posteriores sem membrana interdigital, diferentemente do *R. norvegicus*. Apresenta três formas de pelagem, sendo (a) preto no dorso, mais clara nos flancos e ainda mais no ventre; (b) castanho-acinzentada no dorso e branco-acinzentada no ventre, (c) castanho-escura; no dorso e o ventre branco puro (OLIVEIRA; BONVICINO, 2006; BONVICINO et al., 2008).



Figura 12 – Rato-de-telhado (*Rattus rattus*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Thrichomys laurentius* (Thomas, 1904) (Figura 13), também conhecido por punaré ou rabudo, possui tamanho médio a grande (115-450g) e o comprimento da cauda é ligeiramente menor que o do corpo, que pode estar ausente devido à facilidade com que se rompe. Pelagem macia com coloração do dorso cinza ou castanha e superfície ventral branca, com limite bem definido com as laterais do corpo, que são um pouco mais claras que o dorso. Possui anel de pêlos brancos ao redor dos olhos (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002; OLIVEIRA; BONVICINO, 2006; BONVICINO et al., 2008).



Figura 13 – Punaré ou rabudo (*Thrichomys laurentius*). Foto: Daniel Siqueira (2008).

O *Guerlinguetus alphonsei* (Thomas 1906) (Figura 14), também conhecido como esquilo, serelepe ou caxinguelê, possui tamanho médio, com massa corporal entre 225 e 240g, tem cauda longa e volumosa, maior do que o corpo, projetando-se sobre o perfil da cabeça, e orelhas grandes (MONTEIRO DA CRUZ et al., 2002; OLIVEIRA; BONVICINO, 2006; BONVICINO et al., 2008).



Figura 14 – Esquilo, serelepe ou caxinguelê (*Guerlinguetus alphonsei*). Foto: Daniel Siqueira (2008).



FICHA DE CAPTURA E PROCESSAMENTO I PROJETO *Didelphis*

DATA: ___/___/___.

. NOME COMUM: _____ NOME CIENTÍFICO: _____
 . LOCAL DE CAPTURA: _____ MARCAÇÃO: _____
 . ARMADILHA: () *Tomahawk* () *Sherman* CAPTURA: () chão () árvore: _____
 . IDADE ESTIMADA: () filhote () jovem () sub-adulto () adulto SEXO: () M () F

. COMPORTAMENTO ANTES DA ANESTESIA: _____

. EXAME FÍSICO E ODONTOLÓGICO: dentição: _____

. Condição Física: () obeso () boa () magro () caquexia

. PROTOCOLO ANESTÉSICO:

. Peso Estimado: _____ kg Dose Estimada: _____ / _____ mg/kg

_____ / _____ mg/kg

. Peso Real: _____ kg Dose Real: _____ / _____ mg/kg

_____ / _____ mg/kg

Hora	Fármaco	Tipo	Dose (mL)	Meio/Via	Sucesso Aplicação	Efeito (estágio)
1. Tipo: T – Tranquilizante I – Imobilizante S – Suplemento M – Manutenção O – Outros 2. Efeitos: 0 – Nenhum 1 – Ligeira Anestesia 2 – Moderada Anestesia 3 – Profunda Anestesia 4 – Excessiva/Profunda 5 – Óbito 3. Meio de Aplicação S – Seringa Z – Zarabatana /Dardo Via: IM / SC / IV 4. Sucesso Aplicação T - Total P - Parcial N - Nenhum						
Hora	FR	FC	T°	Comentários		

Início de Intervenção: _____ .

Final de Intervenção: _____

. Avaliação da anestesia: muito bom () bom () ruim () péssimo ()

. Comentários:

Anexo 5

PROCEDIMENTO TÉCNICO DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADO (MAT)

- a) Início das atividades laboratoriais a partir das 16:00 horas;
- b) Filtragem da diluição tampão do soro – *phosphate buffered saline* (PBS) – em *sartorius* com membrana de 0,22 μ m;
- c) Separação dos soros sanguíneos e homogeneização no agitador de tubos;
- d) Colocação do PBS e soro sanguíneo para a placa de microtitulação de fundo em “u”, como mostra o Quadro 1.

Quadro 1: Distribuição do PBS e do soro sanguíneo na placa de microtitulação de fundo em “u”

poço 1:25	192 μ L – PBS	8 μ L do soro sanguíneo
poço 1:50	100 μ L – PBS	100 μ L do poço 1:25
poço 1:500	180 μ L – PBS	20 μ L do poço 1:50
poço controle +/- *	192 μ L – PBS	8 μ L do soro sanguíneo

* Nos demais poços dos soros controle, coloca-se 100 μ L do PBS e vai repassando a diluição para cada poço seguinte, de forma a dobrar a diluição (1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800).

- e) Preparação da mistura do antígeno: 2,5mL da solução tampão do antígeno + 50 μ L do azul de Evans (2mg/mL) + 35 μ L de 2-mercaptoetanol + 120 μ L do antígeno conservado em formalina;
- f) Colocação de 25 μ L da mistura do antígeno numa segunda placa de microtitulação de fundo em “u”;
- g) Transferência de 25 μ L da diluição da primeira placa para cada poço subsequente da segunda placa;
- h) Vedação da segunda placa com fita transparente adesiva e colocação em um saco plástico fechado;
- i) Incubação em estufa a 37°C durante a noite;
- j) Leitura dos resultados no dia seguinte pela manhã.