

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**ANTICORPOS PARA *Leptospira* spp. EM MAMÍFEROS
SILVESTRES DO MUNICÍPIO DE MONTE MOR, ESTADO DE
SÃO PAULO.**

ANDRÉ ANTONIO CUTOLO

Botucatu – SP

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**ANTICORPOS PARA *Leptospira* spp. EM MAMÍFEROS
SILVESTRES DO MUNICÍPIO DE MONTE MOR, ESTADO DE
SÃO PAULO.**

ANDRÉ ANTONIO CUTOLO

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em Animais
Selvagens para a obtenção do título de
Mestre.

Orientador: Prof. Dr Carlos Roberto Teixeira

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Cutolo, Andre Antonio.

Anticorpos para *Leptospira* spp. em mamíferos silvestres
do município de Monte Mor, estado de São Paulo / Andre Antonio
Cutolo. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia

Orientador: Carlos Roberto Teixeira

Capes: 50500007

1. Gambá. 2. Leptospirose. 3. Campinas, Região
Metropolitana de (SP). 4. Reservatórios. 5. Sorologia.

Palavras-chave: Gambá; Leptospirose; Região Metropolitana de
Campinas; Reservatório ; Sorologia.

Nome do autor: **André Antonio Cutolo**

TÍTULO: ANTICORPOS PARA *Leptospira* spp. EM MAMÍFEROS SILVESTRES DO MUNICÍPIO DE MONTE MOR, ESTADO DE SÃO PAULO.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Roberto Teixeira

Presidente e Orientador

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Prof. Dr. Felipe Fornazari

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Caio Henrique Paganini Burini

Médico Veterinário Autônomo

Data da Defesa: 1 de Novembro de 2019

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, à qual deixo meus agradecimentos.

Agradeço ao Prof. Dr. Carlos Roberto Teixeira por me aceitar como seu orientado, por abrir as portas do Cempas e por todo suporte neste período desafiador de minha vida.

Obrigado à coordenadora do curso de Pós-graduação em Animais Selvagens, Professora Dra. Sheila Canavese Rahal, por todo suporte, paciência e compreensão nestes últimos meses.

Sou grato ao médico veterinário Guido Gomes Wanderley, co-autor deste trabalho, pelo auxílio direto nas análises sorológicas dos animais avaliados.

Obrigado ao Professor Dr. Helio Langoni pela parceria neste trabalho, que concilia saúde animal, saúde humana e conservação da biodiversidade. Seu trabalho como mestre e pesquisador sempre foi motivo de inspiração em minha vida e certamente contribuiu e ainda contribui muito para que a ciência seja parte integral de quem sou hoje.

Obrigado aos técnicos do Serviço de Controle de Zoonoses da Prefeitura de Monte Mor, instituição a qual prestei serviços de 2006 a 2013 como médico veterinário, e que auxiliaram diretamente na captura, contenção, exame clínico, transporte e devolução a natureza dos animais avaliados neste estudo, em especial ao Paulo Milani Júnior e a Anna Karollina Menezes Teodoro.

Obrigado aos residentes, estagiários e pós-graduandos do Cempas por todo suporte que me deram quando necessário, em especial aos médicos veterinários Luna Scarpari Rolim e Raphael Augusto Baldissera Gonçalves.

Obrigado a minha esposa, Patrícia de Castro Mendes, pela compreensão por minhas ausências para realização do mestrado.

Obrigado ao meu pai Sergio Cutolo (in memorian) e minha mãe Marlene Aparecida Antonio Cutolo. Sou junto de meus irmãos vosso nome, sangue e legado. Que eu seja digno da vida que vocês me deram e possa construir uma história de vida que lhes traga orgulho e alegria.

Obrigado a todos professores que tive a honra e privilégio de encontrar neste caminho da vida, que foram exemplos de altruísmo e respeito ao próximo, que me ensinaram a estudar e a aprender, ensinaram o valor do conhecimento, e que o conhecimento é libertador. Sem vocês eu nada seria.

Obrigado em especial aos animais, nossos irmãos menores, pela oportunidade do aprendizado. Nestes tempos de perdas irreparáveis à biodiversidade do nosso planeta, nós da espécie humana, temos que aplicar com urgência a ciência da conservação para a preservação e recuperação das populações de animais selvagens. Precisamos deste aprendizado e de mobilização da sociedade para atingirmos este nobre objetivo. Obrigado por permitir que cuidando de vocês salvemos a nós mesmos !

Dedicatória

Dedico este trabalho à pequena Isabella.

Nosso abençoado pacotinho de alegria e esperança que chegou no meio desta jornada.

Sumário

LISTA DE TABELAS	I
LISTA DE FIGURAS	II
Resumo	III
Abstract	IV
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DA LITERATURA	4
Etiologia	4
Epidemiologia	4
Leptospirose Humana	7
Leptospirose em Animais Domésticos	8
Leptospirose em Animais Selvagens	10
OBJETIVO GERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
MATERIAL E MÉTODOS	12
Características do município de estudo	12
Obtenção das amostras de sangue	15
Processamento laboratorial	15
Análise estatística	20
RESULTADOS	21
DISCUSSÃO	29
CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS	42
TRABALHO CIENTÍFICO	52

Lista de Tabelas

Tabela 1. Resultados das análises sorológicas de anticorpos para <i>Leptospira</i> (MAT) de mamíferos silvestres coletados em área antrópica de Monte Mor conforme espécie, sorovar testado, estação do ano, data da coleta, sexo e idade. Monte Mor, SP, Brasil.....	23
Tabela 2. Frequência absoluta de animais reagentes e não reagentes ao MAT e prevalência de sororeagentes em mamíferos silvestres de área antrópica de Monte Mor, São Paulo, Brasil	25
Tabela 3. Sorovares, número de animais positivos e títulos de anticorpos detectados por soroaglutinação microscópica (MAT) em soros de mamíferos silvestres de Monte Mor, SP, Brasil.....	26
Tabela 4. Espécies (genomoespécies), sorogrupos e sorovares dominantes, número de animais reagentes e títulos de anticorpos detectados por soroaglutinação microscópica (MAT) de mamíferos silvestres de área antrópica do município de Monte Mor, SP, Brasil.....	27
Tabela 5. Prevalência de <i>Didelphis albiventris</i> reagentes para anticorpos para <i>Leptospira</i> conforme sexo, estação do ano e idade dos animais avaliados oriundos de área antrópica do município de Monte Mor, São Paulo, Brasil.....	28

Lista de Figuras

Figura 1. Cobertura vegetal e hidrografia do município de Monte Mor, SP	14
Figura 2. <i>Didelphis albiventris</i> em residência de área urbana antes da captura.....	16
Figura 3. <i>Sphiggurus villosus</i> em residência em área urbana antes da captura.....	16
Figura 4. <i>D. albiventris</i> contido em interior de residência em área urbana.....	17
Figura 5. <i>S. villosus</i> capturado em quintal de residência em área urbana.....	17
Figura 6. Coleta de sangue da veia caudal em <i>D. albiventris</i>	18
Figura 7. Coleta de sangue por punção intra-cardíaca em <i>S. villosus</i>	18

CUTOLO, A.A. Anticorpos para *Leptospira* spp. em mamíferos silvestres do município de Monte Mor, estado de São Paulo. Botucatu, 2019. 65p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens – Clínica, Conservação e Preservação) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A leptospirose é uma zoonose potencialmente fatal causada por bactérias do gênero *Leptospira*. Espécies animais hospedeiras adaptadas a sorovares específicos podem ser portadoras e dispersoras ambientais da bactéria. De 2009 a 2011, 45 mamíferos silvestres (39 gambás *Didelphis albiventris*, quatro ouriços *Sphiggurus villosus*, um rato-do-banhado *Myocastor coypus* e uma capivara *Hidrochoerus hidrochaeris*) encontrados por munícipes em áreas antrópicas de Monte Mor, SP, foram capturados, contidos e tiveram amostras de soro coletadas para detecção de anticorpos para *Leptospira*. As amostras foram tituladas pela técnica de soroaglutinação microscópica (MAT) para diferentes sorogrupos. Um total de 35,56% (16/45) animais foram reagentes para presença de anticorpos para *Leptospira* para um total de 11 sorogrupos diferentes. O sorovar dominante mais frequente, dentre os 12 identificados, foi o Icterohaemorrhagiae (6/16), seguido de Gryppotyphosa (4/16) e Pyrogenes (2/16). *Didelphis albiventris*, espécie mais abundante no estudo, apresentou uma prevalência de 35,9% (14/39) de anticorpos para *Leptospira*, enquanto *S. villosus* teve 0% (0/4) e *M. coypus* (1/1) e *H. hidrochaeris* (1/1) 100%. Dentre os *Didelphis albiventris* avaliados, houve maior frequência de reatividade sorológica à *Leptospira interrogans*, sorogrupos Icterohaemorrhagiae, com 35,71% (5/14) e Gryppotyphosa com 28,57% (4/14), indicando contaminação ambiental por tais leptospiros e a possibilidade de exposição e infecção de humanos e animais domésticos para tais bactérias na área estudada.

Palavras-chave: Leptospirose; Gambá; Sorologia; Reservatório, Região Metropolitana de Campinas.

CUTOLO, A.A. *Leptospira* spp. antibodies in wild mammals of Monte Mor municipality, São Paulo state, Brazil. Botucatu, 2019. 65p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens – Clínica, Conservação e Preservação) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Leptospirosis is a potentially fatal zoonosis caused by *Leptospira* bacteria. Some animal host species are adapted to specific serovars being potential carriers and environmental dispersers. From 2009 to 2011, 45 wild mammals (39 opossums *Didelphis albiventris*, four porcupines *Sphiggurus villosus*, one coypu *Myocastor coypus* and one capybara *Hydrochoerus hydrochaeris*) found by citizens in anthropic areas of Monte Mor municipality were captured, contained and had sera samples collected for *Leptospira* antibody detection. The samples were titrated by the microagglutination technique (MAT) for different serogroups. A total of 35.56% (16/45) animals were reactive for *Leptospira* antibodies for 11 different serogroups. The most frequent serovar, among the 12 identified, was Icterohaemorrhagiae (6/16), followed by Gryppotyphosa (4/16) and Pyrogenes (2/16). *Didelphis albiventris*, the most abundant species in the study, had a prevalence of 35.9% (14/39) for *Leptospira* antibodies, while *S. villosus* had 0% (0/4), *M. coypus* (1/1) and *H. hydrochaeris* (1/1) 100%. Among the seropositive *D. albiventris*, 35.71% (5/14) and 28.57% (4/14) seroreacted for *Leptospira interrogans* species, serogroups Icterohaemorrhagiae and Gryppotyphosa respectively, indicating environmental contamination by these bacteria and the possibility of exposure and infection of humans and domestic animals in the studied area.

Key words: Leptospirosis; Opossum; Serology; Reservoir; Campinas metropolitan region

INTRODUÇÃO

Atualmente a população mundial humana ultrapassa 7 bilhões de habitantes. Uma demanda crescente por recursos naturais para suprir necessidades básicas de água, alimento, moradia, transporte e lazer da espécie *Homo sapiens* tem cada vez mais impactado negativamente no equilíbrio ambiental do planeta Terra (HARARI, 2015).

Mudanças climáticas causadas pelo crescente aumento na emissão de carbono para a atmosfera; as perdas aceleradas de biodiversidade levando a um número exponencial e inédito de extinções recentes; a acidificação dos oceanos; a poluição ambiental como o excesso de deposição de compostos nitrogenados sintéticos no ambiente, a produção e deposição ambiental de substâncias tóxicas como plásticos de difícil degradação natural, a poluição atmosférica com emissão de aerossóis de poeira e fuligem, de gases como o clorofluorcarbono que danifica a camada de ozônio atmosférica, são efeitos diretos da ocupação da Terra e do uso dos recursos naturais de nosso planeta pela humanidade, que coloca em risco a homeostase da biosfera e, conseqüentemente, o futuro da própria espécie humana, parte integrante da mesma (LYNAS, 2012).

O aquecimento global é ameaça real para a biodiversidade do planeta, tanto para a sobrevivência de espécies animais (FORTINI et al., 2015) como vegetais no longo termo (JOLY et al., 2014). Muitas populações selvagens de vertebrados e invertebrados vêm sendo extirpadas do planeta, ocorrendo extinções em massa e em velocidade altíssima, apesar dos esforços de diferentes instituições e entidades preservacionistas (BUTCHART et al., 2010).

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades do planeta, já que possui em seu extenso território diferentes ecossistemas e biomas, como o cerrado e a mata atlântica, que estão sob elevada pressão antrópica, com considerável e progressiva redução de tamanho em suas áreas de cobertura original (BRASIL, 2019). A mata atlântica brasileira, considerada a mais antiga e mais biodiversa floresta da América do Sul, possui hoje aproximadamente 7,6% de sua cobertura vegetal original, quando comparado ao período pré-descobrimento (JOLY et al., 2014).

As populações de animais selvagens em seus ecossistemas nativos enfrentam um desafio crescente para sua sobrevivência a curto, médio e longo prazo. A diminuição e fragmentação dos habitats naturais causa diferentes impactos nos ecossistemas como a redução de área propícia a vida, redução da oferta de alimento, abrigo e locais de nidificação, isolamento de populações levando a redução da variabilidade genética e seus efeitos adversos como a maior susceptibilidade às enfermidades genéticas, infecciosas, parasitárias, toxicológicas, naturais, com potencial impacto em sua fertilidade e sobrevivência como espécie (DENNER e YOUNG, 2013).

A medicina da conservação tem como papel atuar na compreensão dos fenômenos, que afetam a sanidade das populações animais selvagens visando a manutenção destas saudáveis e passíveis de perpetuação *per se* no longo prazo, em seu meio natural nativo (DENNER e YOUNG, 2013; CUBAS et al. 2014).

Assim a busca por informações biológicas junto às populações selvagens e a capacitação de recursos humanos para o manejo desses animais é de valor imenso, possibilitando melhor compreensão e divulgação da situação sanitária que possuem, permitindo ações visando à recuperação potencial de populações, acarretando na proteção e manutenção do patrimônio natural faunístico brasileiro e mundial (CUBAS et al., 2014).

A fauna selvagem está presente no meio antrópico e as matas ciliares de cursos d'água formam corredores naturais para o deslocamento de animais selvagens (CORBO et al., 2012). Pequenas áreas verdes como praças e pomares, são capazes de manter populações de pequenos vertebrados que acabam por interagir direta ou indiretamente com o ser humano e seus animais domésticos e, conseqüentemente, podem servir como elo epidemiológico entre o ambiente antrópico com o meio selvagem mais preservado, quando transitam de um meio mais alterado para um menos influenciado pelo homem (CUTOLO et al., 2014b). Assim existe um sistema dinâmico de interação entre diferentes espécies vertebradas e invertebradas, que circulam em diferentes paisagens possibilitando o trânsito de microrganismos potencialmente patogênicos (TEODORO et al., 2019).

Tem-se como exemplo real e contemporâneo o surto zoonótico generalizado de febre-amarela ocorrido no Brasil desde meados de 2016 até a

atualidade. A doença é uma arbovirose causada por um *Flavivirus* originalmente restrito ao ambiente silvestre sendo transmitido por mosquitos culicídeos a macacos, passando a atingir seres humanos visitantes de áreas silvestres ou rurais, com risco potencial de atingir o ambiente urbano e iniciar epidemias nas cidades onde o vetor *Aedes aegypti* pode servir como principal transmissor. Além disso, vem dizimando populações inteiras de macacos selvagens, especialmente bugios, como os dos parques públicos da cidade de São Paulo (FIORAVANTI, 2018; CUNHA et al., 2019)

A vigilância de enfermidades parasitárias e infecciosas em animais selvagens que habitam ou visitam áreas antrópicas é importante uma vez que permite conhecer o risco sanitário para as próprias espécies selvagens, além do papel indicador do nível de contaminação ambiental que podem apresentar para determinados patógenos, como para as bactérias do gênero *Leptospira*, servir como sentinelas sorológicas para o risco de infecção humana e de animais domésticos de companhia e/ou pecuário (WHO, 2003).

REVISÃO DA LITERATURA

Etiologia

Leptospiras são bactérias espiroquetas aeróbias obrigatórias, que possuem aproximadamente 0,1µm de diâmetro e 6 a 20 µm de comprimento, podendo ser saprófitas ou patogênicas, pertencendo ao gênero *Leptospira*, família Leptospiracea e ordem Spirochaetales (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Atualmente existem ao redor de 20 espécies de *Leptospira*. Nove consideradas patogênicas (*L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. kmetyi*, *L. borgpetersenii*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* e *L. weilii*), seis consideradas intermediárias (*L. wolffii*, *L. inadai*, *L. fainei*, *L. licherasiae* e *L. broomii*) e seis consideradas apatogênicas ou saprófitas (*L. terpstrae*, *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*), incluindo mais de 300 sorovares, agrupados em aproximadamente 20 sorogrupos (PICARDEAU, 2013)

A classificação das mesmas em sorovares se dá por características fenotípicas das bactérias, por meio da expressão de epítomos expostos na superfície da membrana externa da célula bacteriana, na forma de um mosaico de antígenos lipopolissacarídeos (LPS), sendo a composição dos mesmos variada em função dos açúcares que os compõem e na configuração dos mesmos. Espécies patogênicas são agentes etiológicos da leptospirose no ser humano e animais vertebrados (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Epidemiologia

A leptospirose é uma doença sistêmica, de humanos e animais, sendo assim uma zoonose. Tem distribuição mundial e a maioria dos casos humanos está localizada em áreas tropicais e mais pobres do planeta (PICARDEAU, 2013; BRASIL, 2014).

A leptospirose é uma zoonose de elevada incidência no Brasil, com uma média de 13.000 casos suspeitos notificados por ano, sendo 3500 confirmados e letalidade média de 10,8% entre os casos confirmados. Atinge, em sua maioria, pessoas na faixa etária produtiva, dos 20 aos 49 anos. A

média de internações de pacientes chega a 75 %, mostrando a gravidade da maioria dos casos detectados pelo sistema de vigilância (BRASIL, 2014).

No Brasil, a doença ocorre em todo o território nacional, durante todos os meses do ano, principalmente nos meses chuvosos, favorecendo a ocorrência de surtos. Em áreas urbanas, principalmente nas capitais e regiões metropolitanas, apresenta uma maior prevalência da doença, devido as altas aglomerações populacionais de baixa renda, que vivem à beira de córregos, em locais com infra-estrutura sanitária precária, sujeitas à enchentes e com infestações de roedores, que são fatores que predispõem ao aparecimento de pacientes com leptospirose (ARAÚJO, 2011; BRASIL, 2014).

A doença tem diferentes características epidemiológicas, podendo ser endêmica durante todo o ano com um coeficiente médio de incidência de 1,9/100.000 casos; aparecer como surtos localizados associados à enchentes em comunidades pobres, surtos em populações rurais, especialmente em plantadores de arroz e associada a desastres naturais com inundações em grande escala (LEVETT, 2001), como ocorrido no Acre em 2006 e Santa Catarina em 2009, com mais de 400 casos humanos diagnosticados em cada evento (BRASIL, 2014).

A doença pode ter caráter ocupacional mais marcante em países desenvolvidos ocorrendo em agricultores e pecuaristas (ordenhadores e criadores de suínos), veterinários de abatedouro (LEVETT, 2001; ADLER e MOCTEZUMA, 2010), trabalhadores com contato direto com redes de esgoto, mineração, caçadores, pessoal envolvido com atividades de corte de árvores, controle de roedores, piscicultura, armazéns e portos, além de soldados em atividades de campo, também teriam maior risco de apresentarem leptospirose. Pessoas expostas a atividades esportivas e de lazer associadas ao meio aquático ao ar livre e em áreas naturais também estão mais predispostas ao risco de infecção por *Leptospira* (LEVETT, 2001; WASINSKI e DUTKIEWICZ, 2013).

No estado de São Paulo de 1986 a 2016 foram diagnosticados 21.314 casos humanos de leptospirose, com registro de 2577 óbitos e uma taxa de letalidade de 12,09% para o período (CVE, 2017).

O sorogrupo de *Leptospira* mais importante associado aos casos humanos de leptospirose é o *Icterohaemorrhagiae*, correspondendo a mais de

50% dos mais de 9 mil casos diagnosticados por sorologia pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo de 1969 a 1997 (ROMERO et al., 2003).

Parte dos casos diagnosticados para o território paulista foram oriundos da região metropolitana de Campinas, que inclui o município de Monte Mor - local alvo do presente estudo - e outros 41 municípios paulistas. No estado de São Paulo contabilizou-se no período de 1998 a 2016, dentre um total de 4.325.343 habitantes, 1766 casos humanos diagnosticados de leptospirose. Considerando-se o período de 2007 a 2016 foram 1010 casos diagnosticados da enfermidade e 78 óbitos, havendo uma taxa de letalidade de 7,02% (CVE, 2019).

Com relação ao município de Monte Mor, quatro casos humanos foram diagnosticados nos últimos 10 anos (SINAN, 2019). A circulação de leptospiras no município também foi constatada pela identificação de anticorpos para *Leptospira* em população de equídeos no ano de 2011, quando uma ação de avaliação sanitária realizada pelo Serviço de Controle de Zoonoses do município foi realizada (CUTOLO et al., 2014a).

Observou-se que de 61 equinos avaliados, 24 foram reagentes para anticorpos para *Leptospira* com uma prevalência de exposição de 39,34%. Destes, 11 (45,83%) animais tiveram títulos mais altos reagentes para o sorogrupo Icterohaemorrhagiae, mostrando a importância do contato destes hospedeiros direta ou indiretamente com urina de roedores. O sorogrupo predominante, o contato próximo compartilhando espaços comuns e o manejo frequente de equinos pelos seus proprietários mostra o potencial risco da população humana local para a leptospirose grave, mostrando o papel sentinela dos equinos da área para a contaminação ambiental para leptospiras (CUTOLO et al., dados não publicados).

A infecção humana se dá principalmente pelo contato de mucosas ou pele ferida com a urina contaminada de hospedeiros infectados, roedores em especial o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*), de maneira direta ou indireta com água ou solo úmido (BRASIL, 2014). Transmissões inter-humanas são raras e sem risco epidemiológico (BRASIL, 2014). Alguns autores reportam a transmissão experimental por carrapatos e identificação de *Leptospira* em carrapatos de vida livre, acreditando assim que o papel vetorial de carrapatos na transmissão de *Leptospira* deveria ser melhor investigado

(WASINSKI e DUTKIEWICZ, 2013). Outros invertebrados como baratas podem ter algum papel na epidemiologia da leptospirose, uma vez que já se isolou e se caracterizou leptospiras oriundas destes insetos (GONZALLES-ASTUDILLO et al., 2016). Em vertebrados, transmissão vertical, oral via predação ou sexual também podem ocorrer (LEVETT, 2001).

Animais domésticos e selvagens são acometidos, muitas vezes em infecções sub-clínicas e de caráter crônico, sendo mais susceptíveis bovinos e suínos dentre as espécies de importância econômica apresentando problemas reprodutivos como abortos, e cães que podem apresentar sintomas clínicos similares ao homem, incluindo morte (WHO, 2003).

Animais podem ser portadores assintomáticos da bactéria, especialmente se infectados por sorovares aos quais são mais adaptados (Hardjo em bovinos; Bratislava em equinos e suínos; Australis e Pomona, em suínos; Canicola em cães e Icterohaemorrhagiae em ratos), eliminando-a no ambiente por meses a anos (LEVETT, 2001). A infecção ocasional por sorovares outros que não os que as espécies hospedeiras estão adaptadas podem levar à doença aguda e mortalidade (LEVETT, 2001; ADLER, 2015).

Leptospirose Humana

Para a afecção em humanos os ratos de esgoto (*Rattus norvegicus*) são considerados os principais reservatórios de *Leptospira interrogans* (IDO, 1916), sendo suínos, bovinos, equinos, ovinos e cães reservatórios secundários (BRASIL, 2014).

No humano é uma doença infecciosa febril de início abrupto, cujo espectro clínico pode variar desde quadros oligossintomáticos, leves e de evolução benigna a formas graves. A síndrome de Weil, comumente descrita como icterícia, insuficiência renal e hemorragias, é a manifestação clássica de leptospirose grave. No entanto, a síndrome de hemorragia pulmonar vem sendo reconhecida como uma forma grave e emergente da doença. A letalidade de formas graves de leptospirose é de aproximadamente 10% e chega a 50% quando ocorre a síndrome de hemorragia pulmonar (BRASIL, 2014). O sorogrupo Icterohaemorrhagiae tem sido relatado em algumas

situações como o mais prevalente em infecções humanas no Brasil (ROMERO et al., 2003; FELZEMBURGH et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2017).

Leptospirose em Animais Domésticos

No cão a infecção pode ser assintomática, sendo o sorovar Canicola mantido exclusivamente por cães (PINTO et al., 2017). Quadros sintomáticos são semelhantes aos do humano, podendo haver formas anictérica e ictérica da doença, sendo esta última mais grave, normalmente associada aos sorovares Icterohaemorrhagiae e Pomona (ADLER, 2015). O gato doméstico bem como felídeos selvagens são considerados resistentes a infecção por *Leptospira* (ADLER, 2015).

Em bovinos o sorovar mais comum é o Hardjo, sendo *Leptospira borgpetersenii* sorovar Hardjo (Hardjobovis) e *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) comumente identificadas nestes animais (MOCTEZUMA et al, 1999). Ambos sorovares da bactéria são capazes de colonizar e persistir no trato genital tanto de vacas como touros, sugerindo-os como hospedeiros de manutenção e que a transmissão venérea seja importante na epidemiologia da doença nesta espécie (ADLER, 2015).

Normalmente rebanhos com animais infectados cronicamente não apresentam sintomas clínicos, porém aborto, natimortos, partos prematuros, nascimento de neonatos fracos, retenção de placenta, são prejuízos econômicos eventualmente encontrados. Sintomas severos podem ocorrer com infecções por sorovares Pomona, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa, como febre, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia, e ocasionalmente meningite e morte. Em vacas lactantes pequena quantidade de sangue no leite é característica da doença. Em búfalos domésticos as características da doença parecem ser semelhantes a bovinos (ADLER, 2015).

Em camelídeos foram registradas altas soroprevalências em lhamas, alpacas, vicunhas, porém baixa prevalência em guanacos. Dromedários do norte da África e península arábica possuem baixa prevalência sorológica, porém no Rajastão, Índia, tais valores podem chegar a 50%. O principal problema encontrado neste grupo de ruminantes é o aborto (ADLER, 2015). Interessante notar que mesmo em hospedeiros que habitam áreas

desérticas se registra infecção por *Leptospira*, talvez influa na epidemiologia das infecções o manejo doméstico pelo homem, fato que não ocorre por exemplo com os guanacos, exclusivamente selvagens (ADLER, 2015)

Ovinos e caprinos possuem baixos valores de soroprevalência quando comparados a bovinos e suínos (WHO, 2003). Em ambas espécies o aborto pode estar associado a infecção por *Leptospira*. Em ovinos o sorovar Hardjo também pode permanecer de forma crônica e sub-clínica em animais infectados, com eventual ocorrência de abortos, podendo haver bactérias presentes de forma permanente no aparelho genital de ovelhas e eliminadas no sêmen de carneiros. Pomona, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae são citadas por causarem doença clínica em infecções incidentais em ambas espécies enquanto Australis e Copenhageni foram reportadas em ovinos (ADLER, 2015; SILVA et al., 2012).

Em suínos três sorogrupos são importantes e mais frequentemente relacionados a infecções por *Leptospira*: Pomona, Tarassovi e Australis, sendo infecções agudas mais associadas a Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa e Canicola (ADLER, 2015). Pinto et al. (2017), em artigo de revisão sobre prevalência de sorogrupos em estudos realizados na América Latina encontraram Pomona e Icterohaemorrhagiae como os mais frequentes nesta espécie.

Com relação a infecção por Pomona, em granjas onde a doença é endêmica, normalmente não se identifica sinais clínicos e o principal achado se dá na porca prenha infectada com ocorrência de aborto, natimorto, nascimento de leitões fracos ou doentes. Animais recém infectados podem eliminar *Leptospira* na urina por períodos maiores que um ano da primo-infecção. Quanto ao sorogrupo Australis, o sorovar Bratislava é o mais prevalente, especialmente nos Estados Unidos e Europa. Suínos eliminam pouca bactéria na urina. É importante ressaltar que suínos criados de forma intensiva normalmente tem poucos indivíduos com títulos sorológicos altos e que isso se daria provavelmente pelo fato da infecção ser principalmente venérea, enquanto suínos criados extensivamente teriam títulos mais altos, pela provável associação com a infecção pelo contato com a urina de roedores infectados por este sorotipo (ADLER, 2015).

Em equinos é característico o aparecimento de uveíte crônica associada a infecção por *Leptospira*, que ocorre de dois a oito meses após a primo-infecção, e em alguns casos pode levar à cegueira. Pomona (sorovar Kennewicki) e sorogrupos Grippotyphosa além de Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Sejroe, Canicola, e Ballum estão associados a este quadro (VERMA et al., 2013). Estudos em asininos são raros, porém acredita-se que o quadro epidemiológico seja semelhante ao de equinos (ADLER, 2015).

Leptospirose em Animais Selvagens

Em primatas cativos surtos de leptospirose são graves, com letalidade em primatas do neotrópico como macacos-prego (SZONYI et al., 2011), macacos-de-cheiro, saguis e micos-leões (ADLER, 2015), bem como de primatas do velho mundo como chimpanzés (MINETTE, 1990). Em primatas de cativeiro o diagnóstico de infecção por *Leptospira* do sorovar Icterhaemorrhagiae mostra o contato com urina de roedores como fonte de infecção principal (MINETTE, 1990; SZONYI et al., 2011).

A leptospirose é considerada uma das principais causas de encalhe e mortalidade em pinípedes marinhos, como leões marinhos da Califórnia, causada principalmente pelo sorovar Pomona (NORMAN et al., 2008), lobo marinho do norte, elefante marinho e focas comuns (LOFFLER et al., 2015; ADLER, 2015).

Loffler et al. (2015) reportaram o isolamento de uma nova espécie de *Leptospira* tolerante a salinidade (*Leptospira brihuegai* sp. nov.) do rim de um filhote de baleia austral (*Eubalaena australis*) encalhado em praia da Península Valdez, Argentina, mostrando que esse grupo de bactérias podem infectar também cetáceos e inclusive serem resistentes a salinidade da água do mar.

Tamanduás-bandeira de vida livre (*Myrmecophaga tridactyla*) já foram encontrados sororeagentes à anticorpos para *Leptospira* no Pantanal brasileiro (MIRANDA et al., 2014), bem como o tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) no estado de São Paulo (FORNAZARI et al., 2018). Tatus também já foram encontrados sororeagentes (FORNAZARI et al., 2018) inclusive com isolamento de leptospiros oriundas do trato urinário (VIEIRA et al., 2018).

Diferentes trabalhos demonstraram o papel reservatório de espécies de mamíferos silvestres para *Leptospira* spp. no meio sinantrópico, com isolamento em cultura dessas bactérias por exemplo de gambás, capivaras e ratão-do-banhado (ALBUQUERQUE et al., 2017; CASTRO et al., 2018; FRATINI et al., 2015; JORGE et al., 2012; MICHEL et al., 2001; SILVA et al., 2013; VIEIRA e LILEMBAUM, 2017).

Com relação a prevalência de infecção por *Leptospira* em mamíferos de vida livre no estado de São Paulo merece destaque o estudo conduzido por Fornazari et al. (2018) no município de Botucatu, com captura de 309 indivíduos de 16 espécies distintas. Os pesquisadores coletaram sangue e urina dos animais conduzindo respectivamente teste de soroaglutinação microscópica (MAT) em amostras de soro e *real time* PCR em amostras de urina, obtendo respectivamente 11% e 5,5% de positividade, chegando a 16% se considerado a complementariedade destes resultados. Os sorogrupos mais comuns foram Djasiman e Australis, enquanto a *Lepstopira santarosai* foi a mais prevalente genomoespécie. As três espécies de mamíferos mais capturadas foram o gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) com 195 espécimes, quati (*Nasua nasua*) com 56 indivíduos e ouriço (*Sphiggurus villosus*) com 13 indivíduos coletados. Com relação a positividade para infecção por *Leptospira*, dez (5%) dos 195 gambás tiveram positividade (sendo três via MAT e sete via PCR); 20 (35,7%) dos 56 quatis (15 via MAT e 5 via PCR) e para os ouriços dois (15,3%) em 13 foram positivos, sendo estes dois animais reagentes apenas no PCR. Os autores concluíram que uma ampla gama de espécies silvestres estariam expostas e se infectariam por *Leptospira* e que diferentes espécies mamíferas poderiam agir como reservatórios da bactéria, especialmente os quatis e outros carnívoros, enquanto os gambás provavelmente não teriam papel importante como reservatórios de *Leptospira* na região estudada.

Baseado nos dados de literatura mencionados, infere-se que o contato cada vez mais frequente de animais selvagens com o ambiente antrópico pode favorecer o intercâmbio de agentes patogênicos entre estes, o humano e animais domésticos, com potencial impacto na produtividade pecuária, na saúde pública e na conservação de espécies selvagens.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a exposição à *Leptospira* spp. em animais silvestres em amostra de conveniência de área antrópica do município de Monte Mor, estado de São Paulo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a frequência de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais silvestres em área antrópica de Monte Mor;
- Determinar quais os principais sorogrupos de leptospiros que os animais silvestres estão expostos, e conseqüentemente, os que ocorrem na região;
- Determinar qual(is) espécie(s) hospedeiras apresentam maior frequência de anticorpos;
- Comparar os resultados do teste sorológico com algumas variáveis obtidas dos animais capturados como espécie, estação do ano, idade e sexo.

MATERIAL E MÉTODOS

Características do município de estudo

Monte Mor está localizado na região de Campinas (22°56'48" latitude sul, 47°18'57" longitude oeste, altitude de 560 metros acima do nível do mar). O clima é considerado tropical de altitude Cwa. O território do município é cortado pelo Rio Capivari que pertence à bacia hidrográfica do Rio Tietê (IBGE, 2010).

O Rio Capivari possui 212 km de extensão, com sua nascente em Jundiaí e foz em Tietê, passando pelos territórios dos municípios de Campinas, Capivari, Elias Fausto, Hortolândia, Indaiatuba, Itatiba, Itupeva, Jundiaí, Louveira, Mombuca, Monte Mor, Rafard, Rio das Pedras, Santa Bárbara d'Oeste, Valinhos e Vinhedo, estando em mais de 90% de seu trecho fora dos padrões de qualidade de água, em especial pelo despejo de efluentes sem tratamento (COBRAPE, 2019).

A população humana estimada no município é de 58.508 habitantes e sua área territorial é de cerca de 240 km² (SEADE, 2019). Aproximadamente 8,9 km² (3,78%) do território municipal é coberto por vegetação nativa, sendo 1,36 km² de mata atlântica semidecidual e 7,5 km² de capoeira, que se distribui principalmente às margens dos Rios Capivari e Capivari Mirim, incluindo parte importante da área urbana central do município, conforme ilustrado na Figura 1 (SIFESP, 2019). O Rio Capivari é repleto em sua extensão de planícies alagáveis ou várzeas, que são redutos para a fauna silvestre (CORBO et al. 2012)

O município faz divisa com as cidades de Campinas, Hortolândia, Santa Bárbara D'Oeste, Sumaré, Indaiatuba, Elias Fausto e Capivari, localizando-se a 122 quilômetros da cidade de São Paulo. Conjuntamente com outras 18 cidades compõe a Região Metropolitana de Campinas que possui um total aproximado de 3.200.000 habitantes distribuídos em uma área de 3.645,6 km² (IBGE, 2013).

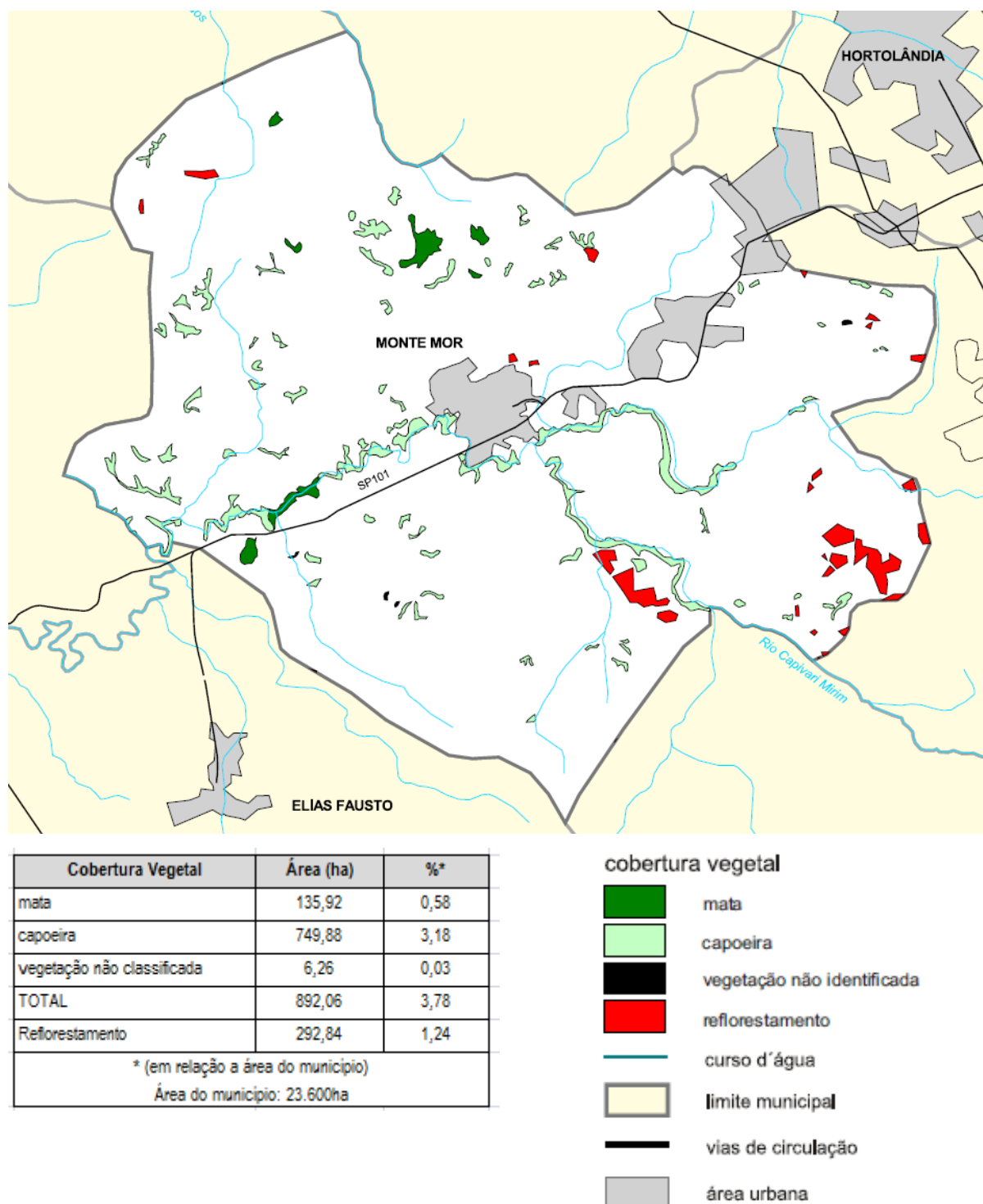


Figura 1: Cobertura vegetal e hidrografia do município de Monte Mor, SP.
Fonte: Adaptado de SIFESP, 2019.

Obtenção das amostras de sangue

De dezembro de 2009 a novembro de 2011 mamíferos encontrados por moradores em áreas antrópicas (zona rural, zona peri-urbana e zona urbana) do município foram capturados pelo setor de controle de zoonoses do município de Monte Mor.

Após captura os animais foram devidamente contidos fisicamente, examinados clinicamente e amostra de sangue total, variando de 1 a 3 mL, foi colhida por meio de punção de veia caudal ventral ou punção cardíaca a depender da espécie (Figuras 2 a 7). Quando necessário os animais foram anestesiados por via intramuscular com associação de tiletamina com zolazepam (Zoletil® 50), na dose de 25mg/kg, anterior a coleta de sangue. Outras amostras biológicas e parasitas associados aos animais examinados foram também colhidos quando possível (CUTOLO et al., 2014b; TEODORO et al., 2019).

Após obtenção do sangue o mesmo foi transferido para tubos vacutainer sem anticoagulante e centrifugados a 5.000 RPM por 5 minutos para obtenção do soro que foi congelado e mantido a -20°C até seu processamento laboratorial. Sexo, idade aproximada e data da captura dos animais foram registrados quando possível.

A captura dos animais foi parte integrante das atividades de rotina do Serviço de Controle de Zoonoses da prefeitura municipal de Monte Mor e teve aprovação do IBAMA SISBIO sob número 31724-1. O projeto também foi aprovado pela CEUA da FMVZ da Unesp de Botucatu sob o número de protocolo 0115/2019.

Processamento laboratorial

As amostras foram processadas pelo Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, no Núcleo de Pesquisa em Zoonoses (NUPEZO). Anticorpos para *Leptospira spp.* no soro foram detectados e quantificados pela técnica de soroaglutinação microscópica (MAT) e amostras com títulos (T) ≥ 100 foram consideradas reagentes. Os antígenos usados nos testes estão descritos no Quadro 1.



Figura 2. *Didelphis albiventris* em residência de área urbana antes da captura.



Figura 3. *Sphiggurus villosus* em residência em área urbana antes da captura.



Figura 4. *D. albiventris* contido em interior de residência em área urbana.



Figura 5. *S. villosus* capturado em quintal de residência em área urbana.



Figura 6. Coleta de sangue da veia caudal em *D. albiventris*.



Figura 7. Coleta de sangue por punção intra-cardíaca em *S. villosus*.

Quadro 1. Relação e identificação dos sorogrupos, sorovares e amostras de *Leptospira* spp. utilizados no presente estudo.

Genomespécie	Sorogrupo	Sorovar	Amostra
<i>Leptospira interrogans</i>	1.Australis	1A. australis	Ballico
<i>Leptospira interrogans</i>		1B. bratislava	Jez-bratislava
<i>Leptospira interrogans</i>	2.Autumnalis	2A. autumnalis	Akiyami A
<i>Leptospira kirshneri</i>		2B. butembo	Butembo
<i>Leptospira borgpetersenii</i>	3.Ballum	3. castellonis	Castellón
<i>Leptospira interrogans</i>	4.Bataviae	4A. bataviae	Van Tienen
<i>Leptospira santarosai</i>		4B. brasiliensis	Na 776
<i>Leptospira interrogans</i>	5.Canicola	5. Canicola	Hond Utrecht IV
<i>Leptospira weilli</i>	6.Celledoni	6B. whitcombi	Whitcombi
<i>Leptospira kirshneri</i>	7.Cynopteri	7. cynopteri	3552 C
<i>Leptospira interrogans</i>	8.Djasiman	8A. djasiman	Djasiman
<i>Leptospira interrogans</i>		8B. sentot	Sentot
<i>Leptospira kirshneri</i>	9.Grippotyphosa	9. grippotyphosa	Moska V
<i>Leptospira interrogans</i>	10. Hebdomadis	10. hebdomadis	Hebdomadis
<i>Leptospira interrogans</i>	11. Icterohaemorrhagiae	11A. copenhageni	M 20
<i>Leptospira interrogans</i>		11B. icterohaemorrhagiae	RGA
<i>Leptospira borgpetersenii</i>	12. Javanica	12. javanica	Veldrat Batavia 46/RA 94
<i>Leptospira nogochii</i>	13. Panama	13. panama	CZ 214 K
<i>Leptospira interrogans</i>	14. Pomona	14A. Pomona	Pomona
<i>Leptospira interrogans</i>	15. Pyrogenes	15. pyrogenes	Salinem
<i>Leptospira interrogans</i>	16. Sejroe	16A. hardjo	Hardjoprajitno
<i>Leptospira interrogans</i>		16B. wolffi	3705
<i>Leptospira santarosai</i>	17. Shermani	17. shermani	LT 821
<i>Leptospira borgpetersenii</i>		18. tarassovi	Perepelicin
<i>Leptospira biflexa</i>	Andamana	19. andamana	CH 11
<i>Leptospira biflexa</i>	Semarang	21. patoc	Patoc I
<i>Leptospira interrogans</i>	Sejroe	P. hardjo prajitno	Norma
<i>Leptospira interrogans</i>	Sejroe	M. hardjo mini	Neguita
<i>Leptospira interrogans</i>	Sejroe	C. hardjo ctg	CTG
<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Sejroe	B. hardjo bovis	L171

Os diferentes sorovares de *Leptospira* foram mantidos e repicados semanalmente em aerobiose, sob temperatura de 28°C em meio de cultura EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris) no Laboratório do NUPEZO. Os soros foram diluídos em solução de fosfato tamponada (PBS) (pH 7,6) numa diluição de 1:50, misturada individualmente com cada sorovar de *Leptospira* disponível em uma proporção de 1:1 e incubados à 28°C por uma hora. Solução pura de PBS (pH 7,6) foi utilizada como controle negativo. As análises de aglutinação foram realizadas visualmente em microscópio de campo escuro (Carl Zeiss®, Oberkochen, Baden-Württemberg, Alemanha) com aumento de 100×. As amostras foram consideradas positivas quando 50% ou mais de leptospiras aglutinaram em uma diluição de 10^{-2} , sendo considerado o título de corte de 100. Amostras positivas foram diluídas na proporção de 1:100, 1:200 e 1:400. No caso de reatividade contra mais de um tipo de sorogrupo/sorovar foi considerado aquele com maior título como reagente e na coincidência de valor de título sorológico para mais de um sorogrupo ambos foram considerados reagentes conforme Fornazari et al. (2012).

Análise estatística

A prevalência foi definida como a quantidade de animais reagentes dentro do total de animais amostrados para cada espécie e seus respectivos intervalos de confiança

Para análise descritiva foi feita a distribuição de frequência das variáveis (espécie, estação do ano, idade e sexo). O teste de qui quadrado (ou teste de Fisher) foi utilizado para testar a associação entre a prevalência de anticorpos para *Leptospira* e as variáveis estudadas e possíveis fatores de risco (estação do ano, sexo e idade). As análises foram realizadas com o software PROC FREQ (SAS, 2011), considerando-se um nível de significância de 0,05.

RESULTADOS

Um total de 45 animais, de quatro espécies de mamíferos, foram submetidos à análise sorológica. Os resultados de cada animal avaliado no estudo estão descritos na Tabela 1.

As amostras de animais avaliados consistiram apenas em marsupiais e roedores, distribuindo-se da seguinte maneira conforme a espécie: 39 (86,67%) gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*, Didelphimorphia: Didelphidae), quatro (8,89%) ouriços (*Sphiggurus villosus*, Rodentia: Erethizontidae), um (2,22%) ratão-do-banhado (*Myocastor coypus*, Rodentia: Myocastoridae) e uma (2,22%) capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Rodentia: Caviidae).

Dos animais silvestres avaliados, 16 (35,56%) foram reagentes à sorologia, apresentando título de anticorpos para *Leptospira* maior ou igual a 1:100 na MAT.

Analisando-se a frequência de animais positivos por espécie avaliada, *D. albiventris* apresentou prevalência de reagentes de 35,9% (14/39), os indivíduos avaliados de *H. hydrochaeris* (n=1) e *M. coypus* (n=1) foram reagentes com prevalência de 100% para cada e os quatro exemplares de *S. villosus* mostraram-se não reagentes, com prevalência sorológica de 0%. Os resultados de prevalência por espécie avaliada estão descritos na Tabela 2.

Os animais que foram reagentes à prova de soroaglutinação microscópica (MAT) tiveram títulos que variaram de 1:100 até 1:400, com positividade para 16 sorovares diferentes, conforme ilustrado na Tabela 3, 11 sorogrupos e 4 genomoespécies distintas conforme Tabela 4.

Os 14 dos 39 *D. albiventris* que foram reagentes apresentaram positividade para 10 sorogrupos diferentes, sendo Icterohaemorrhagiae o mais frequente e o sorovar dominante em 5 animais, sendo dois com título 1:100, dois com título 1:200 e um animal com título 1:400. O segundo sorogrupo mais prevalente foi Gryppotyphosa com quatro animais reagentes apresentando todos título 1:100. Pyrogenes foi o terceiro sorogrupo mais encontrado nos soros dos gambás com dois animais com título dominante de 1:200. Sete sorogrupos diferentes ainda foram diagnosticados nos soros dos gambás reagentes dominantes, todos eles aparecendo em apenas um animal, sendo

eles Sejroe, Andamana, Shermani e Patoc com títulos 1:200 e Djasiman, Canicola e Cynopteri todos com título de 1:100. Houve animais que reagiram para mais de um sorovar e na Tabela 1 é possível identificar os mesmos.

Com relação aos roedores que tiveram soros reagentes, o ratão-do-banhado apresentou títulos de 1:100 tanto para o sorogrupo Icterohaemorrhagiae quanto Cynopteri e a capivara apresentou título de 1:100 para três diferentes sorogrupos sendo eles Canicola, Pomona e Sejroe.

Para *D. albiventris*, espécie mamífera mais abundante da amostragem do estudo, foi possível obtenção de informações referentes a sexo, idade e estação do ano da captura e cruzamento das mesmas com a reatividade sorológica para anticorpos para *Leptospira*, com vistas a eventuais correlações entre as diferentes variáveis. Tais análises se encontram ilustradas na Tabela 5.

Dentre os 39 *D. albiventris* capturados 15 eram machos, 13 eram fêmeas e 11 não foi possível determinar o sexo. A prevalência de reatividade para anticorpos para *Leptospira* foi de 40% (6/15) entre os machos, 23% (3/13) entre as fêmeas e 45,45% (5/11) entre os de sexo indeterminado. O valor de p foi de 0,49 portanto sem significância estatística. Com relação a idade aproximada 39% (7/18) dos adultos foram reagentes contra apenas 20% (2/10) dos jovens, a reatividade dos de idade indeterminada foi de 45,45% (5/11) e o valor de p igual a 0,48. Com relação a estação do ano da captura e a prevalência de reatividade sorológica observou-se respectivamente no verão 25% (1/4), na primavera 17,65% (3/17), no outono 50% (2/4) e no inverno 57,14% (8/14) de gambás com anticorpos contra *Leptospira*. O valor de p para tal comparação foi de 0,11.

Dos demais animais capturados, todos roedores, não foi possível identificar com precisão a faixa etária e o sexo. A baixa quantidade de exemplares destas espécies impossibilitou maiores análises de correlação de variáveis com a reatividade sorológica.

Tabela 1. Resultados das análises sorológicas de anticorpos para *Leptospira* (MAT) de mamíferos silvestres coletados em área antrópica de Monte Mor conforme espécie, sorovar testado, estação do ano, data da coleta, sexo e idade. Monte Mor, SP, Brasil.

ID CCZ	Espécie	Sorovar	Estação	Coleta	Sexo	Idade
G1	<i>D. albiventris</i>	Andamana (200); Icterohaemorrhagiae (100); Hardjo (100)	W	17/05/2011	I	I
G2		Icterohaemorrhagiae (100)	W	14/04/2011	I	I
G3		NR	V	20/01/2011	I	I
1		NR	P	23/11/2010	F	J
2		NR	P	23/11/2010	M	J
3		NR	P	23/11/2010	M	J
4		NR	P	23/11/2010	M	J
501		NR	O	03/06/2011	M	A
501.1		NR	V	20/01/2011	I	I
502		NR	V	01/03/2011	M	A
503		NR	O	22/05/2011	M	J
504		NR	W	27/06/2011	F	J
505		Djasiman (100); Grippotyphosa (100)	W	21/07/2011	M	A
507		Grippotyphosa (100)	W	30/08/2011	F	J
508		Grippotyphosa (100)	W	01/09/2011	I	I
510		Icterohaemorrhagiae (200)	W	16/09/2011	M	A
510.1		NR	P	11/10/2011	I	I
511		NR	W	16/09/2011	F	A
512		NR	P	24/09/2011	F	J
514		NR	P	11/10/2011	F	A
515		NR	P	11/10/2011	F	A
516		Pyrogenes (200)	P	11/10/2011	F	A
519		NR	P	29/10/2011	F	J
520		Shermani (200)	P	31/10/2011	M	A

ID CCZ	Espécie	Sorovar	Estação	Coleta	Sexo	Idade
S27	<i>D. albiventris</i>	Wolffi (200)	O	10/06/2010	M	A
S32		NR	W	26/06/2010	M	A
S34		NR	W	01/07/2010	M	A
S36		NR	W	08/07/2010	M	A
S43		Icterohaemorrhagiae (400); Pyrogenes (200); Wolffi (200)	W	01/08/2010	F	A
S44		Canicola (100); Cynopteri (100); Grippytyphosa (100)	W	17/09/2010	M	J
S45		NR	P	25/09/2010	F	A
S56		NR	P	09/11/2010	F	A
S61		Icterohaemorrhagiae (100)	P	26/11/2010	M	A
G01		Icterohaemorrhagiae (200); Pyrogenes (200); Copenhageni (100);	V	23/12/2009	I	I
506		NR	P	07/11/2011	I	I
513		NR	P	10/10/2011	F	A
517		NR	P	29/10/2011	I	I
530		NR	P	22/06/2011	I	I
RB1	<i>M. coypus</i>	Icterohaemorrhagiae (100); Cynopteri (100)	-	-	-	-
CA1	<i>H. hydrochaeris</i>	Canicola (100); Pomona (100); P hardjo prajitno (100); M hardjo mini (100); C hardjo CTG (100)	-	-	-	-
O1	<i>S. villosus</i>	NR	-	-	-	-
O2		NR	-	-	-	-
O4		NR	-	-	-	-
O3		NR	-	-	-	-

Legenda: NR: Não reagente; V: Verão; P: Primavera; O: Outono; W: Inverno; I: Indeterminado; A: Adulto; J: Jovem.

Tabela 2. Frequência absoluta de animais reagentes e não reagentes ao MAT e prevalência de sororeagentes em mamíferos silvestres de área antrópica de Monte Mor, São Paulo, Brasil.

Espécie	R	NR	Total	Prevalência	IC
<i>Didelphis albiventris</i>	14	25	39	35,90%	21-51%
<i>Sphiggurus villosus</i>	0	4	4	0%	-
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	1	0	1	100%	-
<i>Myocastor coypu</i>	1	0	1	100%	-

IC: Intervalo de Confiança; R: Reagente ao MAT; NR: Não Reagente ao MAT.

Tabela 3. Sorovares, número de animais positivos e títulos de anticorpos detectados por soroaglutinação microscópica (MAT) em soros de mamíferos silvestres de Monte Mor, SP, Brasil.

Espécie	Sorovar	n	Títulos		
			100	200	400
Didelphis albiventris	Icterohaemorrhagiae	6	3	2	1
	Grippothyphosa	4	4		
	Pyrogenes	3		3	
	Wolffi	2		2	
	Andamana	1		1	
	Hardjo	1	1		
	Djasiman	1	1		
	Shermani	1		1	
	Patoc	1		1	
	Canicola	1	1		
	Cynopteri	1	1		
	Copenhageni	1	1		
	Total Gambás	23	12	10	1
	Myocastor coypus	Icterohaemorrhagiae	1	1	
Cynopteri		1	1		
Total Ratão		2	2		
Hydrochoerus hydrochaeris	Canicola	1	1		
	Pomona	1	1		
	P hardjo prajitno	1	1		
	M hardjo mini	1	1		
	C hardjo CTG	1	1		
	Total Capivara	5	5		
Todos Espécimes	Icterohaemorrhagiae	7	4	2	1
	Grippothyphosa	4	4		
	Pyrogenes	3		3	
	Wolffi	2		2	
	Andamana	1		1	
	Hardjo	1	1		
	Djasiman	1	1		
	Shermani	1		1	
	Patoc	1		1	
	Canicola	2	2		
	Cynopteri	2	2		
	Copenhageni	1	1		
	Pomona	1	1		
	P hardjo prajitno	1	1		
	M hardjo mini	1	1		
	C hardjo CTG	1	1		
	Total Geral	16 sorovares	30	19	10

Tabela 4. Espécies (genomoespécies), sorogrupos e sorovares dominantes, número de animais reagentes e títulos de anticorpos detectados por soroaglutinação microscópica (MAT) de mamíferos silvestres de área antrópica do município de Monte Mor, SP, Brasil.

Hospedeiro	Espécie	Sorogrupo	Sorovar Dominante	n	Títulos		
					100	200	400
<i>D. albiventris</i>	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	5	2	2	1
	<i>L. kirshneri</i>	Grippothyphosa	Grippothyphosa	4	4		
	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	2		2	
	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi	1		1	
	<i>L. biflexa</i>	Andamana	Andamana	1		1	
	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	1	1		
	<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1		1	
	<i>L. biflexa</i>	Semaranga	Patoc	1		1	
	<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	1	1		
	<i>L. kirshneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	1	1		
<i>M. coypus</i>	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	1	1		
	<i>L. kirshneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	1	1		
<i>H. hidrochaeris</i>	<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	1	1		
	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	1	1		
	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Sejroe	1	1		
4 genomoespécies		11 sorogrupos	12 sorovares	23	14	8	1

*Reagente com mesmo título a pelo menos dois sorovares de sorogrupos distintos (Gambás - títulos: 100 Djasiman/Grippothyphosa; 100 Canicola/Cynopteri/Grippothyphosa; 200 Icterohaemorrhagiae/Pyrogenes; Ratão do banhado: título 100 Icterohaemorrhagiae/Cynopteri; Capivara: título 100 Canicola/Pomona/Sejroe/Mini)

Tabela 5. Prevalência de *Didelphis albiventris* reagentes para anticorpos para *Leptospira* conforme sexo, estação do ano e idade dos animais avaliados oriundos de área antrópica do município de Monte Mor, São Paulo, Brasil.

Variável	Prevalência (%)	Valor P
Sexo		
Macho	40,00 (6/15)	0,49
Fêmea	23,08 (3/13)	
Indeterminado	45,45 (5/11)	
Estação		
Verão	25,0 (1/4)	0,11
Primavera	17,65 (3/17)	
Outono	50,0 (2/4)	
Inverno	57,14 (8/14)	
Idade		
Adulto	38,89 (7/18)	0,48
Jovem	20,00 (2/10)	
Indeterminado	45,45 (5/11)	

DISCUSSÃO

Icterohaemorrhagiae foi o sorogrupo mais frequente em geral, aparecendo em 35,71% (5/14) dos gambás e o único que apresentou título de 1:400. Este é o sorogrupo de *Leptospira* mais frequente em *Rattus norvegicus* e também o principal causador da leptospirose humana (LEVETT, 2001), indicando que estes animais provavelmente tiveram contato com urina destes roedores no ambiente que habitam.

Os gambás-de-orelha-branca representaram 86,67% (39/45) dos mamíferos silvestres encontrados pelos munícipes no município de Monte Mor. Em segundo lugar vieram os ouriços-cacheiros (*S. villosus*) com 8,89% (4/45) do total avaliado.

Os gambás-de-orelha-branca são animais arborícolas especialmente quando jovens, porém tem preferência em se deslocar pelo solo (SANCHES et al., 2012). Quanto ao hábito alimentar são onívoros se alimentando de invertebrados (principalmente insetos), materiais vegetais e pequenos vertebrados (TALAMONI e DIAS, 1999).

Os roedores, especialmente ratazanas da espécie *Rattus norvegicus* são considerados reservatórios de *Leptospira interrogans*, especialmente do sorogrupo Icterohaemorrhagiae (LEVETT, 2001). O hábito desta espécie hospedeira de alojar-se em tocas as margens de cursos d'água permite que, em períodos de cheias dos rios, grande quantidade de leptospiros sejam despejadas nestas águas.

Sendo assim, os roedores merecem destaque com relação a investigação de taxas de infecção por *Leptospira*. Especialmente no caso de roedores semi-aquáticos como o rato-do-banhado e a capivara que tem potencial maior de contato com águas e áreas úmidas contaminadas. Neste estudo confirmou-se que cada um dos exemplares destas espécies avaliados se apresentou reagente a anticorpos para *Leptospira*, com títulos mínimos de 1:100 indicando que tiveram contato com o agente, possivelmente via contato com águas contaminadas.

Os quatro exemplares da outra espécie de roedor avaliada neste estudo, o ouriço-cacheiro (*S. villosus*), não apresentaram anticorpos detectáveis contra *Leptospira*.

Parte dos gambás e ouriços foram capturados em quintais de residências do município de Monte Mor (Figuras 2, 3, 4 e 5).

O encontro de gambás no quintal de residências de munícipes em Monte Mor é um indicativo do risco de contato que humanos e seus animais de companhia podem ter com o agente etiológico da leptospirose albergado por esta espécie.

Embora sem significância estatística e com uma quantidade importante de animais com sexo indeterminado, chama a atenção que o número de gambás do sexo masculino reagentes à sorologia 40% (6/15) foi quase o dobro do observado para as fêmeas 23,08% (3/13). Essa diferença pode ser explicada pelo fato dos gambás machos circularem por áreas maiores para forrageamento e reprodução podendo assim ter maior risco de exposição a infecção por *Leptospira*, enquanto as fêmeas mais territorialistas se deslocariam menos, se expondo menos a áreas contaminadas (SANCHES et al., 2012).

Dos 39 gambás capturados, 43,59% (17/39) o foram na primavera, 35,89% (14/39) no inverno, 10,25% (4/39) no outono e 10,25% (4/39) no verão. Outro achado interessante foi a maior captura de gambás no inverno e primavera, correspondendo a um total 79,48% das capturas. O maior encontro destes animais neste período por munícipes pode estar associado a uma maior visita dos mesmos às áreas próximas a residências buscando por alimento que é menos disponível nas matas no período seco do interior paulista, especialmente no caso de fêmeas com filhotes com maior demanda energética (SANCHES et al., 2012).

A maior taxa de positividade dos gambás para anticorpos para *Leptospira* foi encontrado proporcionalmente nos meses de inverno com 57,14% (8/14) e outono 50,0% (2/4). Tais valores podem estar relacionados com a avaliação de animais mais velhos com maior tempo de vida para a exposição à contaminação ambiental pela bactéria uma vez que filhotes normalmente nascem e deixam o marsúpio na primavera/verão, sendo que a espécie possui sazonalidade reprodutiva de Setembro a Março (do fim do período seco ao fim do período chuvoso) (TALAMONI e DIAS, 1999). Essa proporção de maior positividade à sorologia para infecção por *Leptospira* conforme a faixa etária foi observada no estudo, embora sem significância

estatística, com prevalência de 38,89% (7/18) de adultos e 20% (2/10) de jovens.

Vários estudos realizados no Brasil mostram diferentes resultados quanto a prevalência de anticorpos para *Leptospira*, bem como dados de isolamento microbiológico em cultura e PCR de amostras de tecidos de gambás.

Fornazari et al. (2018) pesquisando animais de vida livre capturados em área rural do município de Botucatu, SP, encontraram *Didelphis albiventris* como a espécie mais abundante dentre as 16 que ocorreram nas capturas, correspondendo a 63,1% (195/309) do total. Porém apenas 2% (3/195) apresentaram anticorpos para *Leptospira* via MAT, com títulos para apenas 4 sorogrupos que variaram de 1:100 (Autumnalis, Canicola e Icterohaemorrhagiae) a 1:200 (Grippotyphosa). Quando incluíram resultados de exame de PCR de urina de soronegativos observou que mais 7 exemplares apresentaram DNA da bactéria, totalizando 10 gambás positivos, indicando infecção ativa e potencial eliminação de *Leptospira* na urina, elevando a prevalência de infecção para 5% (10/195), valor bem inferior aos 35,9% de prevalência encontrado neste estudo em Monte Mor, na bacia hidrográfica do Rio Capivari.

Semelhante ao reportado por Fornazari et al. (2019), Horta et al. (2016) obtiveram uma baixa prevalência de anticorpos para *Leptospira* dentre 343 gambás (*D. aurita* e *D. albiventris*) capturados em 18 municípios paulistas entre 2003 e 2008, com apenas 3,5% (11/343) de soros reagentes, com títulos variando de 1:100 a 1:800 para os sorovares Butembo (3/10), Mini (3/10); Castellonis (2/10), Icterohaemorrhagiae (1/10) e Grippotyphosa (1/10).

Castro et al. (2018) avaliando *D. aurita* em área de Mata Atlântica na cidade do Rio de Janeiro, RJ, encontraram valores relativamente baixos de prevalência sorológica com 10% (4/40) de animais reagentes ao MAT.

Outros estudos porém mostram valores elevados de prevalência de anticorpos para *Leptospira* em gambás como o encontrado por Lucheis et al. (2009) em *D. albiventris* capturados em área urbana de Bauru, com 32 animais reagentes para o sorovar Copenhageni (82% do total capturado). Silva et al. (2013) encontraram em Jaboticabal, SP, 60% (9/15) de *D. albiventris* reagentes ao MAT com títulos variando de 1:100 a 1:800 para o sorovar Patoc.

Vieira et al. (2018) em artigo de revisão sobre o tema leptospirose em animais selvagens de vida livre na América Latina, encontraram para gambás *Didelphis albiventris* prevalência mediana de 6,5% de anticorpos para *Leptospira* (considerando um total de 16 publicações científicas que juntas somaram um total de 878 exemplares da espécie avaliados) sendo o sorogrupo Pomona o mais predominante.

Relatos de avaliações sorológicas feitas em gambás de vida livre em parques zoológicos mostram que estes estão expostos à infecção por *Leptospira* com 40% (2/5) de *D. marsupialis* reagentes no Parque Zoológico de São Paulo (CORREA et al., 2004) e 100% (2/2) de *Didelphis sp.* para o sorovar Patoc no Zoológico Municipal de Ribeirão Preto (SILVA et al., 2010).

Técnicas de diagnóstico sorológicas não são capazes de assegurar se o animal reagente possui uma infecção ativa, aguda ou crônica, ou se foi infectado no passado, sendo exposto em um momento e posteriormente debelado a infecção passando a possuir apenas cicatriz imunológica de anticorpos. A possibilidade de reações inespecíficas em títulos baixos também existe. A presença de títulos mais altos, por exemplo igual ou maiores a 1:400, podem indicar uma infecção recente ou ativa no ser humano (WHO, 2003).

Porém a ausência de reatividade sorológica não é sinônimo de ausência de infecção. Espécies hospedeiras reservatórias de *Leptospira*, como por exemplo a ratazana, podem eliminar ativamente leptospiros na urina em grande quantidade, de forma crônica, sem apresentar anticorpos aglutinantes no sangue (FRATINI et al., 2015), o mesmo podendo ocorrer em capivaras (ALBUQUERQUE et al., 2017). Hospedeiros não reagentes à sorologia podem ainda estar em período de janela imunológica, estando infectados, porém sem ainda possuir anticorpos detectáveis suficientes para sua quantificação (LEVETT, 2001).

Os gambás além de apresentarem aglutininas para *Leptospira* em diferentes níveis de prevalência como já mencionado, são potenciais reservatórios destas bactérias uma vez que têm sido encontrados portando *Leptospira* em tecido renal e amostras de urina, podendo assim eliminar ativamente o agente causal da leptospirose no ambiente, mesmo estando soronegativos. Técnicas moleculares de diagnóstico como a PCR são

sensíveis e auxiliam na melhor detecção do agente em tecidos biológicos dos animais avaliados (FORNAZARI et al., 2018).

Isolamento de *Leptospira* em cultura foi reportado por diferentes autores como Jorge et al. (2012) e Silva et al (2013) que obtiveram e caracterizaram *Leptospira borgpetersenii* de *D. albiventris* em amostras de urina respectivamente nas regiões de Pelotas, Rio Grande do Sul e Jaboticabal, estado de São Paulo. Castro et al. (2018) isolaram duas amostras de *Leptospira* spp. de rins de *D. aurita* no Rio de Janeiro.

Vieira et al. (2018) reportam em seu artigo de revisão isolamento de leptospiros do trato urinário de gambás do gênero *Didelphis* (*Didelphis albiventris*, *Didelphis marsupialis* e *Didelphis* sp.) por diferentes autores em território brasileiro, sendo as mesmas dos sorogrupos Panama, Pomona, Gryppotyphosa, Mini, Pyrogenes, Ballum e Icterohaemorrhagiae.

É relevante a adaptabilidade dos gambás a áreas de vida relativamente pequenas, inclusive áreas silvestres modificadas pelo homem, podendo ser a única espécie de pequeno mamífero não voador encontrado em fragmento de mata urbano de 10 hectares (ALMEIDA et al, 2008). Além disso, o hábito solitário, a versatilidade em ocupar os extratos de solo e arbóreo, a prolificidade associada à maturidade sexual precoce não sazonal, os hábitos noturnos, os hábitos alimentares onívoros fazem deste grupo de marsupiais animais sinantrópicos, abundantes em áreas urbanas, periurbanas e rurais. Ainda estão presentes em áreas de vegetação ciliar, florestas primárias semidecíduas e campos naturais (TALAMONI e DIAS, 1999). O domicílio humano também se inclui no rol de habitat dos gambás como observado neste e outros estudos (CUTOLO et al., 2014b).

Em Monte Mor, durante o período estudado, parte dos animais avaliados encontrava-se no interior de domicílios humanos, especialmente em áreas com existência de alimento como pomares, galinheiros e quintais com disposição de ração para cães e gatos. A busca por locais para abrigo, especialmente para fêmeas com filhotes também foi fato marcante no caso dos gambás (CUTOLO et al., 2014b).

Uma característica geográfica do município de Monte Mor é o fato de ser cortado transversalmente pelo Rio Capivari. Tal rio é acompanhado em grande parte de sua extensão pela rodovia SP-101 que também cruza o

município no mesmo sentido, ligando a cidade por um lado a Capivari e por outro à Hortolândia e Campinas. Possui ainda a característica de ter bairros próximos ao rio, por vezes sofrendo com inundações pela cheia do mesmo, estando as casas situadas muitas vezes ao lado das matas ciliares remanescentes ou áreas de várzea, muitas vezes ocupadas de maneira irregular.

Inundações são consideradas fator predisponente para infecções por *Leptospira* (LEVETT, 2001; WHO, 2003). A proximidade entre a mata ciliar do Rio Capivari e as residências, associado a um canal de comunicação razoavelmente bem estabelecido entre os munícipes e o serviço municipal de controle de zoonoses, permitiu que a presença dos animais silvestres percebidos pelos munícipes em suas residências, propriedades rurais e arredores fosse informada ao poder público, sendo os animais capturados, avaliados e depois devolvidos ao meio natural.

Um exemplo interessante de tal associação entre animais silvestres adentrando imóveis e áreas antropizadas em Monte Mor foi a captura, avaliação e soltura de 55 jibóias (*Boa constrictor*) num período de 3 anos, de 2007 a 2010, pelo setor de controle de zoonoses municipal. Curiosamente durante a manipulação de 3 destas serpentes houve regurgitação de carcaças de gambás (*D. albiventris*), mostrando que tanto gambás como jiboias estariam ocupando as mesmas áreas silvestres e sinantrópicas. Galinhas e teiú também foram encontrados na regurgitação pós manipulação das jiboias avaliadas. A aparente alta abundância de jiboias no município indicaria também relativa abundância de presas para estes répteis (CUTOLO et al., 2012).

Sabe-se que os gambás (*Didelphis* sp.) são potenciais hospedeiros e reservatórios para a espécie humana de uma série de patógenos e parasitas, alguns deles importantes agentes causadores de zoonoses. Diferentes publicações científicas reportam este importante papel dos gambás na região do presente estudo.

Teodoro et al. (2019) avaliando 56 espécimes de gambás (54 *D. albiventris* e 2 *D. aurita*) de Monte Mor encontraram elevada positividade para parasitas gastrointestinais sendo 77,6% das amostras de fezes positivas para ovos de nematódeos, 34,5% para ovos de trematódeos e 32,7% para presença

de protozoários. Neste mesmo estudo encontrou-se um *D. albiventris* positivo para DNA de *Leishmania* sp. e dois *D. aurita*, capturados na mata ciliar do Rio Capivari em área rural do município, infectados por *Trypanosoma cruzi* com achados de tripomastigotas em microscopia de esfregaço de sangue com confirmação da espécie por PCR.

Cutolo et al. (2014b) encontraram flebotomíneos (*Evandromyia cortellezzii* e *Evandromyia lenti*) potenciais transmissores de *Leishmania* em ninhos ocupados por gambás situados no interior de duas residências em área urbana do município de Monte Mor.

Ueno et al. (dados não publicados) identificaram anticorpos para *Rickettsia* em 21,7% (5/23) dos soros de gambás *D. albiventris* capturados em Monte Mor, a maioria dos quais também avaliados no presente estudo. Dentre eles seis se encontravam parasitados por carrapatos, sendo recuperados um total de 47 exemplares destes ectoparasitas, sendo que 44,68% (21/47) eram ninfas de *Amblyomma sculptum*, 38,30% (18/47) ninfas de *Amblyomma dubitatum* e 17,02% (8/47) larvas de *Amblyomma* sp.

Sabe-se que o principal hospedeiro de *Amblyomma dubitatum* é a capivara (LABRUNA et al., 2007). O fato dos gambás estarem parasitados por esta espécie de carrapato é mais um indicativo de que estes estariam frequentando áreas ocupadas por capivaras, especialmente as áreas ciliares do Rio Capivari. Tais áreas ciliares são particularmente úmidas e alagadas o que favoreceria a manutenção de áreas contaminadas com *Leptospira*.

A leptospirose é uma doença de veiculação hídrica. Bactérias do gênero *Leptospira* se adaptam bem à água e podem sobreviver por mais de 100 dias neste ambiente (TRUEBA et al., 2004). A infecção do hospedeiro se dá por penetração da pele contendo pequenos cortes ou abrasões, além da mucosa ocular ou oral (ADLER, 2015). Desta maneira animais aquáticos ou que tenham estreito contato com o ambiente de água doce, especialmente mamíferos, estão sob constante pressão de infecção por *Leptospira*.

No presente estudo três espécies de roedores foram avaliadas. A espécie mais abundante foi a do ouriço-cacheiro (*S. villosus*) com quatro exemplares, seguida da capivara (*H. hidrochoeris*) e do rato-do-banhado (*M. coipus*), ambos com um exemplar capturado e examinado.

S. villosus é um roedor que habita a mata atlântica do Sudeste e Sul do Brasil, com hábitos preponderantemente noturnos, solitário, herbívoro totalmente folívoro e arborícola, indo ao solo raramente, por exemplo quando para defecação, não sendo observado descendo ao solo para beber água (PASSAMANI, 2009), hidratando-se provavelmente em sua maioria através da ingestão de folhas verdes.

O hábito arborícola leva a um menor contato direto com a umidade do solo e corpos d'água potencialmente contaminados, a alimentação herbívora e a hidratação por ingestão de folhas acarreta em uma menor chance da ingestão de leptospiros quando comparado a animais carnívoros e onívoros, sendo que o hábito solitário diminui a chance de infecção pelo contato direto com a urina de outros animais infectados (VIEIRA e LILEMBAUM, 2017). Tais pontos podem ser explicações para que a prevalência de anticorpos contra *Leptospira* nos quatro exemplares de ouriço avaliados no estudo fosse igual a zero. Vieira et al. (2013) também encontraram roedores arborícolas não reagentes para *Leptospira* ao examinar oito exemplares do roedor arborícola *Oecomys mamorae* capturados no Pantanal brasileiro.

As capivaras são roedores que habitam todo o território brasileiro, estando presentes em áreas silvestres mas também em áreas urbanas sempre associadas a corpos d'água (LABRUNA et al., 2007). São animais sociais, herbívoros, que nadam frequentemente, podendo ser considerados semi-aquáticos. Por tal hábito é esperado que estejam sob pressão elevada de infecção por bactérias do gênero *Leptospira* e seria natural encontrar-se uma alta taxa de prevalência de anticorpos para *Leptospira* nesta espécie, fato este demonstrado por Albuquerque et al. (2017).

No presente estudo o exemplar examinado apresentava-se reagente à sorologia com títulos de anticorpos de 1:100 para três sorogrupos distintos (Canicola, Pomona e Sejroe), mostrando provável exposição previa a estes sorovares.

Outros estudos mostraram que as capivaras apresentam anticorpos contra *Leptospira* tanto em situações de criação comercial como também no ambiente natural, podendo ser reservatórios eficientes desta bactéria.

Langoni et al. (2016) encontraram em amostras de soro de capivaras oriundas de criadouros experimentais ou comerciais dos estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul 41,82% (23/55) de prevalência a anticorpos para *Leptospira*. A maior reatividade foi para o sorovar Icterohaemorrhagiae com 56,52% (13/23), seguido de Copenhageni 39,13% (9/23), Pomona 17,39% (4/23), Djasiman e Castellonis 13,04% (3/23), Gryppothyphosa, Hardjo, Canicola e Cynopteri 8,7% (2/23) e Andamana e Bratislava (4,34%) com apenas uma amostra reagente. O fato da maior prevalência ocorrer para o sorovar Icterohaemorrhagiae cujo rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) é o principal reservatório indicou que as capivaras tiveram contato com ambiente contaminado com a urina desta espécie.

Albuquerque et al. (2017) também encontraram o sorovar Icterohaemorrhagiae como mais prevalente em capivaras comprovadamente infectadas por *Leptospira* em áreas periurbanas e rurais do município de Rio Branco, estado do Acre, Amazônia brasileira. Em 44 animais capturados foi possível avaliar-se 41 amostras de sangue na sorologia ao MAT e 41 amostras de urina para PCR e cultura. Houve 43,9% (18/41) de reação à sorologia, 31,7% (13/41) de positividade no PCR, além de oito amostras positivas à cultura bacteriana. Dos 18 animais sororeagentes no MAT apenas dois tiveram títulos 1:800 e 1:400 mostrando provável infecção recente. Os demais títulos foram baixos estando entre 1:100 e 1:200. Os sorovares mais prevalentes na sorologia foram Shermani, Pomona e Icterohaemorrhagiae. Com relação ao PCR houve baixa correlação entre sua positividade e reatividade sorológica, mostrando que animais soronegativos se apresentaram infectados e eliminando ativamente *Leptospira* na urina, sendo tal fato confirmado quando do isolamento destas bactérias em cultura. Dos 13 animais positivos no PCR, nove apresentaram-se soronegativos. Dos oito isolamentos em cultura obtidos, quatro originaram-se de animais soronegativos, sendo todos eles do sorogrupo Icterohaemorrhagiae. No total, dos oito isolados em cultura, seis eram Icterohaemorrhagiae, um Shermani e outro Gryppothyphosa.

Segundo esses mesmos autores, o fato da maioria das capivaras apresentarem baixos títulos sorológicos e terem positividade no PCR e/ou cultura bacteriana mostra que esses animais poderiam ser portadores assintomáticos e crônicos de *Leptospira*, especialmente do sorogrupo

Icterohaemorrhagiae, estando infectados de forma massiva por estas bactérias e eliminando-as de forma efetiva no meio ambiente.

O rato-do-banhado é um mamífero semi-aquático nativo do sul da América do Sul, porém não nativo do estado de São Paulo, que foi introduzido com fins comerciais para exploração da pele e se estabeleceu no meio selvagem, causando inclusive prejuízos econômicos, em diferentes países do mundo como Estados Unidos, Grã-Bretanha, Europa continental (França, Alemanha, Grécia, Finlândia entre outros) e Japão (OJEDA et al., 2016).

No presente estudo o exemplar capturado no município de Monte Mor apresentou-se reagente à sorologia para *Leptospira* com título 1:100 para os sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Cynopteri.

Diferentes estudos realizados mostraram que o rato-do-banhado é um importante reservatório de *Leptospira*, com infecção comprovada e eliminação do agente no meio ambiente junto com a urina.

O primeiro isolamento de *Leptospira* nesta espécie se deu na Argentina em 1949, sendo caracterizada como *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Em 1962 foram isoladas leptospiros do sorogrupo Bataviae de ratões-do-banhado do estado da Louisiana, EUA (ROTH et al., 1962).

Outros estudos mostram resultados diversos de prevalência sorológica, variando de 16,5 a 66% na França, com isolamento de bactérias do sorogrupo Icterohaemorrhagiae e Sejroe (MICHEL et al., 2001), soropositividade para Icterohaemorrhagiae e isolamento em cultura de bactérias do sorogrupo Wolffii na Grã-Bretanha (WAITKINS et al., 1985), e positividade à sorologia para 27,87% (34/122) dos ratões-do-banhado avaliados na região da Toscana, Itália, para o sorovar Bratislava, com títulos indo de 1:100 a 1:400, e 9,83% (12/122) de positividade para *Leptospira* à PCR nos fragmentos de rins coletados e processados desta espécie (FRATINI et al., 2015).

De forma semelhante ao que foi reportado nesta dissertação, Silva et al. (2014) em inquérito sorológico realizado no estado do Rio Grande do Sul encontraram positividade sorológica em diferentes espécies mamíferas de animais silvestres, doméstica e humana, com positividade para o sorovar Icterohaemorrhagiae no único rato-do-banhado capturado.

A região geográfica avaliada tem uma baixa cobertura vegetal natural (apenas 3,78% de sua área territorial com áreas preservadas) (SIFESP, 2019) sendo que o mínimo exigido por lei (Código Florestal Brasileiro) para a região Sudeste do Brasil seria 20% de reserva (BRASIL, 2012), sem se contar áreas de preservação permanente como beiras de rio, entorno de nascentes e áreas de morro com alta inclinação.

Na área de estudo as matas ciliares servem como corredores de dispersão de fauna, estreitos e espremidos entre residências e rodovia, e certamente induz ao uso concentrado de uma mesma área por diferentes espécies silvestres (CORBO et al., 2012). Tal fato poderia assim ser uma explicação para que ocorresse exposição de diferentes espécies, especialmente aquelas semi-aquáticas e não arborícolas, a um ambiente de beira de rio, alagável no período chuvoso, permanentemente úmido e contaminado por *Leptospira*.

A baixa cobertura florestal potencializaria ainda mais a dispersão de animais silvestres existentes pela extensão do município, propiciando maior acesso ao meio antrópico urbano, periurbano e rural na busca por alimento, abrigo ou novos territórios, facilitando o contato destes com a espécie humana e seus animais domésticos.

A presença de gambás, capivara e ratão-do-banhado reagentes à sorologia para anticorpos para *Leptospira* na área estudada indica a contaminação ambiental bacteriana existente na área.

Dentre os 11 sorogrupos de leptospira identificados nos animais silvestres avaliados, *Icterohaemorrhagiae* foi o mais frequente, mostrando o provável contato direto ou indireto com urina de *Rattus norvegicus*, especialmente dos gambás. O isolamento ou identificação de *Leptospira* da urina de gambás configura este grupo de mamíferos como reservatórios destas bactérias (SILVA et al., 2013; FORNAZARI et al., 2018; VIEIRA et al., 2018). Estando os gambás visitando os domicílios humanos, existe o risco de transmissão de *Leptospira* destas espécies para as pessoas e seus animais de companhia, e eventualmente a via oposta, com a infecção de gambás por leptospiras de cães, fato observado neste estudo com o encontro de pelo menos um gambá com título dominante para o sorogrupo Canicola.

A reatividade para outros sorogrupos indica o contato com leptospiras oriundas de outras espécies de hospedeiros como observado para os gambás e capivara que reagiram para o sorogrupo Sejroe, prevalente na espécie bovina.

Conforme orientado pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003), o conhecimento da frequência de infecção e/ou exposição de animais selvagens para *Leptospira* permitiu identificar a existência de contaminação ambiental para diferentes sorogrupos da bactéria na área. Tal contaminação é um indicativo do risco de infecção e/ou exposição para demais populações que habitam o local, incluindo demais espécies silvestres, domésticas e inclusive o ser humano.

CONCLUSÕES

Pelo menos 11 sorogrupos de *Leptospira* spp. circulam no meio antrópico da área estudada, especialmente entre gambás e roedores aquáticos como a capivara e ratão-do-banhado.

O gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) foi a espécie mais frequente nas capturas e apresentou 35,9% (14/25) de positividade à sorologia, mostrando uma alta exposição desta espécie à infecção por *Leptospira*.

As análises estatísticas realizadas buscando associação entre frequência de anticorpos para os fatores de risco avaliados (sexo, idade e estação do ano) só foram possíveis para *Didelphis albiventris*, porém foram inconclusivas uma vez que não houve significância entre as mesmas ($p > 0,05$).

Dentre os *Didelphis albiventris* avaliados, houve maior frequência de reatividade ao sorogrupo Icterohaemorrhagiae, com 35,71% (5/14), seguido do sorogrupo Gryppotyphosa com 28,57% (4/14) de positividade à sorologia, indicando contaminação ambiental por tais bactérias, indicando risco de infecção e/ou exposição para demais populações que habitam o local, incluindo demais espécies silvestres, domésticas e inclusive o ser humano. Novos estudos são necessários para melhor caracterização da leptospirose na área estudada.

REFERÊNCIAS

ADLER, B. *Leptospira* and leptospirosis. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.*, v.387, p.1–293, 2015.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A.P. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.*, v.140, n.3-4, p.287-296, 2010.

ALBUQUERQUE, N.F.; MARTINS, G.; MEDEIROS, L.; LILEMBAUM, W.; RIBEIRO, V.M.F. The role of capybaras as carriers of leptospires in periurban and rural areas in the western Amazon. *Acta Trop.*, v.169, p.57–61, 2017.

ALMEIDA, A.J.; TORQUETTI, C.G.; TALAMONI, S.A. Use of space by neotropical marsupial *Didelphis albiventris* (Didelphimorphia: Didelphidae) in an urban forest fragment. *Rev. Bras. Zool.* v.25, n.2, p.214–219, 2008.

ARAÚJO, W.N. Aspectos epidemiológicos da leptospirose no Brasil, 2000 a 2009 e a avaliação do conhecimento e das atitudes sobre a doença em uma favela na cidade de Salvador, Bahia. Salvador, Brasil. Tese de Doutorado, Fundação Oswaldo Cruz, 88p, 2011.

BRASIL. Lei n. 12.651, de 25 de maio de 2012. Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa; altera as Leis nos 6.938, de 31 de agosto de 1981, 9.393, de 19 de dezembro de 1996, e 11.428, de 22 de dezembro de 2006; revoga as Leis nos 4.771, de 15 de setembro de 1965, e 7.754, de 14 de abril de 1989, e a Medida Provisória no 2.166-67, de 24 de agosto de 2001; e dá outras providências. 2012. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Ano CXLIX, n. 102, 28 maio 2012. Seção 1, p.1. Disponível em <<http://portal.in.gov.br/>>. Acesso em 30 set. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leptospirose: Diagnóstico e Manejo Clínico. Brasília, 2014. 44p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Disponível em: <<https://www.mma.gov.br/biomas>>. Acesso em 8 out. 2019.

BUTCHART, S.H.M.; WALPOLE, M.; COLLEN, B.; VAN STRIEN, A.; SCHARLEMANN, J.P.W.; ROSAMUNDE, E.A.A.; BAILLIE, J.E.M.; BOMHARD, B.; BROWN, C.; BRUNO, J.; CARPENTER, K.E.; CARR, G.M.; CHANSON, J.; CHENERY, A.M.; CSIRKE, J.; DAVIDSON, N.C.; DENTENER, F.; FOSTER, M.; GALLI, A.; GALLOWAY, J.N.; GENOVESI, P.; GREGORY, R.D.; HOCKINGS, M.; KAPOV, V.; LAMARQUE, J.; LEVERINGTON, F.; LOH, J.; McGEACH, M.A.; McRAE, L.; MINASYAN, A.; MORCILLO, M.H.; OLDFIELD, T.E.E.; PAULY, D.; QUADER, S.; REVENGA, C.; SAUER, J.R.; SKOLNIK, B.; SPEAR, D.; STANWELL-SMITH, D.; STUART, S.; SYMES, A.; TIERNEY, M.; TYRREL, T.D.; VIÉ, J.; WATSON, R. Global Biodiversity: Indicators of Recent Declines. *Science*, v.328, p.1164-1168, 2010.

COBRAPE. Companhia Brasileira de Projetos e Empreendimentos. Plano das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí 2010 a 2020: Relatório Final. São Paulo, 2011. Disponível em: http://www.comitepcj.sp.gov.br/download/PB/PCJ_PB2010-2020_RelatorioFinal.pdf. Acesso em: 30 set. 2019.

CASTRO, M.P.; FIGUEIREDO, F.B.; BALASSIANO, I.T.; VARELA, T.M.; PEREIRA, M.M. *Leptospira* spp. in Opossums *Didelphis aurita* from the Atlantic Forest, Rio de Janeiro, Brazil. *J. Vet. Med. Res.*, v.5, n.4, p.1132, 2018.

CORBO, M.; MACARRÃO, A.; PENTEADO, M.; MANZANI, P. *Monte Mor: A vida às margens do Capivari*. Vinhedo: Editora Avis Brasilis, 2012. 400p.

CORREA, S.H.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.; TEIXEIRA, A.A.; DIAS, R.A.; BARROS, M.A.; GUIMARÃES, V.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Epidemiologia da leptospirose em animais silvestres da Fundação Parque Zoológico de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.41, n.3, p.189-193, 2004.

CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. Tratado de Animais Selvagens. 2ª ed. v.1., São Paulo: Roca, 2014. 1237p.

CUNHA, M.S.; COSTA, A.C; FERNANDES, N.C.C.A.; GUERRA, J.M; SANTOS, F.C.P.; NOGUEIRA, J.S.; D'AGOSTINO, L.G.; KOMNINAKIS, S.V.; WITKIN, S.S.; RESSIO, R.A.; MAEDA, A.Y.; VASAMI, F.G.S.; KAIGAWA, U.M.A.; AZEVEDO, L.S.; FACIOLI, P.A.S.; MACEDO, F.L.L.; SABINO, E.C.; LEAL, E.; SOUZA, R.P. Epizootics due to Yellow Fever Virus in São Paulo State, Brazil: viral dissemination to new areas (2016–2017). *Sci Rep.* v.9, n.1, p. 5474, 2019.

CUTOLO, A.A; TEODORO, A.K.M.; MILANI, P. Absence of ectoparasites in *Boa constrictor amarali* (Squamata: Boidae) from anthropic environments of the Capivari River basin, São Paulo State, Brazil. *Acta Vet. Brasilica.* v.6, n.3, p. 218-222, 2012.

CUTOLO, A.A.; GONÇALVES, V.L.N.; CORREZOLA, L.M.; GUNNEWIEK, M.F.K. Anemia infecciosa equina em equídeos de área urbana do município de Monte Mor, região metropolitana de Campinas, Estado de São Paulo, Brasil. *Semin.: Ciênc. Agrár.*, v.35, n.3, p. 1377-1382, 2014a.

CUTOLO, A.A.; TEODORO, A.K.M; OVALLOS, F.G.; ALLEGRETTI, S.M.; GALATI, E.A.B. Sandflies (Diptera: Psychodidae) associated with opossum nests at urban sites in southeastern Brazil: a risk factor for urban and periurban zoonotic *Leishmania* transmission? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.109, n.3, p.391-393, 2014b.

CVE. Centro De Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”, Divisão de Zoonoses, Secretaria de Estado da Saúde. <<http://www.cve.saude.sp.gov.br>>. Acesso em: 30 set. 2019.

DENNER, J.; YOUNG, P.R. Koala retroviruses: characterization and impact on the life of koalas. *Retrovirology*, v.10, n.108, p.1-7, 2013.

FELZEMBURGH, R.D.M., RIBEIRO, G.S., COSTA, F., REIS, R.B., HAGAN, J.E., MELENDEZ, A.X.T.O., FRAGA, D., SANTANA, F.S., MOHR, S., SANTOS, B.L., SILVA, A.Q., SANTOS, A.C., RAVINES, R.R., TASSINARI, W.S., CARVALHO, M.S., REIS, M.G., KO, A. Prospective study of leptospirosis transmission in an urban slum community: role of poor Environment in repeated exposures to the *Leptospira* agent. *PLOS Negl. Trop. Dis.*, v.8, n.5, p.e2927, 2014.

FIORAVANTI, C. O Alarme dos Macacos. *Pesquisa Fapesp*, v.263, p.18-22, 2018.

FORNAZARI, F.; SILVA, R.C.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; BESERRA, H.E.O.; LUVIZOTTO, M.C.R.; LANGONI, H. Comparison of conventional PCR, quantitative PCR, bacteriological culture and the Warthin Starry technique to detect *Leptospira* spp. in kidney and liver samples from naturally infected sheep from Brazil. *J. Microbiol. Methods*, v.90, n.3, p.312-316, 2012.

FORNAZARI, F.; LANGONI, H.; MARSOND, P.M.; NÓBREGA, D.B.; TEIXEIRA, C.R. *Leptospira* reservoirs among wildlife in Brazil: Beyond rodents. *Acta Trop.*, v.178, p. 205–212, 2018.

FORTINI, L.B.; VORSINO, A.E.; AMIDON, F.A.; PAXTON, E.H.; JACOBI, J.D. Large-Scale Range Collapse of Hawaiian Forest Birds under Climate Change and the Need 21st Century Conservation Options. *PLoS ONE*. v.10, n.10, p.1-22, 2015.

FRATINI, F.; TURCHI, B.; EBANI, V.V.; BERTELLONI, F.; GALIERO, A.; CERRI, D. The presence of *Leptospira* in coypus (*Myocastor coypus*) and rats (*Rattus norvegicus*) living in a protected wetland in Tuscany (Italy). *Vet. Arhiv*, v.85, n.4, p.407-414, 2015.

GONZALEZ-ASTUDILLO, V.; BUSTAMANTE-RENGIFO, J.A.; BONILLA, A.; LEHMICKE, A.J.J.; CASTILLO, A.; ASTUDILLO-HERNANDEZ, M.

Synanthropic cockroaches (Blattidae: *Periplaneta spp.*) harbor pathogenic *Leptospira* in Colombia. *J. Med. Ent.*, v.53, n.1, p.177–182, 2016.

HARARI, Y.N. *Sapiens: Uma breve história da humanidade*. L&PM, Porto Alegre. 2015, 464p.

HORTA, M.C.; RAGOZO, A.M.A.; CASAGRANDE, R.A.; MATUSHIMA, E.R.; SOUZA, G.O.; MORAIS, Z.M.; VASCONCELLOS, S.A.; GENNARI, S.M. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leptospira spp.* antibodies in opossums (*Didelphis spp.*) in São Paulo State, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.53, n.3, p.1-9, 2016.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010. Estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.ibge.com.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default_uf.shtm>. Acesso em: 5 nov. 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 2010. Cidades. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/temas.php>>. Acesso em: 10 fev. 2013.

IDO, Y.; HOKI, R.; ITO, H.; WANI, H. The rat as a carrier of *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, the causative agent of Weil's Disease (*Spirochaetosis Icterohamorrhagica*). *J. Exp. Med.*, v.24, n.471, p.341-353, 1916.

JOLY, C.A.; METZGER, J.P.; TABARELLI, M. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. *New Phytologist*, v.204, p.459–473, 2014.

JORGE, R.S.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S.; VASCONCELLOS, S.A.; LIMA, E.S.; MORAIS, Z.M.; SOUZA, G.O. Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira spp.* in the northern Pantanal, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.106, n.4, p.441-444, 2011.

JORGE, S.; HARTLEBENB, C.P.; SEIXAS, F.K.; COIMBRA, M.A.A.; STARKA, C.B.; LARRONDOC, A.G.; AMARAL, M.G.; ALBANOC, A.P.N.; MINELLOC, L.F.; DELLAGOSTIN, O.A.; BRODA, C.S. *Leptospira borgpetersenii* from free-living white-eared opossum (*Didelphis albiventris*): First isolation in Brazil. *Acta Tropica*, v.124, p.147-151, 2012.

LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C.; ATALIBA, A.A.; SZABO, M.P.J. Human parasitism by the capybara tick *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). *Entomol. News*, v.118, n.1, p.77-80, 2007.

LANGONI, H.; KURIBARA, I.Y.; CORREA, A.P.F.L.; ULLMANN, L.S.; SANCHEZ, G.P.; LUCHEIS, S.B. Anti-leptospirosis agglutinins in Brazilian capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, v.22, n.4, p.1-4, 2016.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clin. Micr. Rev.*, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LUCHEIS, S.B. ; HERNANDES, G.S. ; LENHARO, D.K. ; SANTIAGO, M.E.B. ; BALDINI-PERUCA, L.C. Are opossums capable of transmitting leptospirosis in urban areas? *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.*, v.15, n.3, p.370-373, 2009.

LOFFLER, S.G.; RAGO, V.; MARTINEZ, M.; UHART, M.; FLORIN-CHRISTENSEN, M.; ROMERO, G.; BRIHUEGA, B. Isolation of a seawater tolerant *Leptospira* spp. from a southern right whale (*Eubalaena australis*). *PLoS ONE*, v.10, n.12, p. 1-10, 2015.

LYNAS, M. A espécie divina: como o planeta pode sobreviver à era dos seres humanos. Rio de Janeiro, RJ: Alta Books, 275p, 2012.

MICHEL V.; RUVOEN-CLOUET, N.; MENARD, A.; SONRIER, C.; FILLONNEAU, C.; RAKOTOVAO, F.; GANIÈRE, J.P.; ANDRÉ-FONTAINE, G. Role of the coypu (*Myocastor coypus*) in the epidemiology of leptospirosis in

domestic animals and humans in France. *Eur. J. Epidemiol.*, v.17, n.2, p.111-121, 2001.

MINETTE, H.P. Leptospirosis in primates other than man. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* v.15, n.2, p.190-198, 1990.

MIRANDA, R.F.; SUPERINA, M.; VINCI, F.; HASHIMOTO, V. FREITAS, J.C.; MATUSHIMA, E.R. Serosurvey of *Leptospira interrogans*, *Brucella abortus* and *Chlamydophila abortus* infection in free-ranging giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) from Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* v. 35, n. 5, p.462-465, 2014.

MOCTEZUMA, A.P.; BULACH, D.M.; KALAMBAHETI, T.; ADLER, B. Comparative analysis of the LPS biosynthetic loci of the genetic subtypes of serovar Hardjo: *Leptospira interrogans* subtype Hardjoprajitno and *Leptospira borgpetersenii* subtype Hardjobovis. *FEMS Microbiol. Lett.* v.177, p.319-326, 1999.

NORMAN, S.A.; DIGIACOMO, R.F.; GULLAND, F.M.; MESCHKE, J.S.; LOWRY, M.S. Risk factors for an outbreak of leptospirosis in California sea lions (*Zalophus californianus*) in California, 2004. *J. Wild. Dis.*, v.44, n.4, p.837-844, 2008.

OJEDA, R.; BIDAU, C.; EMMONS, L. *Myocastor coypus* (errata version published in 2017). *The IUCN Red List of Threatened Species*. e.T14085A121734257. Acesso em 25 ago. 2019.

OLIVEIRA, M.A.A., LEAL, E.A., CORREIA, M.A., SERUFO FILHO, J.C., DIAS, R.S., SERUFO, J.C. Human leptospirosis: occurrence of serovars of *Leptospira* spp. in the state of Minas Gerais, Brazil, from 2008 to 2012. *Braz. J. Microbiol.*, v.48, p.483-488, 2017.

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Med. Mal. Infect.*, v.43, n.1, p.1-9, 2013.

PINTO, P.S.; LIBONATI, H.; LILEMBAU, W. A systematic review of leptospirosis on dogs, pigs, and horses in Latin America. *Trop. Anim. Health. Prod.* v.49, p.231-238, 2017.

ROMERO, E.C.; BERNARDO, C.C.; YASUDA, P.H. Human leptospirosis: a twenty-nine year serological study in São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* v.45, p.245-248, 2003.

ROTH, E.E.; ADAMS, W.V.; SANFORD, G.E.; GREER, B.; MAYEUX, P. *Leptospira paidjan* (Bataviae Serogroup) isolated from nutria in Louisiana. *Pub. Health Rep.*, v.77, n.7, p.583-587, 1962.

SANCHES, V.Q.A.; GOMES, M.M.A.G; PASSOS, F.C.; GRACIOLI, G.; RIBAS, A.C.A. Home-range and space use by *Didelphis albiventris* (Lund 1840) (Marsupialia, Didelphidae) in Mutum Island, Paraná river, Brazil. *Biota Neotrop.*, v.12, n. 4, p.50-55, 2012.

SAS Institute. SAS 9.3 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc; 2011.

SIFESP, Sistema de Informações Florestais do Estado de São Paulo - Inventário Florestal do Estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.iflorestal.sp.gov.br/sifesp/inventario.html>. Acesso em 30 set. 2019.

SILVA, C.S.; GÍRIO, R.J.S.; GUERRA NETO, G.; BRICH, M.; SANTANA, L.A.S.; AMÂNCIO, F.H.; MARIANI, J.R.; WESSORT, P.M.F. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em animais selvagens do zoológico municipal de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil. *Braz. Journal of Vet. Res. Anim. Sci.*, v.47, n.3, p.237-242, 2010.

SILVA, F.J.; SILVA, T.R.; SILVA, G.C.P.; SANTOS, C.E.P.; ALVES JÚNIOR, J.R.F.; MATHIAS, L.A. Isolation of *Leptospira borgpetersenii* in synanthropic *Didelphis albiventris* in Jaboticabal, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 50, n.6, p.457-461, 2013.

SILVA, F.J.; SANTOS, C.E.P.; SILVA, G.C.P.; SANTOS, R.F.; CURCI, V.C.M.; MATHIAS, L.A. The importance of *Leptospira interrogans* serovars Icterohaemorrhagiae and Canicola in coastal zone and in southern fields of Rio Grande do Sul, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* v.34, n.1, p.34-38, 2014.

SILVA, R.C.; COSTA, V.M.; SHIMABUKURO, F.H.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; MENOZZI, B.D.; LANGONI, H. Frequency of *Leptospira* spp. in sheep from Brazilian slaughterhouses and its association with epidemiological variables. *Pesq. Vet. Bras.*, v.32, n.3, p.194-198, 2012.

SINAN. Sistema Nacional de Agravos de Notificação. Leptospirose. Dados epidemiológicos e estatísticos. <<http://portalsinan.saude.gov.br/leptospirose>>. Acesso em: 1 nov. 2019.

SZONYI, B.; AGUDELO-FLÓREZ, P.; RAMÍREZ, M.; MORENO, N.; KO, A. An outbreak of severe leptospirosis in Capuchin (*Cebus*) monkeys. *Vet. J.*, v.188, n.2, p.237-239, 2011.

TALAMONI, S.A.; DIAS, M.M.1999. Population and community ecology of small mammals in southeastern Brazil. *Mammalia*, v.63, n.2, p.167-181, 1999.

TEODORO, A.K.M.; CUTOLO, A.A.; MOTOIE, G.; MEIRA-STREJEVITCH, C.S.; PEREIRA-CHIOCCOLA, V.L.; ALLEGRETTI, S.M. Gastrointestinal, skin and blood parasites in *Didelphis* spp. from urban and sylvatic areas in São Paulo state, Brazil. *Vet. Parasitol.: Reg. Stud. Rep.*, v.16, p.1-7, 2019.

TRUEBA, G., ZAPATA, S., MADRID, K., CULLEN, P., HAAKE, D. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. *Int. Microbiol.*, v.7, p.35-40, 2004.

VERMA, A.; STEVENSON, B.; ADLER, B. Leptospirosis in horses. *Vet. Microbiol.*, v.167, p.61–66, 2013.

VIEIRA, A.S.; ROSINHA, G.M.S; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; VIANA, R.C.; OLIVEIRA, C.E.; SOARES, C.O.; ARAÚJO, F.R.; MOURÃO, G.M.; BIANCHI, R.C.; OLIFIER, N.; RADEMAKER, V.; ROCHA, F.L.; PELLEGRIN, A.O. Identificação de mamíferos silvestres do Pantanal Sul mato-grossense portadores de *Leptospira spp.*. *Cienc. Anim. Bras.*, v.14, n.3, p.373-380, 2013.

VIEIRA, A.S.; LILEMBAUM, W. Leptospirosis on captive wild animals in Latin America. *Res. Vet. Science*, v.115, p.496-500, 2017.

VIEIRA, A.S.; PINTO, P.S.; LILEMBAUM, W. A systematic review of leptospirosis on wild animals in Latin America. *Trop. Anim. Health. Prod.*, v.50, p.229-238, 2018.

WAITKINS, S.A.; WANYANGU, S.; PALMER, M. The coypu as a rodent reservoir of leptospira infection in Great Britain. *J. Hyg. Camb.*, v.95, p.409-417, 1985.

WASINSKI, B., DUTKIEWICZ, J. Leptospirosis – current risk factors connected with human activity and the environment. *Ann. Agric. Env. Med.*, v.20, n.2, p.239-244, 2013.

WHO. World Health Organization. *Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control*. 109p, 2003

TRABALHO CIENTÍFICO

Revista: Semina Ciências Agrárias

Anticorpos para *Leptospira* spp. em mamíferos silvestres do município de Monte Mor, estado de São Paulo, Brasil.

RESUMO

A leptospirose é uma zoonose potencialmente fatal causada por bactérias do gênero *Leptospira*. Espécies animais hospedeiras adaptadas a sorovares específicos podem ser portadoras e dispersoras ambientais da bactéria. De 2009 a 2011, 45 mamíferos silvestres (39 gambás *Didelphis albiventris*, quatro ouriços *Sphiggurus villosus*, um rato-do-banhado *Myocastor coypus* e uma capivara *Hydrochoerus hydrochaeris*) encontrados por munícipes em áreas antrópicas de Monte Mor, SP, foram capturados, contidos e tiveram amostras de soro coletadas para detecção de anticorpos para *Leptospira*. As amostras foram tituladas pela técnica de soroprecipitação microscópica (MAT) para diferentes sorogrupos de *Leptospira*. Um total de 35,56% (16/45) animais foram reagentes para presença de anticorpos para um total de 11 sorogrupos diferentes. O sorovar dominante mais frequente, dentre os 12 identificados, foi o Icterohaemorrhagiae (6/16), seguido de Gryppotyphosa (4/16) e Pyrogenes (2/16). *Didelphis albiventris*, espécie mais abundante no estudo, apresentou uma prevalência de 35,9% (14/39) a anticorpos para *Leptospira*, enquanto *S. villosus* teve 0% (0/4) e ambos *M. coypus* (1/1) e *H. hydrochaeris* (1/1) 100%. Dentre os *Didelphis albiventris* avaliados, houve maior frequência de reatividade sorológica à *Leptospira interrogans*, sorogrupos Icterohaemorrhagiae, com 35,71% (5/14) e Gryppotyphosa com 28,57% (4/14), indicando contaminação ambiental por tais leptospiros e a possibilidade de exposição e infecção de humanos e animais domésticos para tais bactérias na área estudada.

Palavras-chave: Leptospirose; Gambá; Sorologia; Reservatório, Região Metropolitana de Campinas.

***Leptospira* spp. antibodies in wild mammals of Monte Mor municipality, São Paulo state, Brazil.**

ABSTRACT

Leptospirosis is a potentially fatal zoonosis caused by *Leptospira* bacteria. Some animal host species are adapted to specific serovars being potential carriers and environmental dispersers. From 2009 to 2011, 45 wild mammals (39 opossums *Didelphis albiventris*, four porcupines *Sphiggurus villosus*, one coypu *Myocastor coypus* and one capybara *Hydrochoerus hydrochaeris*) found by citizens in anthropic areas of Monte Mor municipality were captured, contained and had sera samples collected for *Leptospira* antibody detection. The samples were titrated by the microagglutination technique (MAT) for different serogroups. A total of 35.56% (16/45) animals were reactive for *Leptospira* antibodies for 11 different serogroups. The most frequent serovar, among the 12 identified, was Icterohaemorrhagiae (6/16), followed by Gryppotyphosa (4/16) and Pyrogenes (2/16). *Didelphis albiventris*, the most abundant species in the study, had a prevalence of 35.9% (14/39) for *Leptospira* antibodies, while *S. villosus* had 0% (0/4), *M. coypus* (1/1) and *H. hydrochaeris* (1/1) 100%. Among the seropositive *D. albiventris*, 35.71% (5/14) and 28.57% (4/14) seroreacted for *Leptospira interrogans* species, serogroups Icterohaemorrhagiae and Gryppotyphosa respectively, indicating environmental contamination by these bacteria and the possibility of exposure and infection of humans and domestic animals in the studied area.

Key words: Leptospirosis; Opossum; Serology; Reservoir; Campinas metropolitan region

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

A leptospirose é uma zoonose potencialmente fatal causada por bactérias espiroquetas do gênero *Leptospira*, de distribuição mundial (WHO, 2003). Atualmente existem descritas mais de 20 espécies da bactéria, agrupadas em diferentes sorogrupos que totalizam mais de 300 sorovares (PICARDEAU, 2013). Animais domésticos, selvagens e humanos são susceptíveis à infecção, que se dá principalmente por contato da pele lesada ou mucosas com água contaminada (WHO, 2003). Espécies animais adaptadas a sorovares específicos podem ser portadoras renais assintomáticas e dispersoras permanentes de *Leptospira* no ambiente por meio da urina, como os roedores *Rattus norvegicus* associados ao sorogrupo Icterohaemorrhagiae, os cães ao Canicola e bovinos ao Sejroe, ocorrendo a leptospirose clínica geralmente quando da infecção por sorovares que o hospedeiro não está adaptado (LEVETT, 2001).

No Brasil, a incidência da doença em humanos é elevada, com 13.000 notificações, 3500 confirmações e letalidade de 10,8% ao ano em média dentre os casos confirmados sendo o sorogrupo Icterohaemorrhagiae o mais frequente e mais associado aos quadros graves (BRASIL, 2014). Em animais domésticos provoca principalmente problemas reprodutivos, especialmente aborto em animais pecuários e equinos, enquanto cães podem ter doença grave aguda e morte semelhante ao humano. Equinos infectados podem apresentar ainda quadros característicos de uveíte crônica (VERMA et al., 2013).

Dentre os animais selvagens, pequenos mamíferos são considerados importantes reservatórios de *Leptospira* na natureza, podendo ser fontes de infecção importantes para animais domésticos e humanos (LEVETT, 2001), como observado em diferentes mamíferos selvagens de vida livre que tiveram isolamento bacteriano ou identificação de DNA de *Leptospira* de amostras de rins ou urina no Brasil, incluindo roedores, dasipodídeos, carnívoros e marsupiais (ALBUQUERQUE et al., 2017; FORNAZARI et al., 2018; VIEIRA et al., 2018).

O presente estudo objetivou avaliar a frequência de anticorpos para *Leptospira* spp. e identificar os sorogrupos circulantes em diferentes espécies de mamíferos silvestres de área antrópica, no município paulista de Monte Mor, região metropolitana de Campinas, indicando-se assim a existência de contaminação ambiental para estas bactérias e consequente risco de exposição e infecção de outras espécies, inclusive o ser humano.

Monte Mor está localizado a 22°56'48" de latitude sul, 47°18'57" de longitude oeste e altitude de 560 metros acima do nível do mar. O clima é considerado tropical de altitude Cwa. O território do município é cortado pelo Rio Capivari que pertence à bacia hidrográfica do Rio Tietê. A população humana estimada no município é de 58.508 habitantes e sua área territorial é de cerca de 240 km² (IBGE, 2019). Aproximadamente 8,9 km² (3,78%) do território municipal é coberto por vegetação nativa, sendo 1,36 km² de mata atlântica semidecidual e 7,5 km² de capoeira, que se distribui principalmente às margens dos Rios Capivari e Capivari Mirim, incluindo parte importante da área urbana central do município (SIFESP, 2019). O Rio Capivari

é repleto em sua extensão de planícies alagáveis ou várzeas, que são redutos para a fauna silvestre (CORBO et al. 2012)

O município faz divisa com as cidades de Campinas, Hortolândia, Santa Bárbara D'Oeste, Sumaré, Indaiatuba, Elias Fausto e Capivari, localizando-se a 122 quilômetros da cidade de São Paulo. Conjuntamente com outras 18 cidades compõe a Região Metropolitana de Campinas que possui um total aproximado de 3.200.000 habitantes distribuídos em uma área de 3.645,6 km² (IBGE, 2019).

De dezembro de 2009 a novembro de 2011 uma amostra de conveniência de animais silvestres encontrados por moradores em áreas antrópicas (zona rural, zona peri-urbana e zona urbana) do município foram capturados pelo Setor de Controle de Zoonoses da prefeitura de Monte Mor. Estes foram contidos fisicamente, examinados clinicamente e tiveram amostra de sangue colhida por punção de veia caudal ventral ou punção cardíaca. Realizou-se anestesia intramuscular com associação de tiletamina com zolazepam (Zoletil® 50), na dose de 25mg/kg, quando necessário. O soro foi obtido após centrifugação a 5.000 RPM por 5 minutos e mantido congelado a -20°C até seu processamento laboratorial.

A captura dos animais foi parte integrante das atividades de rotina do Serviço de Controle de Zoonoses da prefeitura de Monte Mor e teve aprovação do IBAMA SISBIO sob número 31724-1. O projeto também foi aprovado pela CEUA da FMVZ da Unesp de Botucatu sob o número de protocolo 0115/2019.

Anticorpos para *Leptospira* spp. no soro foram detectados e quantificados pela técnica de soroaglutinação microscópica (MAT), contra 30 antígenos diferentes pertencentes a 18 sorogrupos: Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Djasiman, Grippotyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Sejroe, Shermani, Samaranga e Andamana. Amostras com títulos (T) ≥ 100 foram consideradas reagentes. No caso de reatividade contra mais de um tipo de sorogrupo/sorovar foi considerado aquele com maior título como reagente e na coincidência de valor de título para mais de um sorogrupo todos foram considerados reagentes. A prevalência foi definida como a quantidade de animais reagentes dentro do total de animais amostrados para cada espécie e seus respectivos intervalos de confiança.

Um total de 45 animais, de quatro espécies de mamíferos silvestres, foram submetidos à análise sorológica para a presença e titulação de anticorpos para *Leptospira*.

A amostra consistiu apenas em marsupiais e roedores, distribuindo-se da seguinte maneira conforme a espécie: 39 (86,67%) gambás-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*, Didelphimorphia: Didelphidae), quatro (8,89%) ouriços (*Sphiggurus villosus*, Rodentia: Erethizontidae), um (2,22%) ratão-do-banhado (*Myocastor coypus*, Rodentia: Myocastoridae) e uma (2,22%) capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Rodentia: Caviidae).

Dos 45 animais silvestres avaliados, 16 (35,56%) foram reagentes à sorologia, apresentando títulos de anticorpos para *Leptospira* maior ou igual a 1:100 na MAT.

Didelphis albiventris apresentou prevalência de reagentes de 35,9% (14/39), os dois indivíduos avaliados roedores aquáticos - *H. hidrochaeris* (n=1) e *M. coypus* (n=1) - foram reagentes com prevalência de 100% e os quatro exemplares de *S. villosus* mostraram-se não reagentes, com prevalência sorológica de 0%. Os resultados de prevalência por espécie avaliada estão descritos na Tabela 1.

Os animais que foram reagentes ao MAT tiveram títulos que variaram de 1:100 até 1:400, com positividade para 11 sorogrupos e 4 genomoespécies distintas conforme Tabela 2.

Os 14 dos 39 *D. albiventris* que foram reagentes apresentaram positividade para 10 sorogrupos diferentes, sendo Icterohaemorrhagiae o mais frequente e o sorovar dominante em 5 animais, sendo dois com título 1:100, dois com título 1:200 e um animal com título 1:400. O segundo sorogrupo mais prevalente foi Gryppotyphosa com quatro animais reagentes apresentando todos título 1:100. Pyrogenes foi o terceiro sorogrupo mais encontrado nos soros dos gambás com dois animais com título dominante de 1:200. Sete sorogrupos diferentes ainda foram diagnosticados nos soros dos gambás reagentes dominantes, todos eles aparecendo em apenas um animal, sendo eles Sejroe, Andamana, Shermani e Patoc com títulos 1:200 e Djasiman, Canicola e Cynopteri com título de 1:100.

Com relação aos roedores que tiveram soros reagentes, o ratão-do-banhado apresentou títulos de 1:100 tanto para o sorogrupo Icterohaemorrhagiae quanto Cynopteri e a capivara apresentou título de 1:100 para três diferentes sorogrupos sendo eles Canicola, Pomona e Sejroe.

Icterohaemorrhagiae foi o sorogrupo mais frequente em geral, aparecendo em 35,71% (5/14) dos gambás e o único antígeno que apresentou título de 1:400. Este é o sorogrupo de *Leptospira* mais frequente em *Rattus norvegicus* e também o principal causador da leptospirose humana (LEVETT, 2001), indicando que estes animais provavelmente tiveram contato com urina destes roedores no ambiente que habitam.

Vários estudos realizados no Brasil mostram diferentes resultados quanto a prevalência de anticorpos para *Leptospira*, bem como dados de isolamento microbiológico em cultura e PCR de amostras biológicas de gambás.

Fornazari et al. (2018) pesquisando animais de vida livre capturados em área rural do município de Botucatu, SP, encontraram *Didelphis albiventris* como a espécie mais abundante dentre as 16 que ocorreram nas capturas, correspondendo a 63,1% (195/309) do total. Porém apenas 2% (3/195) apresentaram anticorpos para *Leptospira* via MAT, com títulos para apenas 4 sorogrupos que variaram de 1:100 (Autumnalis, Canicola e Icterohaemorrhagiae) a 1:200 (Grippotyphosa). Quando incluíram resultados de exame de PCR de urina de soronegativos observaram que mais 7 exemplares apresentaram DNA da bactéria, totalizando 10 gambás

positivos, indicando infecção ativa e potencial eliminação de *Leptospira* na urina, elevando a prevalência de infecção para 5% (10/195), valor bem inferior aos 35,9% de prevalência encontrado na bacia hidrográfica do Rio Capivari.

Semelhante ao reportado por Fornazari et al. (2018), Horta et al. (2016) obtiveram uma baixa prevalência de anticorpos para *Leptospira* dentre 343 gambás (*D. aurita* e *D. albiventris*) capturados em 18 municípios paulistas entre 2003 e 2008, com apenas 3,5% (11/343) de soros reagentes, com títulos variando de 1:100 a 1:800 para os sorovares Butembo (3/10), Mini (3/10); Castellonis (2/10), Icterohaemorrhagiae (1/10) e Grippotyphosa (1/10).

Vieira et al. (2018) em artigo de revisão sobre o tema leptospirose em animais selvagens de vida livre na América Latina, encontraram para gambás *Didelphis albiventris* uma prevalência mediana de 6,5% para anticorpos para *Leptospira* (considerando um total de 16 publicações científicas que somaram um total de 878 exemplares da espécie avaliados) sendo o sorogrupo Pomona o mais predominante.

Técnicas de diagnóstico sorológicas não são capazes de assegurar se o animal reagente possui uma infecção ativa, aguda ou crônica, ou se foi infectado no passado, sendo exposto em um momento mas ficando livre da infecção e passando a possuir apenas cicatriz imunológica. A possibilidade de reações inespecíficas em títulos baixos também existe.

A ausência de reatividade sorológica não é sinônimo de ausência de infecção. Espécies hospedeiras reservatórias de *Leptospira*, como por exemplo a ratazana (*R. norvegicus*), podem eliminar ativamente leptospiros na urina em grande quantidade de forma crônica sem apresentar anticorpos aglutinantes no sangue (FRATINI et al., 2015), o mesmo podendo ocorrer em capivaras (ALBUQUERQUE et al., 2017). Hospedeiros não reagentes à sorologia podem ainda estar em período de janela imunológica, estando infectados, porém sem ainda possuir anticorpos detectáveis suficientes para sua quantificação (LEVETT, 2001).

Os gambás além de apresentarem aglutininas para *Leptospira* em diferentes níveis de prevalência como já mencionado, são potenciais reservatórios destas bactérias uma vez que têm sido encontrados portando *Leptospira* em tecido renal e amostras de urina, podendo assim eliminar ativamente o agente causal da leptospirose no ambiente, mesmo estando soronegativos. Técnicas moleculares de diagnóstico como a PCR são sensíveis e auxiliam na melhor detecção do agente em tecidos biológicos dos animais avaliados (FORNAZARI et al., 2018).

Isolamento de *Leptospira* de gambás em cultura foi reportado por diferentes autores como Silva et al (2013) que obtiveram e caracterizaram *Leptospira borgpetersenii* de *D. albiventris* em amostras de urina respectivamente nas regiões de Pelotas, Rio Grande do Sul e Jaboticabal, estado de São Paulo. Vieira et al. (2018) reportam em seu artigo de revisão isolamento de leptospiros do trato urinário de gambás do gênero *Didelphis* (*Didelphis albiventris*, *Didelphis marsupialis* e *Didelphis* sp.) por diferentes autores em território

brasileiro, sendo as mesmas dos sorogrupos Panama, Pomona, Gryppotyphosa, Mini, Pyrogenes, Ballum e Icterohaemorrhagiae.

É relevante a adaptabilidade dos gambás a áreas de vida relativamente pequenas, inclusive áreas silvestres modificadas pelo homem, podendo ser a única espécie de pequeno mamífero não voador encontrado em fragmento de mata urbano de 10 hectares (ALMEIDA et al, 2008). Além disso, o hábito solitário, a versatilidade em ocupar os extratos de solo e arbóreo, a prolificidade associada à maturidade sexual precoce não sazonal, os hábitos noturnos, os hábitos alimentares onívoros fazem deste grupo de marsupiais animais sinantrópicos, abundantes em áreas urbanas, periurbanas e rurais. Ainda estão presentes em áreas de vegetação ciliar, florestas primárias semidecíduas e campos naturais (TALAMONI e DIAS, 1999). O domicílio humano também se inclui no rol de habitat dos gambás como observado neste e outros estudos (CUTOLO et al., 2014).

Em Monte Mor, durante o período estudado, parte dos animais avaliados encontrava-se no interior de domicílios humanos, especialmente em quintais associados a áreas com existência de alimento como pomares, galinheiros incluindo disponibilidade ração de cães e gatos. A busca por locais para abrigo, especialmente para fêmeas com filhotes também foi fato observado no caso dos gambás (CUTOLO et al., 2014).

S. villosus foi a segunda espécie em frequência avaliada no período. O ouriço-cacheiro é um roedor que habita a mata atlântica do Sudeste e Sul do Brasil, com hábitos preponderantemente noturnos, solitário, herbívoro totalmente folívoro e arborícola, indo ao solo raramente, por exemplo quando para defecação, não sendo observado descendo ao solo para beber água (PASSAMANI, 2009), hidratando-se provavelmente em sua maioria através da ingestão de folhas verdes.

O hábito arborícola leva a um menor contato direto com a umidade do solo e corpos d'água potencialmente contaminados, a alimentação herbívora e a hidratação por ingestão de folhas acarreta em uma menor chance da ingestão de leptospiros quando comparado a animais carnívoros e onívoros, sendo que o hábito solitário diminui a chance de infecção pelo contato direto com a urina de outros animais infectados (VIEIRA et al., 2018). Tais pontos podem ser explicações para que a prevalência de anticorpos contra *Leptospira* nos quatro exemplares de ouriço avaliados no estudo fosse igual a zero.

As capivaras são roedores que habitam todo o território brasileiro, estando presentes em áreas silvestres mas também em áreas urbanas sempre associadas a corpos d'água. São animais sociais, herbívoros, que nadam frequentemente, podendo ser considerados semi-aquáticos. Pelo hábito aquático é esperado que estejam sob pressão elevada de infecção por bactérias do gênero *Leptospira* e seria natural encontrar-se uma alta taxa de prevalência de anticorpos para *Leptospira* nesta espécie, fato este demonstrado por Albuquerque et al. (2017).

No presente estudo o exemplar examinado apresentava-se reagente à sorologia com títulos de anticorpos de 1:100 para três sorogrupos distintos (Canicola, Pomona e Sejroe), mostrando provável exposição previa a estes sorovares.

Outros estudos mostraram que as capivaras apresentaram anticorpos contra *Leptospira* no ambiente natural, apresentando positividade no PCR e/ou cultura bacteriana sendo portadores assintomáticos e crônicos de *Leptospira*, especialmente do sorogrupo Icterohaemorrhagiae, estando infectadas de forma massiva por estas bactérias e eliminando-as de forma efetiva no meio ambiente (ALBUQUERQUE et al., 2017).

O rato-do-banhado é um mamífero semi-aquático nativo do sul da América do Sul, porém não nativo do estado de São Paulo e invasor em diferentes países do mundo (FRATINI et al., 2015). No presente estudo o exemplar capturado no município de Monte Mor apresentou-se reagente à sorologia para *Leptospira* com títulos 1:100 para os sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Cynopteri. Esta espécie é reservatório de *Leptospira*, com infecção comprovada e eliminação do agente no meio ambiente junto com a urina (FRATINI et al., 2015).

A região avaliada tem uma baixa cobertura vegetal natural (apenas 3,78% de sua área territorial com áreas preservadas) (SIFESP, 2019), sendo o pouco existente restrito principalmente às matas ciliares que servem como corredores de dispersão de fauna, estreitos e espremidos entre residências e Rio Capivari, com observação de uso concentrado de uma mesma área por diferentes espécies selvagens (CORBO et al., 2012).

A concentração de diferentes espécies em áreas restritas banhadas pelo Rio Capivari seria uma explicação para a exposição de diferentes espécies, especialmente aquelas semi-aquáticas e não arborícolas, a um ambiente de beira de rio, alagável no período chuvoso, permanentemente úmido e a presença de gambás, capivara e rato-do-banhado reagentes à sorologia para anticorpos para *Leptospira* na área estudada é um indicativo da contaminação ambiental bacteriana existente na área.

Dentre os 11 sorogrupos de leptospira identificados nos animais silvestres avaliados, Icterohaemorrhagiae foi o mais frequente, mostrando o provável contato direto ou indireto com urina de *Rattus norvegicus*, especialmente dos gambás. O isolamento ou identificação de *Leptospira* da urina de gambás configura este grupo de mamíferos como reservatórios destas bactérias (SILVA et al., 2013; FORNAZARI et al., 2018; VIEIRA et al., 2018).

Estando os gambás visitando os domicílios humanos, existe o risco de transmissão de *Leptospira* destas espécies para as pessoas e seus animais de companhia, e eventualmente a via oposta, com a infecção de gambás por leptospiros de cães, fato observado neste estudo com o encontro de pelo menos um gambá com título sorológico dominante para o sorogrupo Canicola.

A reatividade para outros sorogrupos indica o contato com leptospiros oriundas de outras espécies de hospedeiros como observado para os gambás e capivara que reagiram para o sorogrupo Sejroe, prevalente na espécie bovina.

Conforme orientado pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003), o conhecimento da frequência de infecção de animais selvagens por *Leptospira* permitiu mostrar o papel sentinela dos mesmos para a contaminação ambiental para pelo menos 11 sorogrupos de *Leptospira*, no meio antrópico da área estudada, especialmente entre gambás e roedores aquáticos como a capivara e ratão-do-banhado.

O gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) foi a espécie mais frequente nas capturas e apresentou 35,9% (14/25) de positividade à sorologia, mostrando uma alta exposição desta espécie à infecção por *Leptospira*, e dentre estes houve maior frequência de reatividade ao sorogrupo Icterohaemorrhagiae, com 35,71% (5/14), seguido do sorogrupo Gryppotyphosa com 28,57% (4/14) de positividade à sorologia, indicando contaminação ambiental por tais leptospiros e a possibilidade de exposição e infecção de humanos e animais domésticos para tais bactérias, ressaltando-se que novos estudos são necessários para uma melhor caracterização da leptospirose na área estudada.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço ao corpo técnico do Setor de Controle de Zoonoses da prefeitura municipal de Monte Mor, especialmente ao Paulo Milani Júnior e a Anna Karollina Menezes Teodoro.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, N.F.; MARTINS, G.; MEDEIROS, L.; LILEMBAUM, W.; RIBEIRO, V.M.F. The role of capybaras as carriers of leptospire in periurban and rural areas in the western Amazon. *Acta Tropica*, Basileira, v.169, p.57–61, 2017.

ALMEIDA, A.J.; TORQUETTI, C.G.; TALAMONI, S.A. Use of space by neotropical marsupial *Didelphis albiventris* (Didelphimorphia: Didelphidae) in an urban forest fragment. *Revista Brasileira de Zoologia*, São Paulo, v.25, n.2, p.214–219, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Leptospirose: Diagnóstico e Manejo Clínico. Brasília, 2014. 44p.

CORBO, M.; MACARRÃO, A.; PENTEADO, M.; MANZANI, P. Monte Mor: A vida às margens do Capivari. Vinhedo: Editora Avis Brasilis, 2012. 400p.

CUTOLO, A.A.; TEODORO, A.K.M; OVALLOS, F.G.; ALLEGRETTI, S.M.; GALATI, E.A.B. Sandflies (Diptera: Psychodidae) associated with opossum nests at urban sites in southeastern Brazil: a risk factor for urban and periurban zoonotic *Leishmania* transmission? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.109, n.3, p.391-393, 2014.

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

FRATINI, F.; TURCHI, B.; EBANI, V.V.; BERTELLONI, F.; GALIERO, A.; CERRI, D. The presence of *Leptospira* in coypus (*Myocastor coypus*) and rats (*Rattus norvegicus*) living in a protected wetland in Tuscany (Italy). *Veterinarski Arhiv*, Zagreb, v.85, n.4, p.407-414, 2015.

HORTA, M.C.; RAGOZO, A.M.A.; CASAGRANDE, R.A.; MATUSHIMA, E.R.; SOUZA, G.O.; MORAIS, Z.M.; VASCONCELLOS, S.A.; GENNARI, S.M. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leptospira* spp. antibodies in opossums (*Didelphis* spp.) in São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v.53, n.3, p.1-9, 2016.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estado de São Paulo. Disponível em: <<http://www.ibge.com.br>>. Acesso em: 5 set. 2019.

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

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Paris, v.43, n.1, p.1-9, 2013.

SIFESP, Sistema de Informações Florestais do Estado de São Paulo - Inventário Florestal do Estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.iflorestal.sp.gov.br/sifesp/inventario.html>. Acesso em 30 set. 2019.

SILVA, F.J.; SILVA, T.R.; SILVA, G.C.P.; SANTOS, C.E.P.; ALVES JÚNIOR, J.R.F.; MATHIAS, L.A. Isolation of *Leptospira borgpetersenii* in synanthropic *Didelphis albiventris* in Jaboticabal, São Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 50, n.6, p.457-461, 2013.

TALAMONI, S.A.; DIAS, M.M.1999. Population and community ecology of small mammals in southeastern Brazil. *Mammalia*, Paris, v.63, n.2, p.167-181, 1999.

VERMA, A.; STEVENSON, B.; ADLER, B. Leptospirosis in horses. *Veterinary Microbiology*, Amsterdam, v.167, p.61–66, 2013.

VIEIRA, A.S.; PINTO, P.S.; LILEMBAUM, W. A systematic review of leptospirosis on wild animals in Latin America. *Tropical Animal Health Production*, Edimburgo, v.50, p.229-238, 2018.

WHO. World Health Organization. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. 109p, 2003.

Tabela 1. Frequência absoluta de animais reagentes e não reagentes ao MAT e prevalência de sororeagentes em mamíferos silvestres de área antrópica do município de Monte Mor, São Paulo, Brasil.

Espécie	R	NR	Total	Prevalência	IC
<i>Didelphis albiventris</i>	14	25	39	35,90%	21-51%
<i>Sphiggurus villosus</i>	0	4	4	0%	-
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	1	0	1	100%	-
<i>Myocastor coypu</i>	1	0	1	100%	-

IC: Intervalo de Confiança; R: Reagente ao MAT; NR: Não Reagente ao MAT.

Tabela 2. Espécies (genomoespécies), sorogrupos e sorovares dominantes, número de animais reagentes e títulos de anticorpos detectados por aglutinação microscópica (MAT) em soros de mamíferos silvestres de área antrópica do município de Monte Mor, SP, Brasil.

Hospedeiro	Espécie	Sorogrupo	Sorovar Dominante	n	Títulos		
					100	200	400
<i>D. albiventris</i>	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	5	2	2	1
	<i>L. kirshneri</i>	Grippothyphosa	Grippothyphosa	4	4		
	<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	2		2	
	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi	1		1	
	<i>L. biflexa</i>	Andamana	Andamana	1		1	
	<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	1	1		
	<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1		1	
	<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	1		1	
	<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	1	1		
	<i>L. kirshneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	1	1		
<i>M. coypus</i>	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	1	1		
	<i>L. kirshneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	1	1		
<i>H. hidrochaeris</i>	<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	1	1		
	<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	1	1		
	<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Sejroe	1	1		
4 genomoespécies		11 sorogrupos	12 sorovares	23	14	8	1

*Reagente com mesmo título a pelo menos dois sorovares de sorogrupos distintos (Gambás, títulos: 100 Djasiman/ Grippotyphosa; 100 Canicola/Cynopteri/Grippytyphosa; 200 Icterohaemorrhagiae/Pyrogenes; Ratão do banhado: título 100 Icterohaemorrhagiae/ Cynopteri; Capivara: título 100 Canicola/Pomona/Sejroe)