

INVESTIGAÇÃO SOROLÓGICA DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira spp.* EM ROEDORES SILVESTRES E MARSUPIAIS DE UNIDADES DE CONSERVAÇÃO DA ILHA RASA, GUARAQUEÇABA, PARANÁ, BRASIL

Patricia Pereira SERAFINI^{1*}, Maria Luiza Leonardi GONÇALVES²,
Alexander BIONDO³ e Juliana QUADROS⁴

RESUMO

Áreas naturais consistem em importantes interfaces entre as populações silvestres e as populações humanas. A importância da leptospirose para a saúde pública e a carência de estudos relacionados à mesma em Unidades de Conservação, motivaram a realização desta investigação sorológica para anticorpos de *Leptospira spp.*, em populações de roedores silvestres e marsupiais na Ilha Rasa, Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba, no litoral do Paraná. Foram realizadas coletas mensais de amostras sanguíneas de mamíferos silvestres capturados em 74 armadilhas para captura viva no período de setembro de 2004 a julho de 2005. Constatou-se a ausência de animais sorologicamente reagentes para *Leptospira sp.*, sugerindo que marsupiais e roedores silvestres não desempenham papel importante na manutenção deste agente no ecossistema litorâneo estudado. Este estudo representou o primeiro passo em direção à compreensão do ciclo deste agente infeccioso e seu envolvimento com populações silvestres nativas da região insular litorânea e apresentou subsídios para a avaliação do *status* atual da saúde dos ecossistemas abordados, permitindo o monitoramento da efetividade da Unidade de Conservação, no sentido de manter saudáveis as populações silvestres.

Palavras-chave: *Marsupialia*, *Rodentia*, medicina da conservação.

**REPORT OF NATURAL INFECTION IN THE FIELD WOODPECKER
(*Colaptes campestris*) BY *Raillietina tetragona* IN THE MUNICIPALITY
OF AFONSO CLÁUDIO, ESPÍRITO SANTO STATE, BRAZIL**

ABSTRACT

Natural protected areas are an important interface between wildlife and human populations. Considering public health awareness of Leptospirosis and a shortage of epidemiological studies involving *Leptospira spp.* in natural areas, it was established a serological investigation study for *Leptospira spp.* antibodies on wild marsupial and rodents at Rasa island, located on the Environmental Protection Area of Guaraqueçaba, Paraná State coast, Brazil. Monthly, from September 2004 to July 2005, blood samples were surveyed after capturing these wild animal species on 74 live traps. None of the 25 samples tested positive to *Leptospira sp.*, suggesting that marsupials and wild rodents do not play an important role yet on the maintenance of this disease agent on the coastal ecosystem studied. This survey is a first step

¹ Médica Veterinária. MSc. Centro Nacional de Pesquisa e Conservação das Aves Silvestres – CEMAVE/ICMBio. Rod. Maurício Sirotski Sobrinho s/n, km 02, 88053-700. Florianópolis, SC – Brasil. *Autor para correspondência: patricia.serafini@icmbio.gov.br.

² Médica Veterinária, MSc. Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, SEAB. Rua Jaime Balão, 575, 80040-340- Curitiba, PR – Brasil. Graduada em Medicina Veterinária. marialuiza@seab.pr.gov.br

³ Médico Veterinário, PhD. Universidade Federal do Paraná. Rua dos Funcionários 1540, 80035-050. Curitiba, PR - Brasil. Graduado em Medicina Veterinária. abiondo@illinois.edu.

⁴ Bióloga, PhD. Universidade Tuiuti do Paraná, Rua Marcelino Champagnat 505, 80710-250 - Curitiba, PR - Brasil. Graduada em Ciências Biológicas. E-mail: juliana.quadros@utp.br

towards the comprehension of the disease cycle on this island and the role played by wild mammals on it at this site. Also presents subsidies for the evaluation of the ecosystem health *status*, thus allowing monitoring of the effectiveness of Natural Protected Areas in maintain wildlife health integrity.

Key-words: *Marsupialia*, *Rodentia*, conservation medicine.

INTRODUÇÃO

Tem sido descrito um número crescente de doenças cuja propagação pode estar relacionada com a interferência humana em ecossistemas e populações silvestres (ROMERO et al., 2003; SCHMALJOHN e HJELLE, 1997). A investigação dos fatores envolvidos nos agravos à saúde nestes locais de íntimo contato entre a população humana e o ambiente natural demanda abordagem coordenada, com a participação de epidemiologistas, veterinários, médicos, e biólogos. Neste contexto, é importante considerar doenças como a leptospirose, que possui importante potencial zoonótico e pode ser encontrada em quase todo o planeta, em diferentes ambientes (ROMERO et al., 2003). Contudo, um número reduzido de investigações tem sido conduzido em relação à prevalência desta doença em populações silvestres em diversas regiões do Brasil (GIRIO et al., 2004).

A leptospirose acomete animais domésticos, silvestres e o homem, provocando ou não a manifestação de sinais. Animais de muitas espécies domésticas, bem como a maioria das espécies silvestres, podem tornar-se portadores e contribuir para a disseminação do microrganismo na natureza. A eliminação da *Leptospira* pela urina dos portadores ocorre por períodos de tempo que podem variar de poucas semanas a vários meses, entre os animais domésticos, e por toda vida no caso dos roedores (WEBSTER et al., 1995). Águas superficiais contaminadas com *Leptospira interrogans*, eliminadas pela urina de ratos infectados, são a principal via de transmissão da enfermidade para o homem e para os animais. Contudo, o contato direto com tecidos e urina de animais infectados

caracteriza-se como outra via potencial de infecção (VADO-SOLIS et al., 2002). Portanto, os grupos socioeconômicos menos privilegiados, com dificuldade de acesso à educação e saúde, são os que apresentam maior risco de contrair a infecção (ANDRADE e BRANDÃO, 1987).

A infecção por *Leptospira* ocorre com frequência considerável em regiões tropicais e subtropicais, podendo apresentar dois quadros clínicos em humanos: anictérico ou benigno (entre 85 a 90% dos casos) e ictérico ou doença de Weil em 10 a 15% dos casos. O amplo espectro de sinais clínicos associados à doença pode dificultar seu diagnóstico, por ser confundida com outras doenças febris (VADO-SOLIS et al., 2002).

Considerando a importância desta doença para a saúde pública e a carência de estudos relacionados à mesma na fauna nativa do estado do Paraná, esta comunicação representa um primeiro passo em direção à compreensão do ciclo deste agente infeccioso e seu envolvimento com populações silvestres nativas da região litorânea, ao apresentar uma investigação sorológica para anticorpos de *Leptospira spp.* em populações de roedores silvestres e marsupiais na Ilha Rasa, município de Guaraqueçaba, litoral do Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

A ilha Rasa situa-se no setor noroeste da Baía das Laranjeiras, Paraná, Brasil e possui aproximadamente 7 km de comprimento, e largura máxima de 3 km, possuindo área total de 10,5 km² e encontra-se em uma altitude máxima de 40 m. Insere-se na

Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba e estende-se entre as coordenadas geográficas 25°15'S a 25°30'S e 48°20'W a 48°30'W (Figura 1).

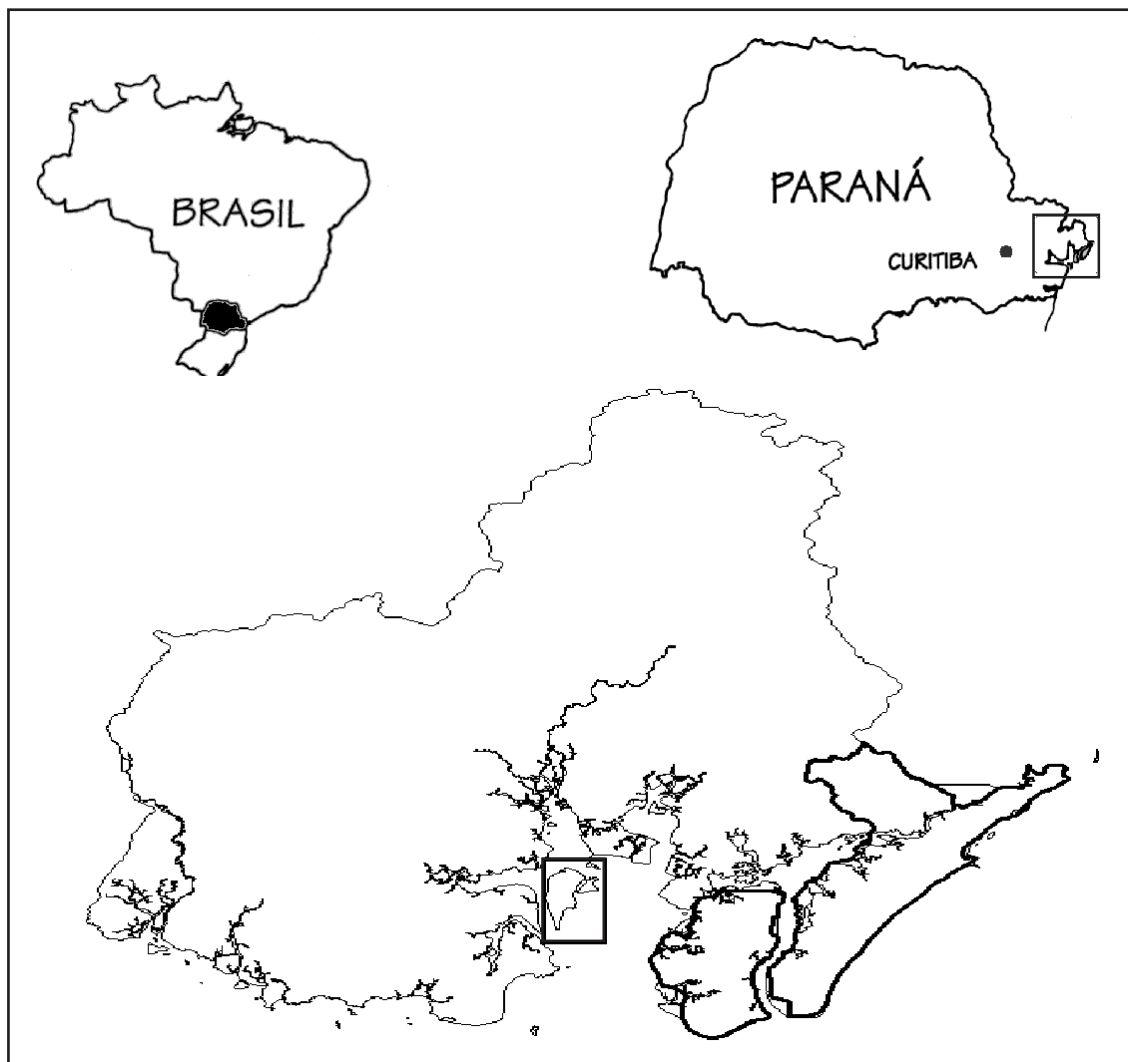


FIGURA 1 - Localizada no litoral do estado do Paraná, em Guaraqueçaba, a Ilha Rasa está em destaque no interior do quadrado menor. Fonte: laboratório de SIG – SPVS, 1999.

Na região avaliada, existem quatro comunidades humanas com cerca de 600 habitantes, que dispõem de abastecimento de água proveniente do continente, e a maioria das residências possui fossas sépticas (SPVS, 2003).

A problemática do lixo acumulado na ilha também vem sendo uma preocupação constante dos moradores. Além disso, existe a presença de população de galinhas e cães domésticos, criados em liberdade. Entretanto, animais domésticos de grande porte não são mantidos pelas

comunidades, que sobrevivem principalmente da pesca e extração de caranguejos (SPVS, 2003).

O relatório bi-anual 2001-2002 do projeto de Saúde Comunitária da Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental registrou doenças frequentes como: parasitoses, infecções respiratórias, infecções cutâneas e diarreia na população humana da ilha (SPVS, 2003). Contudo, nenhum estudo epidemiológico abordando especificamente o número de diagnósticos de leptospirose

na população humana ou de animais da ilha Rasa foi realizado anteriormente.

Sorologia de Anticorpos

De setembro de 2004 a julho de 2005 foram realizadas coletas de amostras de marsupiais e roedores silvestres por meio de 74 armadilhas para captura viva distribuídas em uma área de floresta ombrófila densa no interior da ilha Rasa. Estas armadilhas foram posicionadas em pontos a cada 30 metros ao longo de três transecções, por um período de três noites, mensalmente. As armadilhas foram iscadas com banana e laranja e revisadas para verificar a presença de animais capturados, sempre pela manhã. Ao constatar-se a presença de pequenos roedores e marsupiais nas armadilhas, foi realizada a contenção física dos animais e a coleta das amostras sanguíneas (cerca de 0,3 ml de sangue de cada espécime), obtida através de punção da veia caudal ou jugular, com seringa de 1 ml. Cada amostra de sangue colhida foi acondicionada em frasco plástico (tipo Ependorf) e mantida sob refrigeração (4°C) até seu processamento e análise no laboratório do Centro Diagnóstico Marcos Enrietti – CDME.

Os soros sanguíneos foram testados pela prova de soro aglutinação microscópica em placa (COLE et al., 1973), usando-se oito sorovares de *Leptospira sp.* vivas como antígeno. Entre os sorovares analisados constaram: *Bratislava* (cepa Jez-Bratislava), *Canicola* (cepa Hond Utrecht IV), *Grippotyphosa* (cepa Moskva V), *Copenhageni* (cepa M20), *Icterohaemorrhagiae* (cepa RGA), *Pomona* (cepa Pomona), *Hardjo* (cepa Hardjoprajitno) e *Wolffi* (cepa 3705). Estes sorovares foram mantidos em meio líquido de Ellinghausen, incubados à temperatura de 28 a 30°C e transferidos semanalmente em repiques.

Para as provas sorológicas foram utilizados antígenos com 7 a 12 dias de crescimento, contendo uma densidade de

100 a 200 leptospiros por campo e previamente observados quanto à ausência de auto-aglutinação e contaminantes.

As amostras de soro obtidas dos animais em seu ambiente natural foram, inicialmente, diluídas a 1:50 em solução salina tamponada fosfatada (pH 7,4 a 7,5). Os soros foram então distribuídos a um volume de 50µl por cavidade em microplaca e adicionados a igual quantidade dos antígenos (diluição final 1:100).

Após 2 horas de incubação à temperatura de 30°C, foi procedida a leitura utilizando-se microscópio equipado com campo escuro (aumento de 100x). Os soros positivos nesta diluição seriam progressivamente diluídos à razão de dois até 1:12800, para verificação do título final, considerando-se como ponto final de reação a mais alta diluição de soro capaz de aglutinar 50% ou mais de leptospiros em relação ao controle.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia adotada para a captura, contenção e colheita de material biológico de animais silvestres permitiram a amostragem de um total de 25 espécimes que tiveram suas amostras sorológicas analisadas. Dentre estes espécimes, 23 incluíram roedores silvestres pertencentes à subfamília *Sigmodontinae* (*Akodon sp.*, *Nectomys squamipes* e exemplares não identificados) e dois gambás-de-orelha-preta, *Didelphis aurita*, da família *Didelphidae*.

Apesar de ser considerada importante doença com potencial zoonótico encontrada em quase todo o planeta, em diferentes ambientes (ROMERO et al., 2003), com o presente trabalho, revelou-se a ausência de animais sorologicamente reagentes para *Leptospira sp.*, sugerindo que marsupiais e roedores silvestres podem não desempenhar papel importante na manutenção deste agente no ecossistema litorâneo estudado. Outros autores relataram a presença da *Leptospira* em animais silvestres em outras

regiões do território brasileiro (GIRIO et al., 2004), contrastando com os resultados aqui apresentados.

A prova de soroaaglutinação microscópica foi a técnica de referência utilizada neste estudo, pois é indicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para detecção de anticorpos específicos contra as leptospirosas. Cada sorovar utilizado neste estudo possui seus hospedeiros preferenciais, porém uma espécie animal pode albergar um ou mais sorovares.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leptospirose é uma enfermidade ainda pouco estudada nas espécies nativas da fauna silvestre brasileira, deixando uma lacuna no conhecimento das implicações da cadeia epidemiológica do agente nesses animais. Esta lacuna dificulta a elaboração de planos estratégicos de prevenção da doença em regiões em que a população humana convive diretamente com florestas, que apresentam uma grande densidade de animais silvestres e ambientes de alta umidade, repletos de rios e áreas alagadas. O desconhecimento das condições dos meios de transmissão e da real contribuição dessa população na contaminação de humanos e animais domésticos constitui-se em fator preocupante e leva-nos à necessidade de implementar estudos epidemiológicos, que determinem o status desta doença e proporcionem melhor compreensão sobre seu papel nestas localidades.

Agradecimentos

Ao apoio financeiro e logístico da SPVS – Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental, de conservação e educação ambiental na ilha Rasa e na Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba (Unidade de Conservação Federal). Ao Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti, vinculado à Secretaria da Agricultu-

ra e do Abastecimento do Paraná – SEAB. Especialmente à Elenise Angeloti Sipinski e Regina Pfifner.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, J.; BRANDÃO, A. Contribuição ao conhecimento da epidemiologia da leptospirose humana, com especial referência ao Grande Rio, Brasil, no período de 1970 a 1982). **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 1, p. 91-100, 1987.

COLE, Jr.; SULGER, C.R.; PURSSEL, A.R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Applied Microbiology*, London: **The Society for Applied Microbiology**, v. 25, n. 6, p. 976-980, 1973.

GIRIO, R.J.S.; PEREIRA, F.L.G.; MARCHIORI-FILHO, M. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil. Utilização da técnica de imunohistoquímica para detecção do agente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p.165-169, 2004.

ROMERO, E.C.; BERNARDO, C.C.M.B.; YASUDA, P.H. Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 245-248, 2003.

SCHMALJOHN, C.; HJELLE, B. Hantavirus: a global disease problem. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 3, p. 95-104, 1997.

SPVS - Sociedade de Pesquisa em Vida Selvagem e Educação Ambiental. Relatório Bianual – 2001 e 2002. **Projeto saúde comunitária, Educação e Conservação para a região de Guaraqueçaba**, Paraná, Brasil. 2003. 250p.

VADO-SOLÍS, I.; CÁRDENAS-MARRUFO, M.F.; ALZINA-LÓPEZ, A. et al. Clinical-epidemiological study of leptospirosis in humans and reservoirs in Yucatán, México. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 44, n. 6, p. 335-340, 2002.

WEBSTER, J.P.; ELLIS, W.A.; MACDONALD, D.W. Prevalence of *Leptospira* spp. in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. **Epidemiology & Infection**, Cambridge, v. 114, n. 1, p. 195-201, 1995.