

RICARDO PINHO GOMEZ LOPEZ

Avaliação sanitária de animais silvestres de produção abatidos em abatedouro

São Paulo

2009

RICARDO PINHO GOMEZ LOPEZ

Avaliação sanitária de animais silvestres de produção abatidos em abatedouro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de Concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto

São Paulo

2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T 2230
FMVZ

Lopez, Ricardo Pinho Gomez
Avaliação sanitária de animais silvestres de produção abatidos em abatedouro /
Ricardo Pinho Gomez Lopes. -- 2009.
74 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2010.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto.

1. *Hydrochaeris hydrochaeris*. 2. *Agouti paca*. 3. *Tayassu tajacu*. 4. *Tayassu pecari*. 5. Zoonoses. I. Título.



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação epidemiológica de animais silvestres e exóticos de produção a partir de abatedouro", protocolado sob o nº1276/2007, animais abatidos no período de 11/2007 a 10/2008 (queixada, cateto, capivara e javali), sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado na reunião do dia 20 de fevereiro de 2008.

We certify that the Research "Epidemiologic evaluation of wild and exotic production animals from slaughterhouse", protocol number 1276/2007, under the responsibility Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo was approved in the meeting of day 02/20/08.

São Paulo, 21 de fevereiro de 2008

Prof. Dra Denise Tabacchi Fantoni
Vice-Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética - FMVZ/USP
SP, ____/____/____

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: LOPEZ, Ricardo Pinho Gomez

Título: **Avaliação sanitária de animais silvestres de produção abatidos em abatedouro.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

*“O teu êxito depende muitas vezes do êxito das pessoas que te rodeiam”
Benjamin Franklin*

Dedicatória

A Juan e Lucila

*Exemplos de força e caráter
Expresso minha gratidão e todo meu amor
A vocês dedico mais essa etapa*

Agradecimentos

Ao meu pai e minha mãe pelo apoio incondicional e ensinamentos ao longo desse tempo. Mostraram-me os caminhos possíveis, devo a vocês o que sou hoje.

Ao meu irmão e amigo, Rodrigo, caminhamos juntos e você nunca mediu esforços para me ajudar, espero um dia poder retribuir.

Aos meus avós Antônio e Carmen, que sobreviveram à Guerra, à nova terra e aos netos. Obrigado pelas orações.

A Amane minha companheira em todos os momentos, não há palavras para descrever a sua importância na minha vida.

Ao meu orientador, Professor José Soares Ferreira Neto, pela oportunidade, paciência e conhecimentos.

Ao Professor Silvío A. Vasconcellos, pelos conselhos, apoio e colaboração no projeto.

Ao Professor Odir Dellagostin e à Fabiana Kömmling pela participação no projeto, sequenciando os isolados de leptospiros.

À Sandra Helena, obrigado pela confiança, sem você eu não teria tido essa oportunidade.

Ao Gonzalo, “o dono dos bichos”, amigo e parceiro de estrada em busca desses incríveis animais.

A TSI (Tropical Sustainability Institute) pela doação dos materiais biológicos e tornar esse projeto viável.

À Zenaide e Gisele pela imensa colaboração no projeto e pelos momentos de alegria e descontração que tivemos, mesmo após horas a fio de trabalho nos dias de colheita.

À Jucélia, sempre disposta a estender a mão.

À Tânia e Vivianne parceiras de projeto e grandes amigas.

À Flávia Morato pela amizade e por tornar nossos dias mais alegres.

À todos os estagiários que de alguma forma ajudaram no projeto.

RESUMO

LOPEZ, R. P. G. **Avaliação sanitária de animais silvestres de produção abatidos em abatedouro.** [Sanitary evaluation of commercially produced wild animals slaughtered in abattoir]. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Muitas espécies de mamíferos selvagens são criadas para produção de carne. No Brasil, a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), a paca (*Agouti paca*), o cateto (*Tayassu tajacu*) e a queixada (*Tayassu pecari*) são criadas comercialmente para este fim, porém são escassas as informações sanitárias a respeito dessas espécies. Assim, o presente estudo teve por objetivo estudar a presença de infecção causada por leptospiros, micobactérias, brucelas e *Erysipelothrix* spp. em 138 animais dessas quatro espécies, provenientes de nove criadouros e abatidos em estabelecimento com Serviço de Inspeção Federal. Nenhum animal apresentou anticorpos séricos contra brucelas lisas. As capivaras apresentaram a maior frequência de animais sorologicamente reagentes para leptospiros (54,5%), seguidas das queixadas (39%) e dos catetos (21,7%). O sorovar mais provável mais freqüente para as espécies estudadas foi o Grippotyphosa, seguido do Hardjobovis e do Tarassovi. Das capivaras foram isolados *Leptospira santarosai* a partir de rim e *Mycobacterium xenopi* a partir de linfonodo mesentérico. Das queixadas foi isolado *Erysipelothrix rhusiopathiae* a partir de tonsila. Segundo os bancos de dados Scopus, Pubmed e Cab Abstracts (Ovid), trata-se dos primeiros relatos de isolamento de *M. xenopi* em capivara e de *E. rhusiopathiae* em queixada.

Palavras-chave:

Hydrochaeris hydrochaeris. *Agouti paca*. *Tayassu tajacu*. *Tayassu pecari*. Zoonoses.

ABSTRACT

LOPEZ, R. P. G. **Sanitary evaluation of commercially produced wild animals slaughtered in abattoir.** [Avaliação sanitária de animais silvestres de produção abatidos em abatedouro]. 2009. 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Many species of wild mammals are raised for meat production. In Brazil, the capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), paca (*Agouti paca*), collared peccary (*Tayassu tajacu*) and the white-lipped peccary (*Tayassu pecari*) are commercially bred, however there is limited sanitary information related to these species. This study aimed to search for the presence of infection caused by *Leptospira* spp., *Mycobacteria* spp., *Brucella* spp. and *Erysipelothrix* spp. in 138 animals belonging to those species, coming from nine commercial breeders and slaughtered under the Federal Inspection Service. None of these animals presented antibodies against smooth brucellas. The capybaras showed the highest frequency of seropositive animals for leptospirosis (54.4%), followed by the white-lipped peccaries (39%) and the collared peccaries (21.7%). The most frequent serovar was Grippotyphosa, followed by Hardjobovis and Tarassovi. *Leptospira santarosai* was isolated from the kidneys and *Mycobacterium xenopi* from the mesenteric lymph nodes of the examined capybaras. *Erysipelothrix rhusiopathiae* was isolated from the tonsils of one white-lipped peccary. According to the data banks Scopus, Pubmed e Cab Abstracts (Ovid), this is the first report of *M. xenopi* isolation from capybara and of *E. rhusiopathiae* from white-lipped peccary.

Keywords:

Hydrochaeris hydrochaeris. *Agouti paca*. *Tayassu tajacu*. *Tayassu pecari*. Zoonosis. Brazil.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Municípios de origem dos criadouros dos animais amostrados. São Paulo - 2009 25
- Figura 2 - Espécies de animais silvestres estudadas: (A) *Tayassu pecari*, (B) *Tayassu tajacu*,
(C) *Hydrochaeris hydrochaeris* e (D) *Agouti paca* 26
- Figura 3 - Colônia de isolado BAAR em meio de cultura de Stonebrink-Leslie 46
- Figura 4 - Eletroforese em gel de agarose mostrando resultado de PCR realizada com os
primers Tb11 e Tb12 (TELENTI et al, 1993) em isolados BAAR de capivara,
identificando a amostra como pertencente ao Gênero *Mycobacterium*..... 47
- Figura 5 - Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 235, 120 e 85pb gerados
pela digestão do amplificado de 439 bp, específico do gênero *Mycobacterium*, pela
enzima de restrição BstEII (TELENTI et al, 1993), em isolado BAAR de capivara.. 47
- Figura 6 - Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 160, 105 e 60pb gerados
pela digestão do amplificado de 439 bp, específico do gênero *Mycobacterium*, pela
enzima de restrição HaeIII (TELENTI et al, 1993), em isolado BAAR de capivara.. 48
- Figura 7 - Cultivo de 48 horas de *Erysipelothrix* sp. em ágar sangue ázida 49
- Figura 8 - Produção H₂S em ágar TSI por amostra de *Erysipelothrix* sp..... 49
- Figura 9 - Eletroforese em gel de agarose mostrando amplificação dos fragmentos de DNA de
407pb (*Erysipelothrix* sp.) e 937pb (*E. rhusiopathiae*). As colunas de 1 a 5
representam colônias do mesmo isolado. As colunas 6 e 7 referem-se,
respectivamente, ao controle positivo e negativo..... 50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Antígenos utilizados na soroprecipitação microscópica para a pesquisa de aglutininas antileptospiras	29
Quadro 2 - Isolados brasileiros de <i>Leptospira</i> sp utilizados como antígenos na soroprecipitação microscópica para a pesquisa de aglutininas antileptospiras.....	30
Quadro 3 - “Primers” utilizados para detecção simultânea de gênero e espécie - São Paulo - 2009	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados dos exames laboratoriais segundo a espécie animal, sexo, procedência e tipo de criação - São Paulo - 2009.....	37
Tabela 2 - Frequência de soropositivos para qualquer sorovar de <i>Leptospira</i> sp, segundo as espécies animais e a origem - São Paulo - 2009.....	43
Tabela 3 - Valores de p resultantes da comparação entre as proporções de capivaras soropositivas para qualquer sorovar de <i>Leptospira</i> sp, segundo a origem - São Paulo - 2009.....	43
Tabela 4 - Frequência de soropositivos para qualquer sorovar de <i>Leptospira</i> sp, segundo os locais de procedência dos animais - São Paulo - 2009	44
Tabela 5 - Valores de p resultantes da comparação entre as proporções de animais soropositivos para qualquer sorovar de <i>Leptospira</i> sp, segundo as suas procedências - São Paulo - 2009	44
Tabela 6 - Sorovares mais prováveis de <i>Leptospira</i> sp, segundo as espécies de animais amostradas e suas procedências - São Paulo - 2009	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1 CRIAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRES	17
3.2 CAPIVARA E PACA	18
3.3 CATETO E QUEIXADA	19
3.4 LEPTOSPIROSE.....	19
3.5 BRUCELOSE.....	21
3.6 TUBERCULOSE.....	22
4 MATERIAL E MÉTODO	25
4.1 ANIMAIS	25
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES.....	26
4.3 COLHEITA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS.....	27
4.4 EXAMES LABORATORIAIS.....	28
4.4.1 Exames sorológicos	28
4.4.1.1 Pesquisa de anticorpos contra <i>Brucella</i> spp.....	28
4.4.1.2 Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras.....	29
4.4.2 Isolamento e/ou detecção bacteriana	30
4.4.2.1 Tentativa de isolamento de <i>Leptospira</i> spp.....	30
4.4.2.2 Tentativa de isolamento de <i>Mycobacterium</i> spp.....	32
4.4.2.3 Tentativa de isolamento de <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	32
4.4.2.3.1 Extração do DNA bacteriano	33
4.4.2.3.2 Amplificação do DNA.....	34
4.4.2.3.3 Detecção do produto de amplificação.....	34
4.4.2.3.4 Sorotipagem.....	35
4.5 TRATAMENTO DOS DADOS	35
5 RESULTADOS	36
6 DISCUSSÃO	51
6.1 BRUCELOSE.....	51
6.2 LEPTOSPIROSE.....	52
6.3 TUBERCULOSE.....	55
6.4 ERISPELA	56
7 CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS	59

1 INTRODUÇÃO

A demanda por espécies de animais não convencionais para o suprimento de proteína animal é crescente (FÉRON, 1995). No Brasil, assim como em muitos países da América do Sul, a fauna silvestre é uma importante fonte de proteína animal. Entretanto, existe uma tendência internacional de boicote aos produtos oriundos de caça, aumentando assim o interesse pela criação racional de animais silvestres para fins comerciais (PAIVA, 1992).

A regularização de criadouros comerciais da fauna autóctone brasileira e do comércio de seus produtos e subprodutos, realizados pelo Ministério do Meio Ambiente, ocorreu respectivamente, com as Portarias nº. 118-N e 117 de 15 de outubro de 1997. Diante disso, a criação comercial de animais silvestres tem se tornado uma alternativa para a diversificação das atividades da propriedade rural, pois além de ter finalidade econômica e baixo custo de manutenção, espécies como a capivara, paca, cateto, e queixada possuem elevado potencial zootécnico e seus produtos têm grande valor de mercado. O plantel inicial pode ser formado por matrizes adquiridas em criadouro comercial cadastrado ou podem ser efetuadas capturas de animais na natureza (MMA, 1997).

A capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e a paca (*Agouti paca*) pertencem a Ordem Rodentia, a maior ordem dos mamíferos, com aproximadamente 1700 espécies (CLARK; OLFERT, 1986). O cateto e a queixada são Suiformes pertencentes à Ordem Artiodactyla (Família Tayassuidae), na natureza formam grandes grupos que podem exceder 200 animais. Os taiassuídeos ocorrem desde o sul dos Estados Unidos até o sul do Uruguai, habitando uma grande variedade de biomas (SOWLS, 1997). Inúmeros estudos relataram que essas espécies podem infectar-se por diversos agentes, inclusive zoonóticos, muitas vezes desempenhando o papel de reservatórios silvestres (MCDIARMID, 1962; LORD; FLORES, 1983; LORD; LORD, 1991; CORN et al., 1987; MARVULO et al., 2009).

Frente a essa situação de expansão e regularização do mercado de carnes silvestres, o monitoramento da saúde dessas populações faz-se necessário, uma vez que não existem dados suficientes para a elaboração e adoção de qualquer tipo de manejo sanitário preventivo na criação dessas espécies. Portanto, as informações geradas em abatedouro tornam-se uma importante ferramenta para se fazer uma avaliação inicial e descritiva da situação sanitária desses animais.

Sendo a leptospirose, a brucelose, a tuberculose e a erisipelose doenças de caráter zoonótico que afetam a economia em praticamente todos os continentes (FREITAS et al., 1957; ACHA; SZYFRES, 1986; HORSCH, 1999; WOOD, 2000), o presente estudo investigou a presença desses quatro agentes em capivaras, pacas, queixadas e catetos abatidos em estabelecimento com Inspeção Federal do estado de São Paulo.

2 OBJETIVOS

Nesta seção são descritos o objetivo geral e os objetivos específicos deste estudo.

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a presença de infecção causada por *Leptospira* spp., *Mycobacteria* spp., *Brucella* spp. e *Erysipelothrix* spp. em capivaras, pacas, queixadas e catetos criados comercialmente para produção de carne e abatidos em estabelecimento com Serviço de Inspeção Federal (SIF) do Estado de São Paulo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a ocorrência de aglutininas antileptospiras e antibrucélicas em capivaras, pacas, catetos e queixadas.
- Realizar tentativa de isolamento de leptospiras a partir de amostras de rins e urina de capivaras, queixadas e catetos.
- Realizar tentativa de isolamento de micobactérias a partir de linfonodos mesentéricos de capivaras, queixadas e catetos.
- Realizar tentativa de isolamento de *Erysipelothrix* spp. a partir de tonsilas de catetos e queixadas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Nesta seção é feita uma breve revisão sobre as espécies silvestres e os agentes patogênicos abordados nesse estudo.

3.1 CRIAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRES

A regularização da criação e comercialização de animais silvestres foi estabelecida com as Portarias do Ministério do Meio Ambiente nº 117 e 118-N, ambas criadas em 15 de outubro de 1997. A Portaria nº 117 normatiza a comercialização de animais vivos, abatidos, partes e produtos da fauna silvestre brasileira provenientes de criadouros devidamente registrados junto ao IBAMA, com finalidade econômica e industrial. Já a Portaria nº 118-N regulamenta os criadouros com finalidade econômica e industrial de animais da fauna autóctone brasileira ou de animais exóticos, excetuando-se peixes, invertebrados aquáticos, Jacaré-do-Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*), Tartaruga-da-Amazônia (*Podocnemys expansa*), Tracajá (*P. unifilis*), insetos (ordem Lepidoptera) e outras tratadas em portarias específicas. De acordo com essa legislação, a formação do plantel inicial pode ser realizada com animais oriundos de estabelecimento regularizado junto ao IBAMA ou com animais capturados na natureza.

O cateto (*Tayassu tajacu*), a queixada, (*Tayassu pecari*), a paca (*Agouti paca*) e a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) estão entre as espécies mais caçadas na América Latina (REDFORD; ROBINSON, 1991; MOREIRA; MACDONALD, 1997), porém se adaptam bem às condições de criação, fornecendo, além da carne, couro de alta qualidade que é utilizado para fabricação de artigos de luxo como calçados finos, luvas e casacos (SOWLS, 1997).

Segundo Pinheiro et al. (2005), a criação comercial de animais silvestre pode contribuir para a diminuição do uso ilegal de fauna silvestre e para a conservação dessas espécies. Essa atividade também representa uma alternativa econômica, em bases sustentáveis, para pequenas e médias propriedades rurais. De acordo com dados do IBAMA (2003), existem aproximadamente 585 criadouros comerciais registrado, sendo que 26% estão

localizados na região Sul, 25% na região centro-oeste, 20% na região Norte, 15% no Sudeste e 14% no Nordeste.

3.2 CAPIVARA E PACA

A capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e a paca (*Agouti paca*) pertencem à ordem Rodentia, a maior dos mamíferos, possuindo aproximadamente 1.700 espécies, o que representa mais da metade do total de espécies dos mamíferos (CLARK; OLFERT, 1986).

A capivara é o maior roedor do mundo, podendo chegar a 60 kg. É uma espécie altamente prolífera, pois as fêmeas podem se reproduzir duas vezes por ano, gerando, em média quatro filhotes por gestação (CUETO et al. 2000). Dentre os animais da fauna silvestre brasileira, a capivara é a espécie mais criada (PINHEIRO et al., 2005), podendo ocupar criações em áreas úmidas do cerrado, com tecnologia adaptada às condições do agricultor familiar, gerando a possibilidade de renda, sem alterar a biodiversidade regional (AGROTEC, 2005). É um animal rústico que tem como maiores causas de morte em populações de vida livre não as doenças, mas sim a predação e a desnutrição (GONZÁLEZ-JIMÉNEZ, 1995). Nas criações com intuito zootécnico e manejo adequado, a ocorrência de doenças é baixa (NOGUEIRA; CRUZ, 2007). A carne de capivara é considerada saudável pelo baixo teor de gordura e pela composição dessa fração lipídica (FUKUSHIMA et al., 1997). As partes nobres, como pernil e lombo, já são comercializadas regularmente em alguns pontos específicos de venda, principalmente nas grandes cidades, porém apresentam preço elevado. Além da carne, o interesse comercial pela capivara concentra-se na sua pele bastante elástica, resistente e suave, sendo ótima para a fabricação de luvas, bolsas e calçados (GONZALEZ–JIMENEZ, 1995).

A paca (*Agouti paca*) é um roedor originário da América do Sul com área de distribuição desde o sudeste mexicano até o nordeste Argentino (EISENBERG; REDFORD, 1989; PÉREZ, 1992). São animais com hábitos noturnos, que podem chegar a 10 kg de peso. Os machos medem aproximadamente, de 60 a 80 cm, enquanto que as fêmeas medem de 55 a 70 cm (MONDOLFI, 1972; BENTTI, 1981). As pacas podem ser criadas em cativeiro visando à produção de carne, que apresenta sabor característico e é bastante apreciada (PÉREZ, 1992).

3.3 CATETO E QUEIXADA

Pertencentes à ordem Artiodactyla, o cateto (*Tayassu tajacu*) e a queixada (*Tayassu pecari*) são Suiformes da família Tayassuidae. O pecari do chaco (*Catagonus wagneri*) é o terceiro representante dessa família, porém essa espécie não ocorre em território brasileiro, localizando-se no Paraguai e norte da Argentina.

Os taitaçuídeos apresentam características físicas e comportamentais similares aos suídeos selvagens do Velho Mundo (SOWLS, 1997). Entretanto, de acordo com Simpson (1980), apesar de serem muitas vezes reconhecidos como suínos esses dois grupos estão separados por 10 milhões de anos, sendo que os suínos verdadeiros nunca viveram no hemisfério ocidental, exceto após a introdução pelos colonizadores europeus.

Em relação à morfologia externa das três espécies de taitaçuídeos, o cateto é a menor, e a queixada é a maior (SOWLS, 1997), podendo chegar a 38 kg, segundo estudo com animais de vida livre (MAYER; BRANDT, 1982). O cateto apresentou média de peso de 25,2 kg em estudo na Amazônia Peruana (BODMER, 1989).

Geograficamente o cateto apresenta uma das maiores distribuições dentre as espécies de ungulados selvagens. Está distribuído em uma área que abrange o sul do Arizona, nos Estados Unidos, e se estende ao norte do Uruguai. A espécie é adaptada a uma grande variedade de vegetações e de condições climáticas. A queixada possui um território um pouco mais restrito que o cateto, distribuindo-se do sul do México ao norte da Argentina, principalmente em áreas de floresta úmida (SOWLS, 1997).

Os taitaçuídeos de vida livre e principalmente as queixadas formam grandes grupos que podem exceder 200 indivíduos (FRAGOSO, 1994). Na natureza, esses animais possuem uma dieta com uma grande variedade de itens vegetais, como cactos, raízes, frutos e folhagens, sendo reconhecidos como predadores e dispersores de sementes. A queixada pode ainda se alimentar de animais mortos, répteis, rãs, ovos de pássaros e répteis (SOWLS, 1997).

3.4 LEPTOSPIROSE

A leptospirose é uma doença ou infecção de caráter zoonótico de curso agudo ou crônico, que afeta diversas espécies de animais domésticos, silvestres e os seres humanos,

assumindo considerável importância como problema econômico e de saúde pública (FAINE et al., 1999), além de ser considerada a zoonose com a maior distribuição mundial (WHO, 1999).

O agente etiológico da leptospirose é uma bactéria pertencente à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae, e gênero *Leptospira*.

As leptospiras são classificadas por métodos sorológicos e moleculares. Na classificação sorológica as leptospiras são subdivididas em duas espécies, sendo que a *Leptospira interrogans* compreende as estirpes patogênicas e a *Leptospira biflexa*, reúne as estirpes de leptospiras saprófitas (FAINE et al., 1999; AHMED et al., 2006). Nesta classificação com base nas características dos antígenos do envelope externo de natureza lipopolissacarídea foram estabelecidos os sorogrupos e sorovares de leptospiras patogênicas e saprófitas, sendo estes a unidade taxonômica do gênero (FAINE et al., 1994; LEVETT, 2001).

Com o advento dos métodos que comparam a homologia do DNA, a classificação antigênica das leptospiras tem sido substituída pela genômica, onde o gênero *Leptospira* foi dividido em 17 genomoespécies (YASUDA et al., 1987; LEVETT, 2001; AHMED et al., 2006).

O diagnóstico da leptospirose pode ser realizado por métodos laboratoriais baseados na detecção de anticorpos ou na detecção direta do agente ou do material genético do mesmo na urina ou nos tecidos. Em relação às técnicas de detecção de anticorpos, a prova de soroaglutinação microscópica (SAM) é o método preconizado pela Organização Mundial de Saúde (SANTA ROSA, 1970; FAINE, 1999). Esse método baseia-se na reação entre antígenos de composição lipopolissacarídica presentes na superfície das leptospiras e os respectivos anticorpos.

O isolamento do agente é o método de diagnóstico definitivo da leptospirose, pois com este torna-se possível a identificação do sorovar infectante com possibilidade de estudos epidemiológicos e profiláticos (VASCONCELLOS, 1987; FAINE et al., 1999).

A ocorrência de leptospirose animal está diretamente relacionada às condições epidemiológicas, dependendo, principalmente, da população de reservatórios silvestres e da população de animais susceptíveis, ou seja, animais não vacinados e expostos a um meio ambiente contaminado (ELLIS, 1984). O componente ambiental exerce grande influência na incidência da leptospirose, pois esta é significativamente mais alta em países de clima tropical do que em países de clima temperado, devido à maior sobrevivência das leptospiras em ambiente quente e úmido (LEVETT, 2001).

Segundo Radostits et al. (2002), os sorovares de leptospiras são mantidos no ambiente por hospedeiros naturais adaptados a esses sorovares, portanto a epidemiologia da leptospirose para uma região específica pode ser caracterizada por uma alta frequência de infecção por sorovares adaptados a determinadas espécies domésticas e baixa frequência de infecção por sorovares adaptados a outras espécies, dando origem a infecções acidentais (HATHAWAY, 1981). Os hospedeiros de manutenção dos sorovares Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippytyphosa são, respectivamente, bovinos e bubalinos, suínos, roedores sinantrópicos, caninos e roedores silvestres e marsupiais.

Estudos sorológicos já relataram a reatividade de catetos e queixadas a uma grande variedade de sorovares (CORN et al., 1987; MENDOZA et al., 2007), porém a capivara parece representar papel mais importante na epidemiologia da leptospirose (VASCONCELLOS, 1987; ITO et al., 1998; MARVULO et al., 2009).

3.5 BRUCELOSE

A brucelose é uma zoonose de evolução crônica, causada por uma bactéria intracelular facultativa, gram-positiva pertencente ao gênero *Brucella* spp. Está incluída na lista de doenças da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), ou seja, é uma doença de importância sócio-econômica e de saúde pública que pode ter impacto significativo no comércio internacional de animais e de seus subprodutos (PAULIN; FERREIRA NETO, 2003; OIE, 2004).

O gênero *Brucella* compreende seis espécies: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* e *B. canis* (BRINLEY-MORGAN; MCCULLOUGH 1974; ALTON et al., 1975), sendo que as três primeiras são divididas em 8, 3 e 5 biovares, respectivamente. Em cultivos primários a morfologia colonial pode apresentar-se lisa ou rugosa. Essa morfologia está diretamente associada à composição bioquímica do lipopolissacarídeo da parede celular, e para algumas espécies tem relação com a virulência. A *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis* normalmente apresentam uma morfologia de colônia do tipo lisa e, quando evoluem para formas rugosas ou mucóides, deixam de ser patogênicas (PNCEBT, 2006).

O Teste de Antígeno Acidificado Tamponado é o método de triagem para o diagnóstico da brucelose bovina preconizado pelo Programa Nacional de Controle e

Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT, 2006), porém apesar de não existir padronização para o diagnóstico em animais silvestres, o teste tem sido utilizado em diversos estudos com esses animais (CORN et al., 1987; LORD; LORD, 1991; MANGINI et al., 1998; NAVA, 2008).

A brucelose tem sido detectada em diversos animais silvestres (MOORE; SCHNURNENBERGER, 1981; WITTER, 1982; GANIN-BASTUJI et al., 1990), porém permanece incerto se realmente os animais selvagens atuam como reservatórios da doença apesar da detecção direta e indireta de *Brucella* spp ter ocorrido em muitos países, (SZYFRES; TOME, 1966; DAVIS et al., 1979; DE LA VEGA et al., 1979; BOER et al., 1980).

Em estudo na Venezuela com catetos de vida livre, Lord e Lord (1991) isolaram *Brucella suis* a partir de 43 amostras de tecido hepático e linfonodos de 139 animais estudados. Os testes sorológicos incluindo 2-mercaptoetanol e fixação do complemento mostraram reatividade no soro de 122 animais. Segundo os autores os catetos tinham acesso à mesma área na qual gado bovino era criado.

Nos Estados Unidos, estudos relataram a ausência de anticorpos contra *Brucella* spp no soro desses animais. Woods et al. (1968), examinou o soro de 20 catetos no Novo México, os quais se mostraram negativos. Corn et al. (1987) avaliou o soro de 194 catetos no Arizona, não encontrando anticorpos reagentes para *Brucella* sp. No Texas o mesmo resultado foi verificado em estudo com 47 catetos de vida livre (GRUVER; GUTHRIE, 1996).

3.6 TUBERCULOSE

A tuberculose é uma zoonose infecto-contagiosa e acomete uma grande variedade de hospedeiros. As bactérias causadoras de tuberculose são bacilos álcool-ácido resistentes, microaerófilos e desprovidos de motilidade, cápsula e esporos. Pertencem à ordem Actinomycetales, família Mycobacteriaceae e gênero *Mycobacterium*, que compreende mais de 70 espécies. As principais espécies com importância epidemiológica são as micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, que inclui o *M. tuberculosis*, o *M. bovis*, o *M. microti*, o *M. africanum* e o *M. Canetti*, não patogênico para o homem (BIER, 1961; COLLINS; GRANGE, 1983; CORNER, 1994; GRANGE 1996; BROSCH et al., 2002).

O *M. bovis* possui uma das maiores cadeias de hospedeiros entre todos os patógenos existentes, com um complexo padrão epidemiológico, que envolve interações da infecção entre seres humanos, animais domésticos e animais selvagens (MORRIS et al., 1994). Apesar *M. bovis* ter um amplo espectro de patogenicidade para várias espécies domésticas e silvestres, (COUSINS et al., 1993; MORRIS et al., 1994; STETTER et al., 1995; MODA et al., 1996; COLEMAN, 1998), na maioria dos países, a tuberculose causada por esse agente é praticamente uma doença de bovinos e pode ser controlada por meio de estratégias de controle de teste-abate. Entretanto, uma vez a infecção afete espécies animais silvestres com potencial de manter a infecção, métodos convencionais não são mais suficientes para prover controle efetivo (MICHEL, 2002).

Em diversos países, inúmeros relatos da infecção por *Mycobacterium* sp. em animais silvestres, apontam essas espécies como reservatório da tuberculose (ALHAJI, 1969; EKDAHL et al., 1970; BARROW; GALLAGHER, 1981; ROSEMBERGER, 1983; THOEN et al., 1984; COUSINS et al., 1993; BARLOW, 1994; TWEDDLE; LIVINGSTONE, 1994; CHALMERS, et al., 1996; MODA et al., 1996; COLEMAN, 1998), Entretanto, devido a falta de estudos relacionados a tuberculose em capivara, paca, cateto e queixada de criação comercial, não há como implicar essas espécies como potenciais reservatórios da tuberculose. Países onde existem criações de outras espécies silvestres, como as de cervídeos, enfrentam grande desafio no controle da doença. Na Nova Zelândia, Dinamarca, e Reino Unido a tuberculose em cervos, causada pelo *M. bovis*, tornou-se uma doença de importância econômica e de saúde pública (CLIFTON-HADLEY; WILESMITH, 1991; LISS et al., 1994; O'REILLY; DABORN, 1995), fazendo com que esses países desenvolvessem programas de controle da tuberculose nessa espécie (O'REILLY; DABORN, 1995).

Em relação à profilaxia é importante que se classifique a espécie do agente etiológico, para que sejam adotadas medidas específicas de controle (CORRÊA; CORRÊA, 1992). O diagnóstico definitivo da tuberculose baseia-se no isolamento do agente, entretanto as técnicas bacteriológicas clássicas adotadas apresentam baixa sensibilidade devido à possível inativação de bacilos pelas técnicas de descontaminação, dificultando assim “o primo isolamento” (CORNER, 1994).

3.7 ERISIPELOSE

A erisipelose é uma zoonose causada pela bactéria *Erysipelothrix rhusiopathiae* que apresenta uma distribuição mundial e importância econômica na Europa, Ásia e nos continentes Americano e Australiano. A doença se manifesta por uma septicemia aguda, subaguda ou por lesões crônicas proliferativas (SNEATH, 1986; WOOD, 1999).

A *E. rhusiopathiae* é um bacilo gram-positivo, anaeróbio facultativo, com morfologia celular variável podendo gerar três colônias com diferentes morfologias, sendo lisa, intermediária ou rugosa. A bactéria apresenta determinada estrutura antigênica de parede celular, o que possibilita a identificação de diversos sorotipos. Para um microorganismo não formador de esporos, a *E. rhusiopathiae* é relativamente resistente. O agente pode resistir à dessecação, ao congelamento e em carcaças em decomposição e, com temperaturas abaixo de 12°C, a bactéria pode persistir em fezes de suínos por um período de até seis meses (WOOD, 1999).

O suíno doméstico é considerado o principal reservatório da *E. rhusiopathiae*, a qual se instala nas tonsilas e outros tecidos linfóides do animal, porém uma grande variedade de animais selvagens e pássaros mantêm a bactéria, atuando como reservatório do agente (SHUMAN, 1971; WOOD; SHUMAN, 1981).

Estudos com suínos domésticos mostraram que pode ocorrer variação na suscetibilidade à doença quando os animais são expostos a fatores estressantes como mudanças repentinas na nutrição, alterações bruscas de temperatura e fadiga.

A *E. rhusiopathiae* infecta o hospedeiro através de alimento e água contaminados. Apesar de haver colonização rápida das tonsilas e outros tecidos linfóides, não há estudos que confirmem a habilidade da bactéria em invadir a mucosa oral ou em quais áreas específicas do trato digestivo o agente pode invadir o organismo. As tonsilas são reconhecidamente os locais de preferência para o isolamento da bactéria em suínos aparentemente saudáveis, embora o agente tenha sido isolado a partir de intestino, articulações e outros linfonodos de animais sem sinais de erisipela (MURASE; EBI, 1960). A infecção natural pode ocorrer a partir de lesões na pele que podem ser ocultadas ou muito pequenas para uma rápida detecção (WOOD, 1999).

4 MATERIAL E MÉTODO

Nesta seção são descritas as espécies estudadas e suas procedências, bem como os métodos de diagnósticos empregados.

4.1 ANIMAIS

Foram coletadas amostras de 138 animais, provenientes de nove criadouros comerciais registrados junto ao Ibama (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), localizados nos estados de Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (Figura 1), sendo 24 pacas, 55 capivaras, 23 catetos e 36 queixadas (Figura 1 e 2). Esses animais foram abatidos em um abatedouro do Estado de São Paulo com Serviço de Inspeção Federal (SIF). As colheitas ocorreram no período de agosto de 2007 a janeiro de 2009.

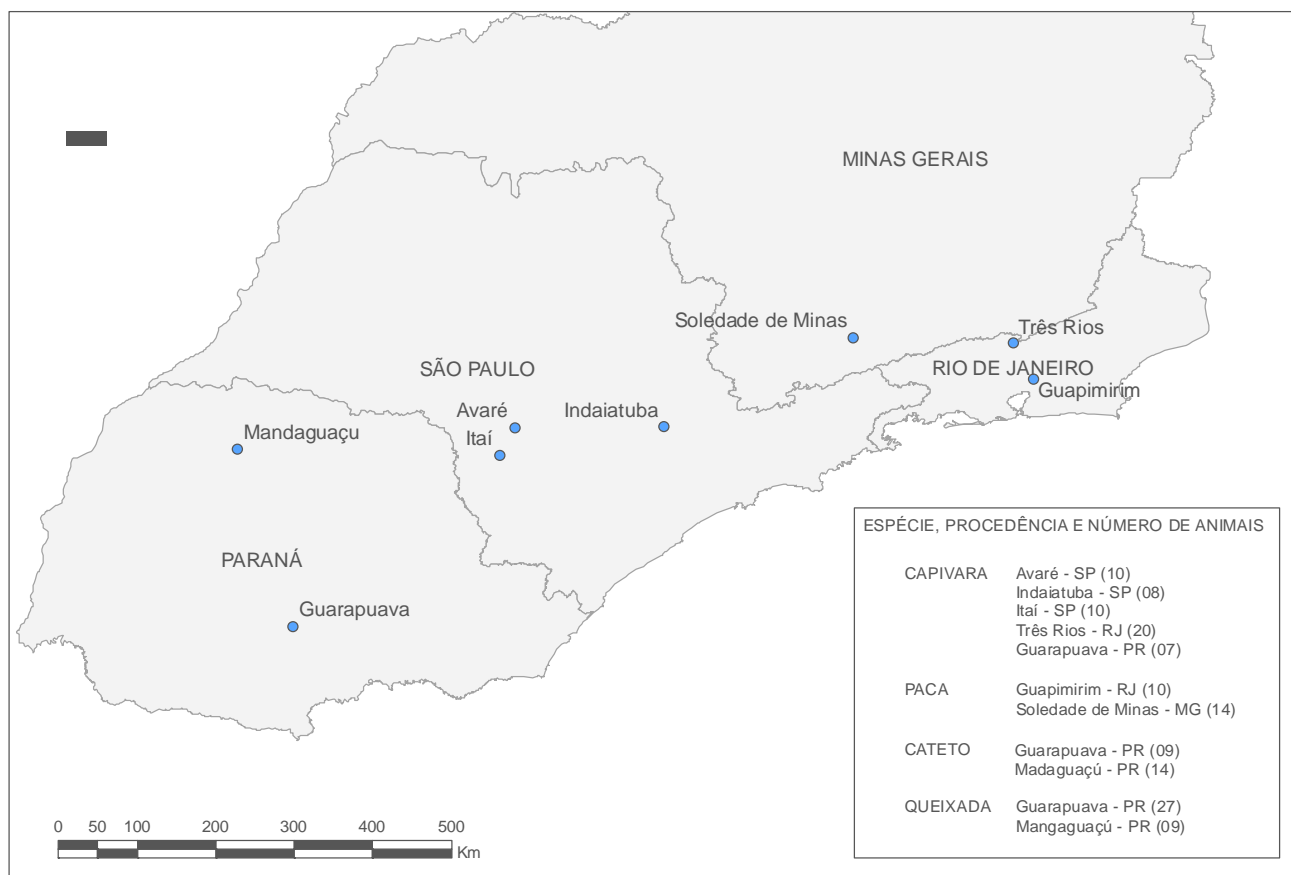


Figura 1– Municípios de origem dos criadouros dos animais amostrados-São Paulo-2009



Figura 2 – Espécies de animais silvestres estudadas: (A) *Tayassu pecari*, (B) *Tayassu tajacu*, (C) *Hydrochaeris hydrochaeris* e (D) *Agouti paca*

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES

Devido à biologia de cada espécie e a legislação que normatiza os criadouros de animais silvestres com finalidade econômica e industrial, as criações amostradas apresentaram características semelhantes em relação ao sistema de produção, infra-estrutura e manejo dos animais.

As criações de paca caracterizam-se, principalmente, por sistema intensivo e densidade animal baixa. São criados separados em casais e, após o nascimento da cria, o macho é isolado até a desmama dos filhotes, época em que pode ocorrer nova cobertura. A dieta consiste em frutas, legumes e tubérculos. As pacas amostradas eram criadas em baias de aproximadamente 8m² com cobertura e piso de cimento.

Para diferenciação entre as propriedades do município de Guarapuava, a propriedade da qual foram amostrados os taiassuideos foi denominada Guarapuava-I e a fazenda da qual capivaras foram amostradas foi denominada Guarapuava-II.

As criações de capivara eram realizadas em sistema de semiconfinamento, em área com tanque de água e animais alimentados principalmente com volumoso. Apresentaram grande variação na densidade animal devido à alta prolificidade e escoamento irregular da

produção. Na propriedade Guarapuava-II, as capivaras e o gado bovino utilizavam mesma área de alimentação, porém não concomitantemente. Na criação de capivara de Três Rios (RJ), os animais apresentaram histórico de ocupação concomitante do mesmo espaço com equinos e após a separação dessas duas espécies, as capivaras passaram a dividir a mesma área com caprinos.

A propriedade Guarapuava-I foi caracterizada por área aberta com solo exposto, um fragmento de mata nativa e estrutura de manejo como piquetes e seringas. O sistema adotado na criação foi o semi-extensivo, na qual os catetos e queixadas eram separados por alambrado e a densidade animal era de aproximadamente 40 animais/ha. O principal item da dieta era o milho e esporadicamente aveia e cana de açúcar, fornecidos de acordo com a produção desses insumos na propriedade. Era também fornecido sal mineral. Os taiassuídeos oriundos da propriedade de Mandaguaçu eram criados em baias de 8m², sendo que cada baia abrigava aproximadamente oito animais. Em ambas as propriedades, os animais não tinham contato com cursos de água.

Os animais amostrados não receberam nenhum tipo de vacina.

4.3 COLHEITA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

Os materiais biológicos foram colhidos durante o abate em estabelecimento com SIF. Os materiais colhidos foram: sangue, urina, rim, linfonodo mesentérico e tonsila.

O sangue foi colhido no momento da sangria em tubo sem anticoagulante e mantido em temperatura ambiente para obtenção do soro, que foi mantido a -20°C até o momento dos testes sorológicos para leptospirose e brucelose.

A urina foi colhida por punção da vesícula urinária em seringa de 10mL contendo 5mL de salina tamponada de Sorensen. Os rins foram colhidos após a evisceração e mantidos com a cápsula renal íntegra para diminuição do risco de contaminação. Foram transportados até o laboratório sob refrigeração e imediatamente processados para a tentativa de isolamento de leptospiras.

Os fragmentos de linfonodos mesentéricos foram colhidos após a evisceração e as tonsilas após a retirada da cabeça. Essas amostras foram colocadas em sacos plásticos

individuais e transportadas até o laboratório sob temperatura de refrigeração, quando foram congeladas a -20°C até o momento da realização do diagnóstico direto para *Mycobacterium* spp (linfonodos mesentéricos) e *Erysipelothrix rhusiopathiae* (tonsilas).

Todas as amostras foram devidamente identificadas.

4.4 EXAMES LABORATORIAIS.

Nesta seção são descritos os métodos de diagnóstico utilizados.

4.4.1 Exames sorológicos

Todos os testes sorológicos foram realizados no Laboratório de Zoonoses Bacterianas da FMVZ-USP.

4.4.1.1 Pesquisa de anticorpos contra *Brucella* spp.

Foi realizado o teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), preconizado como teste de triagem pelo PNCEBT para a pesquisa de anticorpos contra *Brucella* spp. O antígeno é preparado com a amostra 1119/3 de *Brucella abortus* a uma concentração de 8%, tamponado em pH ácido (3,65) e corado com Rosa de Bengala. O antígeno foi cedido pelo Instituto Biológico para fins de pesquisa.

Para realização do teste os soros foram descongelados e homogeneizados a temperatura ambiente de aproximadamente 24°C . De acordo com o PNCEBT deve ser evitada temperatura fora da faixa de $22^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$. Foram adicionados 30 microlitros de soro e 30 microlitros do antígeno em uma placa de vidro com quadrados de quatro cm. A mistura soro/antígeno foi realizada com bastão de vidro e a placa foi agitada manualmente por 4 minutos. Após esse período realizou-se a leitura com a placa sobre a caixa de leitura contendo luz indireta. Os resultados foram interpretados através da presença (positivo) ou ausência (negativo) de grumos na mistura soro/antígeno.

4.4.1.2 Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras.

Foi utilizada a microtécnica de soroaglutinação microscópica – SAM – (GALTON et al., 1965; COLE et al., 1973) para mensuração dos níveis de aglutininas utilizando uma coleção de antígenos vivos que incluiu 36 variantes sorológicas, de acordo com o quadro 1 e 2. As culturas vivas de leptospiras foram mantidas em meio líquido de EMJH modificado (ALVES, 1995), com quatro a 14 dias de crescimento.

Os soros foram diluídos a 1:50 em solução salina tamponada de Sorensen. A reação foi efetuada em microplacas de poliestireno com 96 poços, utilizando-se um volume de 50 µL de soro diluído adicionado a 50 µL de antígeno, obtendo-se a diluição final da mistura soro/antígeno 1:100, sendo o ponto de corte da reação. Os soros positivos na triagem foram titulados em uma série de diluições geométricas de razão dois. A recíproca da maior diluição do soro que apresentou 50% de leptospiras aglutinadas foi considerada como o título do soro (MYERS, 1985). As placas foram incubadas em estufa a 28-30°C por três horas. As leituras foram realizadas em microscópio de campo escuro, no aumento de 100 vezes, observando-se a formação de aglutinação.

Sorogrupo	Sorovar	Sorogrupo	Sorovar
Australis	Australis	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
Australis	Bratislava	Javanica	Javanica
Autumnalis	Autumnalis	Panama	Panama
Autumnalis	Butembo	Pomona	Pomona
Ballum	Castellonis	Pyrogenes	Pyrogenes
Batavia	Bataviae	Sejroe	Hardjo (Hardjoprajitno)
Canicola	Canicola	Sejroe	Wolffi
Celledoni	Whitcombi	Sejroe	Hardjo (Hardjobovis)
Cynopteri	Cynopteri	Shermani	Shermani
Grippotyphosa	Grippotyphosa	Tarassovi	Tarassovi
Hebdomadis	Hebdomadis	Seramanga	Patoc
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	Sentot	Sentot
Mini	Mini		

Quadro 1 – Antígenos utilizados na soroaglutinação microscópica para a pesquisa de aglutininas antileptospiras

Número de identificação	Espécie de Origem	Tipificação (Sorovar)
4B	Gambá (<i>Didelphus marsupialis</i>)	Brasiliense
M7/87	Suíno (<i>Sus scrofa domestica</i>)	Pomona
M4/98	Bubalino (<i>Bubalus bubalis</i>)	Guaricura
M9/99	Rato (<i>Rattus norvegicus</i>)	Copenhageni
LO1	Canino (<i>Canis familiaris</i>)	Canicola
LO4	Suíno (<i>Sus scrofa domestica</i>)	Canicola
LO9	Bovino (<i>Bos taurus</i>)	Canicola
LO14	Bovino (<i>Bos taurus</i>)	Canicola
2A CAP	Capivara (<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>)	Bananal
21 CAP	Capivara (<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>)	Bananal
GR6	Suíno (<i>Sus scrofa domestica</i>)	Pomona

Quadro 2 – Isolados brasileiros de *Leptospira* sp utilizados como antígenos na soroaglutinação microscópica para a pesquisa de aglutininas antileptospiras

4.4.2 Isolamento e/ou detecção bacteriana

4.4.2.1 Tentativa de isolamento de *Leptospira* spp.

Foi realizado no Laboratório de Zoonoses Bacterianas da FMVZ-USP.

Os rins foram processados no mesmo dia da colheita para a tentativa de isolamento do agente. Após retirada da cápsula renal foi colhido aproximadamente 1g do tecido renal com pipeta Pauster estéril, suspensos em 9mL de salina de Sorensen e macerados em Stomacher 80², obtendo-se a diluição inicial 10⁻¹, a partir da qual foram preparadas duas diluições seriadas em escala geométrica de razão dez (10⁻² e 10⁻³). Cem microlitros por diluição foram semeados em meio semi-sólido de Fletcher (MYERS, 1985) e incubados em estufa a 28-30°C por seis semanas. Observações semanais (FAVERO et al,1997) foram realizadas para a verificação do anel de crescimento subsuperficial (Zona de Dinger) e a confirmação da presença de leptospiras foi efetuada por visualização em microscopia de campo escuro no aumento de 200 vezes.

No laboratório as amostras de urina foram semeadas utilizando a técnica de diluições seriadas na razão 10 (10-2 e 10-3), com inoculação 0,5mL da suspensão de cada diluição, em tubos contendo 5 mL de meio de Fletcher acrescido de 20mg/mL de ácido Nalidixic e incubadas a 28°C por 24 horas. Após as 24 horas de incubação, os tubos foram semeados em meio de Fletcher sem antibiótico, incubados a 28°C e examinados semanalmente em microscópio de campo escuro para observação de leptospiros durante seis semanas. Cada amostra de urina (0,5 mL) foi inoculada intraperitonealmente em hamsters (*Mesocricetus auratus*) machos jovens, com 60 a 80 gramas de peso vivo. Os hamsters foram observados diariamente a procura de sinais sugestivos de leptospirose durante um período de 21 dias consecutivos após a inoculação. Ao final deste período os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de gás carbônico (câmara de CO₂), e necropsiados para a colheita dos rins e realização dos cultivos destinados à isolamento de leptospiros. Amostras de sangue também foram colhidas para realização do teste de SAM.

A caracterização dos isolados foi realizada por método sorológico (anticorpos policlonais) e molecular (PCR), para determinação da espécie infectante.

Os isolados obtidos foram inicialmente identificados por meio do teste de SAM realizado com anti-soros policlonais de coelho para a identificação do sorogrupo mais provável (FAINE, 1982; WHO 2003). Foram utilizados anti-soros policlonais com os sorovares Australis, Bratislava, Autumnalis, Castellonis, Bataviae, Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjoprajitno, Wolfi, Patoc e Tarassovi, cedidos pelo Dr. Schonberg (Royal Tropical Institute, Holanda).

No Centro de Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas (RS), os isolados foram caracterizados molecularmente. Para a extração do DNA, as leptospiros foram centrifugadas a 12.000 rpm por 20 minutos a 4°C. O DNA foi submetido à eletroforese em gel de agarose para quantificação e avaliação da sua integridade e armazenado a -20°C. O produto do PCR de aproximadamente 600pb correspondente ao gene denominado rpoB foi amplificado e seqüenciado por meio de primers descritos por La Scola (2006). As seqüências foram então submetidas a uma análise comparativa por meio do programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), localizado no National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Foram utilizados dados depositados no banco de dados mundial GenBank.

4.4.2.2 Tentativa de isolamento de *Mycobacterium* spp.

Foi realizado no Laboratório de Zoonoses Bacterianas da FMVZ-USP.

Foi utilizado um grama de linfonodo mesentérico macerado com adição de um mililitro de salina 0,85% para homogeneização em Stomacher 80. Após a descontaminação pelo protocolo de Petroff (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1972), os inóculos foram centrifugados a 1000G por 20 minutos e semeados nos meios de cultura Lowenstein-Jensen e Stonebrink-Leslie previamente distribuídos em tubos (180 x 18 mm). Após a secagem do inóculo com os tubos levemente inclinados, estes foram fechados por completo e colocados em posição horizontal em estufa a 37°C por até 90 dias. As colônias com características sugestivas de micobactérias foram fixadas em lâmina de vidro e coradas pelo método de Ziehl-Nielsen (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1972) para pesquisa de bacilo álcool-ácido resistente (BAAR). Das amostras BAAR positivas foi extraído o DNA para identificação pela técnica PCR com análise de restrição ou PCR-PRA (Polymerase Chain Reaction - PCR Restriction Analysis) (TELENTI et al., 1993).

4.4.2.3 Tentativa de isolamento de *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Foi realizado no Laboratório de Sanidade Suína e Virologia da FMVZ-USP.

Inicialmente foi realizada breve dissecação das tonsilas, aspergiu-se pequeno volume de etanol 70% por toda a superfície tonsilar, flambou-se a mesma por meio do uso do bico de Bunsen. Após a flambagem, foram procedidos cortes com tesoura estéril na tonsila e fragmentos, com menos de 1cm² de área, foram imersos em tubos de ensaio contendo 5mL de caldo seletivo para *Erysipelothrix* (ESB - “*Erysipelothrix* seletive broth”) (WOOD, 1965), e paralelamente houve a inoculação e semeadura do fragmento de tonsila em placa contendo ágar sangue ázida (ASA).

O tubo contendo ESB já inoculado foi incubado em atmosfera aeróbia, a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação o caldo foi removido e disposto em tubos tipo Falcon de 15mL, centrifugados a 1400xG por 20 minutos. O sedimento foi ressuspenso em 1mL de solução salina a 0,85% e plaqueado em ASA. Depois da incubação a 37°C por 48 horas em aerobiose, as colônias presentes nas placas foram examinadas macro e microscopicamente

(coloração de Gram) e submetidas aos testes de produção de catalase e de sulfeto de hidrogênio em TSI (“triple sugar iron”/ ágar triplo açúcar – ferro) para identificação presuntiva do gênero *Erysipelothrix* sp.

Os isolados que apresentaram características compatíveis com o gênero *Erysipelothrix* foram submetidas à PCR para detecção simultânea do gênero *Erysipelothrix* (MAKINO et al. 1994) e da espécie *E. rhusiopathiae* (SHIMOJI et al., 1998). O produto de amplificação relacionado ao gênero codifica a seqüência 16S do RNA ribossômico (MAKINO et al., 1994), enquanto que o amplicon relacionado à espécie codifica a seqüência que flanqueia a região genética da inserção Tn916, que, presumivelmente, está associada à virulência de *E. rhusiopathiae* (SHIMOJI et al., 1998). As seqüências dos “primers”, assim como o tamanho do produto amplificado constam no quadro 3.

Primer	Seqüência (5' - 3')	Gene alvo	Amplicon	Referência
MO 101	AGATGCCATAGAAACTGGTA	16S rRNA	407 pb	Makino et al. 1994
MO 102	CTGTATCCGCCATAACTA			
ER 1	CGATTATATTCTTAGCACGCAACG	Tn 916	937pb	Shimoji et al. 1998
ER 2	TGCTTGTGTTGTGATTCTTGACG			

Quadro 3- “Primers” utilizados para detecção simultânea de gênero e espécie - São Paulo - 2009

4.4.2.3.1 Extração do DNA bacteriano

O método de purificação de ácidos nucléicos foi realizado como descrito por Boom et al (1990).

Um microtubo contendo 200µL de um cultivo puro de *Erysipelothrix* sp. em infusão cérebro-coração (BHI) acrescido de 5% (v/v) de soro equino de 24 horas de crescimento foi pré-lisado com 20µL de proteinase K (20mg/mL) e 100 µL de lisozima (100 mg/mL) durante 60 minutos em banho-úmido a 37°C. Após este período de pré-lise foi adicionado ao microtubo 1000µl de tampão de lise (120g isotiocianato de guanidina, 1mL Triton 100X, 10 mL Tris-HCl 1 M [pH 6,4] e 8,8mL EDTA 0,5M [pH 8] em 100mL H₂O MilliQ®), 40µL de solução carreadora (1g de Diatomaceas Earth, 50µL HCl 37% e 5mL H₂O MilliQ®) e

incubado a temperatura ambiente por 20 minutos. Posteriormente o microtubo, no qual as células bacterianas já se encontravam lisadas e os DNAs ligados às partículas de sílica, foi centrifugado a 12800rpm por um minuto e 30 segundos, o sobrenadante foi descartado e o pélete resultante foi submetido a cinco lavagens seguidas. As duas primeiras com 500µL de tampão de lavagem (120g isotiocianato de guanidina e 10mL Tris-HCl 1M [pH 6,4] em 100mL H₂O MilliQ®), as duas seguintes com 500µL de etanol 70% (- 20°C) e a última com 500µL de cetona. Após as lavagens o microtubo contendo o pélete foi mantido em estufa a 37° C por cerca de 60 minutos. O pélete foi ressuscitado pela adição de 150µL de tampão de eluição (1mL Tris-HCl 1M [pH 6,4] e 0,2mL EDTA 0,5M [pH 8] em 100mL de H₂O MilliQ®), centrifugado a 12 800rpm por cinco minutos, removido o sobrenadante (DNA eluído da sílica) e, este, foi armazenado a -20°C até sua amplificação.

4.4.2.3.2 Amplificação do DNA

A mistura da reação de amplificação foi preparada em um volume de 20µL contendo 2,5µL de PCR buffer, 1,5 mM MgCl₂, 200mM de dNTP, 20 pmoles dos primers MO101 e MO102, 30 pmoles dos primers ER1 e ER2, 0,5 U Taq DNA polimease (LGC Biotecnologia). E a esta mistura da reação de amplificação foi adicionado um volume de 5µL DNA extraído. A amplificação consistiu de uma desnaturação a 95°C por quatro minutos, seguida por 35 ciclos de um minuto a 94°C, um minuto a 59,3°C e um minuto e meio a 72°C, finalizando com uma extensão de cinco minutos a 72°C.

4.4.2.3.3 Detecção do produto de amplificação

Os produtos de amplificação foram segregados por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,5%, utilizando-se tampão TBE 0,5X.

Os fragmentos amplificados foram visualizados no sistema de fotodocumentação ImageMaster® (Amershan Biosciences) por meio do uso do corante BlueGreen® (LGC Biotecnologia). Os fragmentos foram identificados com base na utilização de marcador de DNA de 100pb DNA Ladder (LGC Biotecnologia).

4.4.2.3.4 Sorotipagem

Os isolados classificados pela PCR como *E. rhusiopathiae* foram enviados para laboratório de referência no Japão (National Institute of Animal Health), onde foi realizada a sorotipagem pela técnica de precipitação em gel de agarose (KUCSERA, 1979; TAKAHASHI et al., 1996).

4.5 TRATAMENTO DOS DADOS

Foram calculados os intervalos de confiança (95%) para as frequências de soropositivos para leptospirose por espécie e procedência. Para isso foi utilizado o programa Epi Info 6.04. As proporções de soropositivos foram comparadas entre si pelo teste de comparação de duas proporções, com auxílio do programa Med Calc 10.4. O mapa foi produzido pelo programa Arc GIS 9.2 (ESRI) com banco de dados da malha municipal do Brasil (IBGE, 2001).

5 RESULTADOS

Nenhuma das carcaças desses 138 animais apresentou alterações à inspeção, sendo liberadas para consumo *in natura*.

Os resultados dos exames laboratoriais realizados estão sumarizados na tabela 1.

A tabela 2 traz as freqüências de soropositivos para qualquer sorovar de *Leptospira* SP, segundo as espécies animais e as localidades. Também mostra as freqüências acumuladas por espécie.

Os valores de p comparando as proporções de positivos para as capivaras encontram-se na tabela 3.

A tabela 4 mostra as freqüências de soropositivos para qualquer sorovar de *Leptospira* spp, segundo os locais de procedência dos animais e a tabela 5 traz os valores de p referentes à comparação das proporções de positivos entre essas procedências.

A tabela 6 mostra os sorovares mais prováveis, segundo as espécies animais amostradas e suas procedências.

Dos 49 animais positivos para *Leptospira* spp, 20 apresentaram títulos mais elevados iguais para mais de um sorovar e, portanto, foram excluídos da análise dos sorovares mais prováveis.

Tabela 1- Resultados dos exames laboratoriais segundo a espécie animal, sexo, procedência e tipo de criação - São Paulo – 2009 (Continua)

Dados do animal					Soro para pesquisa de anticorpos		Linfonodo mesenterico	Tonsila palatina	Rim	Urina
número sequencial	espécie	sexo*	procedência*	tipo de criação*	Brucelose	Leptospirose (título e sorovar mais provável)*	Isolamento micobactéria	Deteção erisipela	Isolamento leptospira	
1	Capivara	M	Avaré-SP	SI	–	200 But, 100 Jav, 100 Ict, 100 Aus	NC**	NC	–	NC
2	Capivara	M	Avaré-SP	SI	–	200 But	NC	NC	–	NC
3	Capivara	F	Avaré-SP	SI	–	200 Gri	NC	NC	–	NC
4	Capivara	F	Avaré-SP	SI	–	–	NC	NC	–	NC
5	Capivara	M	Avaré-SP	SI	–	200 Pat	NC	NC	–	NC
6	Capivara	M	Avaré-SP	SI	–	–	NC	NC	–	NC
7	Capivara	F	Avaré-SP	SI	–	200 Py, 200 Hap	NC	NC	–	NC
8	Capivara	M	Avaré-SP	SI	–	–	NC	NC	–	NC
9	Capivara	M	Avaré-SP	SI	–	200 Gri	NC	NC	–	NC
10	Capivara	F	Avaré-SP	SI	–	–	NC	NC	–	NC
11	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	p***	NC	NC	–
12	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	–	NC	NC	–
13	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	–	NC	NC	–
14	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	–	NC	NC	–
15	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	–	NC	NC	–
16	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	–	NC	NC	–
17	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	–	NC	NC	–
18	Capivara	M	Indaiatuba-SP	SI	–	–	–	NC	NC	–
19	Capivara	F	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	–	NC
20	Capivara	F	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	NC	NC
21	Capivara	F	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	NC	NC
22	Capivara	M	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	NC	NC
23	Capivara	M	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	NC	NC
24	Capivara	M	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	–	NC
25	Capivara	M	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	–	NC
26	Capivara	M	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	NC	NC

(Continuação)

Dados do animal					Soro para pesquisa de anticorpos		Linfonodo mesenterico	Tonsila palatina	Rim	Urina
número sequencial	espécie	sexo*	procedência*	tipo de criação*	Brucelose	Leptospirose (título e sorovar mais provável)*	Isolamento micobactéria	Deteção erisipela	Isolamento leptospira	
27	Capivara	M	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	NC	NC
28	Capivara	M	Itaí-SP	SI	–	–	–	NC	NC	NC
29	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	200 Bra, 100 Pyr, 100 Hap	NC	NC	–	NC
30	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	400 Py, 400 Har, 400 Pat,	NC	NC	–	NC
31	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	–	NC	NC	–	NC
32	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	400 Hap,	NC	NC	–	NC
33	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	400 Tar, 200 She, 200 Cop, 100 Pyr	NC	NC	–	NC
34	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	200 Py, 200 Hap, 100 Wol	NC	NC	–	NC
35	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	200 Heb, 200 Hap, 200 Wol, 200 Har, 200 M99, 100 Ict, 100 Jav, 100 Pyr, 100 Tar	NC	NC	–	NC
36	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	400 Heb, 400 Ict, 400 Hap, 400 Wol, 200 Pan, 200 Har, 200 Pat	NC	NC	–	NC
37	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	400 Tar	NC	NC	–	NC
38	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	400 Hardjo, 400 Wol, 100 Heb, 100 Pat	NC	NC	–	NC
39	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	200 Py, 200 Wol, 100 Hap	NC	NC	–	NC
40	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	200 Tar	NC	NC	Tarassovi ¹	NC
41	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	–	NC	NC	–	NC
42	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	200 Tar	NC	NC	–	NC
43	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	100 Hap, 100 Wol	NC	NC	–	NC
44	Capivara	M	Três Rios-RJ	SI	–	–	NC	NC	–	NC
45	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	200 Bra, 200 M99, 100 Hap, 100 Wol	NC	NC	–	NC
46	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	400 Bra, 200 Wol, 100 Cop, 100 Ict, 100 Hap	NC	NC	–	NC
47	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	200 Hap, 200 Tar, 100, Wol, 100 Har	NC	NC	Tarassovi ¹	NC
48	Capivara	F	Três Rios-RJ	SI	–	400 Tar, 400 Pat, 200 Bra, 200 Pan, 200 Wol, 100 Ict, 100 Har	NC	NC	–	NC
49	Capivara	M	Guarapuava II-PR	SI	–	1600 Har, 800 Aut, 400 Bra, 400 Gri, 200 Pat, 200 But, 100 Aus	NC	NC	NC	NC
50	Capivara	M	Guarapuava II-PR	SI	–	3200 Har, 1600 Bra, 800 Pat, 800 Aut, 400 But, 400 Gri 100 Aus, 100 She, 100 Sentot	NC	NC	NC	NC

(Continuação)

Dados do animal					Soro para pesquisa de anticorpos		Linfonodo mesentérico	Tonsila palatina	Rim	Urina
número sequencial	espécie	sexo*	procedência*	tipo de criação*	Brucelose	Leptospirose (título e sorovar mais provável)*	Isolamento micobactéria	Deteção erisipela	Isolamento leptospira	
51	Capivara	M	Guarapuava II-PR	SI	-	1600 Har, 800 Bra, 400 Pat, 200 Aus, 200 Aut, 200 Gri, 200 She,	NC	NC	NC	NC
52	Capivara	F	Guarapuava II-PR	SI	-	800 Har, 200 Aus, 200 Bra, 200 Aut, 200 But, 100 Gri,	NC	NC	NC	NC
53	Capivara	F	Guarapuava II-PR	SI	-	1600 She, 200Har	NC	NC	NC	NC
54	Capivara	M	Guarapuava II-PR	SI	-	3200 Hap, 3200 Wol	NC	NC	NC	NC
55	Capivara	M	Guarapuava II-PR	SI	-	200 Pat, 100 Ict	NC	NC	NC	NC
56	Cateto	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	NC	NC	-
57	Cateto	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	NC	NC	-
58	Cateto	M	Guarapuava I-PR	SI	-	400 Gri	-	NC	NC	-
59	Cateto	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	NC	NC	-
60	Cateto	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 Gri, 200 Pat, 100 Tar	NC	NC	NC	NC
61	Cateto	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	NC	NC	NC	NC
62	Cateto	F	Guarapuava I-PR	SI	-	100 Pyr, 100 Pat,	NC	NC	NC	NC
63	Cateto	F	Guarapuava I-PR	SI	-	-	NC	NC	NC	NC
64	Cateto	M	Guarapuava I-PR	SI	-	800 Gri, 800 She, 200 But, 100 Cyn	NC	NC	NC	NC
65	Cateto	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
66	Cateto	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
67	Cateto	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
68	Cateto	M	Mandaguaçu-PR	I	-	100 Heb	-	-	-	NC
69	Cateto	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
70	Cateto	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
71	Cateto	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
72	Cateto	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
73	Cateto	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
74	Cateto	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
75	Cateto	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
76	Cateto	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC

(Continuação)

Dados do animal					Soro para pesquisa de anticorpos		Linfonodo mesenterico	Tonsila palatina	Rim	Urina
número sequencial	espécie	sexo*	procedência*	tipo de criação*	Brucelose	Leptospirose (título e sorovar mais provável)*	Isolamento micobactéria	Deteção erisipela	Isolamento leptospira	
77	Cateto	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
78	Cateto	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
79	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
80	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
81	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
82	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
83	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
84	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
85	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
86	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
87	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
88	Paca	M	Guapimirim-RJ	I	-	-	NC	NC	NC	NC
89	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
90	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
91	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
92	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
93	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
94	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
95	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
96	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	NC	NC
97	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	-	NC
98	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	-	NC
99	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	-	NC
100	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	-	NC
101	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	-	NC
102	Paca	M	Soledade de Minas-MG	I	-	-	NC	NC	-	NC

(Continuação)

Dados do animal					Soro para pesquisa de anticorpos		Linfonodo mesenterico	Tonsila palatina	Rim	Urina
número sequencial	espécie	sexo*	procedência*	tipo de criação*	Brucelose	Leptospirose (título e sorovar mais provável)*	Isolamento micobactéria	Deteção erisipela	Isolamento leptospira	
103	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	NC	NC	NC	NC
104	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	NC	NC	NC	NC
105	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 Gri, 200 Ict, 200 Har, 200 Pat,	NC	NC	NC	NC
106	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 Gri	NC	NC	NC	NC
107	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 Aut, 200 Gri, 200 Ict, 200 Har,	NC	NC	NC	NC
108	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	800 Har, 200 Pat, 200 Gri, 100 Ict, 100 Bra	NC	NC	NC	NC
109	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 Gri, 200 Ict, 200 Har, 200 Pat, 100 Bra	NC	NC	NC	NC
110	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 Gri	NC	NC	NC	NC
111	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	6400 Gri, 100 Har	NC	NC	NC	NC
112	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	400 Gri, 200 Ict, 200 Har, 100 But	NC	NC	NC	NC
113	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 Ict, 200 Py, 200 Pat, 100 Gri, 100 Har	NC	NC	NC	NC
114	Queixada	F	Guarapuava I-PR	SI	-	1600 Gri, 400 Pat, 200 Ict, 200 Sen, 100 But	NC	NC	NC	NC
115	Queixada	F	Guarapuava I-PR	SI	-	400 Bra, 400 Har, 200 Aut, 200 Gri, 200 She, 200 Pat, 100 Sen	NC	NC	NC	NC
116	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	800 Har, 400 Bra, 400 Ict, 200 Aut, 200 But, 200 Gri, , 200 Sen	NC	NC	NC	NC
117	Queixada	F	Guarapuava I-PR	SI	-	3200 Gri, 400 Pat, 100 Ict, 100 Pyr, 100 Har, Sen 100	NC	NC	NC	NC
118	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
119	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
120	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
121	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
122	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
123	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	P	NC	-
124	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
125	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
126	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
127	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
128	Queixada	M	Guarapuava I-PR	SI	-	200 L01	-	-	NC	-

(Conclusão)

Dados do animal					Soro para pesquisa de anticorpos		Linfonodo mesenterico	Tonsila palatina	Rim	Urina
número sequencial	espécie	sexo*	procedência*	tipo de criação*	Brucelose	Leptospirose (título e sorovar mais provável)*	Isolamento micobactéria	Deteção erisipela	Isolamento leptospira	
129	Queixada	F	Guarapuava I-PR	SI	-	-	-	-	NC	-
130	Queixada	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
131	Queixada	M	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
132	Queixada	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
133	Queixada	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
134	Queixada	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
135	Queixada	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
136	Queixada	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
137	Queixada	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC
138	Queixada	F	Mandaguaçu-PR	I	-	-	-	-	-	NC

* sexo: M=macho, F=fêmea, I=indeterminado;
Municípios das propriedades amostradas: Avaré, Indaiatuba, Itai, Três Rios, Guarapuava, Mandaguaçu, Guapimirim, Soledade de Minas.
Tipo de criação: SI= semi-intensivo, I=intensivo;
Leptospirose: But=Butembo, Cop=Copenhageni Gri=Grippyotiphosa, Pat= Patoc, Py=Pyrogenes, Hap=Hardjoprajitno, Har=Hardjobovis, Heb=Hebdomadis, She=Shermani, Wol=Wolffi, Bra=Bratislava, Jav=Javanica, Tar=Tarassovi, Aus=Australis, Ict=Icterohaemorrhagiae, Aut=Autumnalis, Sen=Sentot M99=M9/99, L01= Canicola LO1
** NC= não coletado
*** P=positivo
¹ Sorovar mais provável segundo teste de anticorpos policlonais

Tabela 2- Frequência de soropositivos para qualquer sorovar de *Leptospira* sp, segundo as espécies animais e a origem - São Paulo - 2009

espécie	capivara					cateto		paca		queixada	
	Avaré-SP	Guarapuava II-PR	Indaiatuba-SP	Itai-SP	Três Rios-RJ	Guarapuava I-PR	Mandaguaçu-PR	Guapimirim-RJ	Soledade de Minas-MG	Guarapuava I-PR	Mandaguaçu-PR
positivos	6	7	0	0	17	4	1	0	0	14	0
examinados	10	7	8	10	20	9	14	10	14	27	9
frequência (%)	60,00	100,00	0,00	0,00	85,00	44,44	7,14	0,00	0,00	51,85	0,00
IC95% (%)	[27,37; 86,30]	[56,10; 100]	[0,00; 40,23]	[0,00; 34,45]	[61,14; 96,04]	[15,34; 77,34]	[0,37; 55,83]	[0,00; 34,45]	[0,00; 26,76]	[32,35; 70,85]	[0,00; 37,12]
“p” para comparação de duas proporções						0,11				0,02	
positivos por espécie	30					5		0		14	
examinados por espécie	55					23		24		36	
frequência (%) por espécie	54,55%					21,74%		0,00%		38,89%	
IC95% (%) por espécie	[40,65; 67,80]					[8,29; 44,21]		[0,00; 17,17]		[23,62; 56,47]	

Tabela 3- Valores de p resultantes da comparação entre as proporções de capivaras soropositivas para qualquer sorovar de *Leptospira* sp, segundo a origem - São Paulo - 2009

	Avaré-SP	Guarapuava II-PR	Itai-SP	Três Rios-RJ
Guarapuava II-PR	0,18			
Itai-SP	0,015	0,0003		
Três Rios-RJ	0,28	0,7	0,0001	
Indaiatuba-SP	0,03	0,0008	1	0,0002

Tabela 4- Frequência de soropositivos para qualquer sorovar de *Leptospira* sp, segundo os locais de procedência dos animais - São Paulo - 2009

Procedência	Avaré-SP	Guarapuava II-PR	Indaiatuba-SP	Itaí-SP	Três Rios-RJ	Guarapuava I-PR	Mandaguaçu-PR	Guapimirim-RJ	Soledade de Minas-MG
Positivos	6	7	0	0	17	18	1	0	0
Examinados	10	7	8	10	20	36	23	10	14
%	60,00	100,00	0,00	0,00	85,00	50,00	4,35	0,00	0,00
IC% (95%)	[27,37; 86,30]	[56,10; 100]	[0,00; 40,23]	[0,00; 34,45]	[61,14; 96,04]	[33,22; 66,77]	[0,22; 23,96]	[0,00; 34,45]	[0,00; 26,76]

Tabela 5- Valores de p resultantes da comparação entre as proporções de animais soropositivos para qualquer sorovar de *Leptospira* sp, segundo as suas procedências - São Paulo - 2009

	Avaré-SP	Guarapuava II-PR	Indaiatuba-SP	Itaí-SP	Três Rios-RJ	Guarapuava I-PR	Mandaguaçu-PR	Guapimirim-RJ
Guarapuava II-PR	0,18	-	-	-	-	-	-	-
Indaiatuba-SP	0,03	0,0008	-	-	-	-	-	-
Itaí-SP	0,015	0,0003	1	-	-	-	-	-
Três Rios-RJ	0,28	0,7	0,0002	0,0001	-	-	-	-
Guarapuava I-PR	0,84	0,041	0,027	0,0124	0,0095	-	-	-
Mandaguaçu-PR	0,001	0,000006	0,57	0,6637	0	0,000252	-	-
Guapimirim-RJ	0,014	0,000292	-	-	0,000054	0,012	0,6637	-
Soledade de Minas-MG	0,0041	0,000043	-	-	0,000001	0,000942	0,7997	-

Tabela 6- Sorovares mais prováveis de *Leptospira* sp, segundo as espécies de animais amostradas e suas procedências - São Paulo - 2009

sorovar		Hardjoprajitno	Shermani	Butembo	Bratislava	Patoc	Grippotyphosa	Hardjobovis	Tarassovi	Hebdomadis	Canicola(LO1)
procedência	Indaiatuba-SP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Itai-SP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Guapimirim-RJ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Soledade de Minas-MG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mandaguaçu-PR	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1 (100%)	-
	Avaré-SP	-	-	2/5 (40%)	-	1/5 (20%)	2/5 (40%)	-	-	-	-
	Guarapuava II-PR	-	1/6 (16,6%)	-	-	1/6 (16,6%)	-	4/6 (66,6%)	-	-	-
	Três Rios-RJ	1/7 (14,3%)	-	-	2/7 (28,5%)	-	-	-	4/7 (57,1%)	-	-
	Guarapuava I-PR	-	-	-	-	-	7/10 (70%)	2/10 (20%)	-	-	1/10 (10%)
espécie	capivara	1/18(5,55%)	1/18(5,55%)	2/18(11,1)	2/18(11,1%)	2/18(11,1%)	2/18 (11,1%)	4/18(22,2%)	4/18(22,2%)	-	-
	cateto	-	-	-	-	-	1/2(50%)	-	-	1/2 (50%)	-
	paca	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	queixada	-	-	-	-	-	6/9 (66,6%)	2/9 (22,22%)	-	-	1/9 (11,1%)

Em relação à tentativa de isolamento de leptospiros, das 62 amostras de rim e 24 amostras de urina processadas, foram obtidos dois isolados a partir de tecido renal de duas capivaras (animais 40 e 47, Tabela 1). A identificação inicial, realizada por meio da SAM com anticorpos policlonais, resultou na classificação como sorovar Tarassovi. Esses animais também mostraram anticorpos contra o sorovar Tarassovi à SAM (Tabela 1). Os isolados enviados para o Centro de Biotecnologia da Universidade de Pelotas (RS), foram submetidos à PCR e seqüenciamento do gene rpoB. As seqüências de rpoB submetidas a análise comparativa *global blast* mostraram 100% de identidade com *L. santarosai*.

Os isolados foram enviados para centro de referência (Royal Tropical Institute) na Holanda, onde as amostras serão submetidas a testes com anticorpos monoclonais.

Os hamsters inoculados com urina não adoeceram e também não apresentaram aglutininas anti-leptospiros ao teste de SAM.

Em relação à tentativa de isolamento de micobactérias, das 57 amostras de linfonodos mesentéricos processadas, apenas uma resultou em isolamento de uma colônia de cor alaranjada (Figura 3). Seu crescimento pôde ser observado no meio de cultura de Stonebrink-Leslie após um período de 80 dias. A coloração pelo método de Ziehl-Nielsen mostrou tratar-se de bacilo álcool-ácido resistente (BAAR).

As figuras 4, 5 e 6 mostram os resultados obtidos nas três etapas da técnica PCR-PRA. O isolado BAAR foi identificado por meio da técnica de PCR-PRA e mostrou perfil de restrição compatível com o *Mycobacterium xenopi* (Figura 4, 5 e 6).



Figura 3 - Colônia de isolado BAAR em meio de cultura de Stonebrink-Leslie

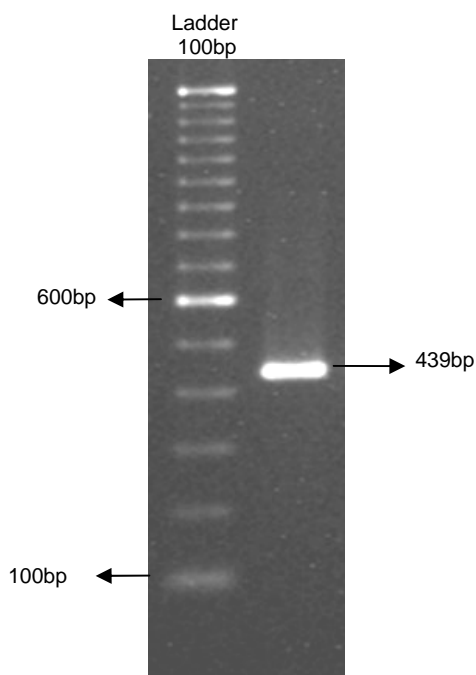


Figura 4 - Eletroforese em gel de agarose mostrando resultado de PCR realizada com os *primers* Tb11 e Tb12 (TELENTI et al, 1993) em isolados BAAR de capivara, identificando a amostra como pertencente ao Gênero *Mycobacterium*

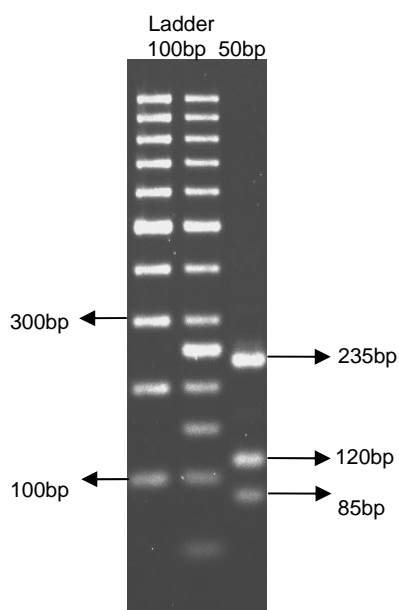


Figura 5 - Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 235, 120 e 85pb gerados pela digestão do amplificado de 439 bp, específico do gênero *Mycobacterium*, pela enzima de restrição BstEII (TELENTI et al., 1993), em isolado BAAR de capivara

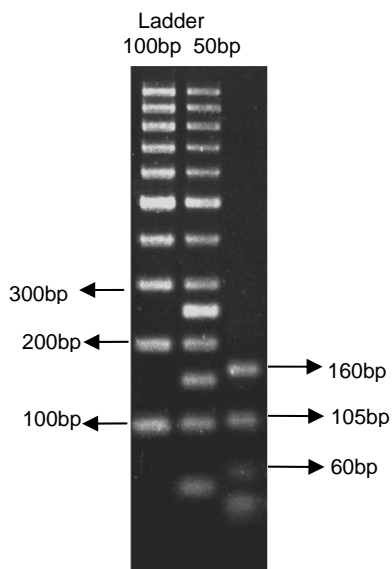


Figura 6 - Eletroforese em gel de agarose mostrando fragmentos de 160, 105 e 60pb gerados pela digestão do amplificado de 439 bp, específico do gênero *Mycobacterium*, pela enzima de restrição HaeIII (TELENTI et al., 1993), em isolado BAAR de capivara

Em relação à tentativa de isolamento de *Erysipelothrix* SP, das 35 tonsilas processadas, foi obtido um isolado da queixada (*T. pecari*), número 123 (Tabela 1), o qual foi inicialmente identificado como *Erysipelothrix* sp com base nas características macroscópicas da colônia (Figura 7), coloração de Gram, ausência de produção de catalase e a produção de sulfeto de hidrogênio em ágar tríplice açúcar ferro (TSI – “triple sugar iron”) (Figura 8).



Figura 7 - Cultivo de 48 horas de *Erysipelothrix* sp. em ágar sangue ázida



Figura 8 - Produção H₂S em ágar TSI por amostra de *Erysipelothrix* sp

A PCR mostrou tratar-se de *Erysipelothrix rhusiopathiae* (Figura 9). A sorotipagem mostrou ser um isolado do tipo 2b.

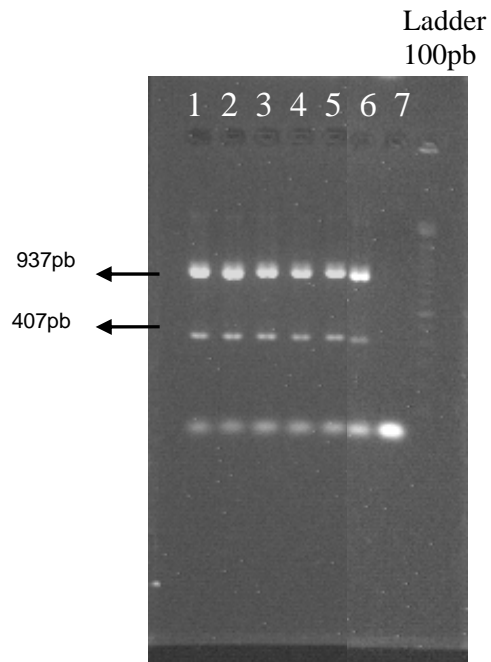


Figura 9- Eletroforese em gel de agarose mostrando amplificação dos fragmentos de DNA de 407pb (*Erysipelothrix* sp.) e 937pb (*E. rhusiopathiae*). As colunas de 1 a 5 representam colônias do mesmo isolado. As colunas 6 e 7 referem-se, respectivamente, ao controle positivo e negativo

6 DISCUSSÃO

6.1 BRUCELOSE

Como o observado na tabela 1 todos os animais das quatro espécies amostradas não apresentaram anticorpos contra *Brucella* sp. no teste de Antígeno Acidificado Tamponado. Entretanto, existem trabalhos relatando a soropositividade para *Brucella* sp. em queixadas, catetos e capivaras e também o isolamento do agente dos tecidos de catetos e capivaras.

O primeiro relato de brucelose em capivaras foi realizado por Manzullo, o qual teria isolado *B. melitensis* desses animais na Argentina (MCDIARMID, 1962). Na Venezuela, Bello et al. (1984) encontraram anticorpos anti-*Brucella* no soro de capivaras por meio das técnicas de soroaglutinação em tubo, fixação de complemento, 2-mercaptoetanol e card-test. Os autores também isolaram os biotipos 1 e 6 de *Brucella abortus* a partir dos tecidos. Nesse mesmo país, Lord e Flores (1983) isolaram 23 amostras, das quais oito foram de *Brucella abortus* (biotipos 2, 3, 4, 5 e 7) e 15 de *Brucella suis* (biotipos 2 e 3). Os isolamentos ocorreram a partir de amostras de baço, linfonodos mesentérico e submaxilar de 201 capivaras de vida livre.

Em estudo sorológico e bacteriológico conduzido na Venezuela com 139 catetos, Lord e Lord (1991) obtiveram 43 isolados de *Brucella suis* biovar 1 a partir de baço e linfonodos de 25 machos e 18 fêmeas. Também foram encontrados anticorpos contra *Brucella* sp. em 122 amostras de soro por meio dos testes de aglutinação rápida em placa, soroaglutinação em tubo, 2-mercaptoetanol, rivanol, fixação do complemento e card test. No Arizona, Estados Unidos da América (EUA), Corn et al. (1987) não encontraram anticorpos anti-*Brucella* sp. em 194 amostras de soro de catetos caçados.

Em relação às queixadas, Nava (2008) encontrou amostras reatoras à prova do AAT em sete de 61 queixadas de vida livre capturadas no estado de São Paulo. Kashivakura et al. (2004), encontraram frequências semelhantes, verificando anticorpos anti-*Brucella* sp. em 42 de 209 queixadas localizadas na região do Parque Nacional das Emas, estado de Goiás. Ito et al. (1998), por meio de AAT e soroaglutinação rápida, encontraram duas queixadas positivas dos sete animais examinados, oriundos do Pantanal Sul-mato-grossense.

A ausência de anticorpos anti-brucelas lisas nos soros das capivaras, catetos e queixadas examinadas no presente estudo, mostra que esses animais, embora suscetíveis a essas espécies de

brucela, não foram a elas expostos. Provavelmente, isso foi resultado dos sistemas de criação adotados nas fazendas amostradas, pois esses animais praticamente não tiveram contato com animais domésticos, principais hospedeiros da *B. abortus*, *B. suis* e *B. melitensis*; ou então tiveram contato com animais não infectados. Importante lembrar que a *B. melitensis* é exótica no Brasil, que a *B. abortus* é endêmica (PAULIN; FERREIRA NETO, 2005) e que a *B. suis*, embora presente no Brasil, tem pouca importância na suinocultura comercial.

6.2 LEPTOSPIROSE

Os resultados dos testes sorológicos obtidos no presente estudo demonstraram que das espécies estudadas, apenas as pacas não foram reagentes a nenhum dos 36 sorovares testados na prova de SAM (Tabela 2). A hipótese mais provável desses resultados negativos o modo de criação das pacas. Esses animais eram criados em casais, sendo que cada casal era mantido em recinto coberto de aproximadamente 8m², com piso de cimento e alimentação em cocho. Não havia formação de alagados nem referência à presença de roedores. Portanto, baixa probabilidade de contato com leptospirosas.

As capivaras apresentaram a maior frequência de animais reagentes (54,5%), seguidas das queixadas (39%) e dos catetos (21,7%) (Tabela 3).

As capivaras são eficientes reservatórios naturais de leptospirosas, pois são roedores e vivem em estreito contato com o ambiente aquático (VASCONCELLOS, 1987; ITO et al., 1998, MARVULO et al., 2009). Independentemente da proveniência dos animais, os sorovares mais prováveis mais frequentes nessa espécie foram o Hardjobovis e Tarassovi, seguidos do Grippytyphosa, Patoc, Bratislava e Butembo, além de Shermani e Harjhoprajitno (Tabela 6).

Diversos relatos já foram feitos de capivaras reagentes a uma grande variedade de sorovares. Jelambi, (1976) em estudo na Venezuela encontrou animais reatores ao Canicola, Ballum, Hardjo, Hebdomadis, e Wolffi. Outros estudos no Brasil encontraram capivaras com anticorpos contra os sorovares Patoc, Canicola, Ballum, Hardjo, Hebdomadis, Wolffi, Butembo e Autumnalis (NOGUEIRA et al., 1997; ITO et al., 1998; PACHALY et al., 2001; NISHIYAMA et al., 2002).

Os sorovares mais prováveis mais frequentes nas queixadas foram Grippytyphosa, Hardjobovis e Canicola (Tabela 6). Em estudo com queixadas de vida livre no extremo oeste do

estado de São Paulo, Nava (2008) encontrou animais reagentes aos sorovares Panama, Icterohaemorrhagiae e Pomona.

Os sorovares mais prováveis mais frequentes nos catetos foram Grippytyphosa e Hebdomadis (Tabela 6). Em estudo com 213 catetos selvagens do estado do Arizona, EUA, Corn et al. (1987) encontraram os seguintes sorovares em ordem decrescente: Pomona, Bratislava, Hardjo, Autumnalis, Australis, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Ballum, Pyrogenes e Wolffi. Em um estudo com catetos de criações comerciais no Peru, Mendoza et al. (2007) verificaram uma maior frequência de anticorpos contra os sorovares Australis, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Bataviae, Tarassovi, Djasiman, Grippytyphosa, Ballum, Canicola e Mini.

A partir dos dados da tabela 6, é possível verificar que a maioria das exposições foi ao sorovar Grippytyphosa (nove vezes apontado como o sorovar mais provável). Esse sorovar já foi relatado em animais silvestres (SANTA ROSA et al., 1980; CORDEIRO, 1981; FAINE, 1999) e provavelmente as infecções detectadas no presente estudo devem-se ao contato com esses animais. Logo em seguida vem o sorovar Hardjobovis (seis vezes apontado como o sorovar mais provável), seguido do Tarassovi (quatro vezes apontado como o sorovar mais provável), Bratislava, Butembo e Patoc (duas vezes apontado como o sorovar mais provável), Canicola, Shermani, Hardjoprajitno e Hebdomadis (cada qual apontado apenas uma vez como o sorovar mais provável).

Esse resultado para Hardjobovis indica provável contato com bovinos, seu hospedeiro natural (FAINE, 1994; COSTA et al. 1998; RADOSTITS, 2002). Nas propriedades Guarapuava I e II, que apresentaram animais com reações mais prováveis ao sorovar Hardjobovis, as capivaras compartilhavam o piquete de alimentação com bovinos e as queixadas habitavam pastagem anteriormente ocupada por essa espécie doméstica.

O sorovar Tarassovi foi quatro vezes apontado como o sorovar mais provável em capivaras da propriedade Três Rios. De dois desses animais foram obtidos isolados classificados por técnicas moleculares como *L. santarosai*, e por SAM com antisoros policlonais como pertencente ao sorogrupo Tarassovi. Embora os suínos sejam considerados os hospedeiros de manutenção da variante sorológica Tarassovi (FAINE, 1994), Cordeiro et al. (1981) também descreveram roedores e marsupiais silvestres como carreadores desse sorovar, além dos sorovares Grippytyphosa, Pomona, Ballum e Australis. Como os animais do presente estudo não tiveram contato com suínos domésticos, é mais provável que a exposição à esse sorovar tenha ocorrido em função do contato com animais silvestres.

Anticorpos contra o sorovar Bratislava, considerado importante em ovinos e caprinos (FAINE, 1994), foram encontrados em duas capivaras da criação de Três Rios-RJ. Os animais dessa propriedade apresentaram histórico de ocupação concomitante com eqüinos e posteriormente caprinos (Tabela 6). Shimabakuro (2006) encontrou anticorpos contra esse sorovar em três de 79 capivaras estudadas no estado de São Paulo.

Duas capivaras reatoras ao sorovar Butembo foram encontradas na propriedade Avaré-SP. Esse sorovar apresentou predomínio em capivaras de vida livre em estudo realizado na região de Piracicaba (NOGUEIRA et al., 1997).

Duas capivaras foram reatoras ao sorovar Patoc, uma da propriedade Avaré-SP e outra da Guarapoava II. Shimabakuro (2006) encontrou capivaras de vida livre no estado de São Paulo reatoras ao sorovar Patoc.

Anticorpos contra o sorovar Canicola foram encontrados em apenas uma queixada proveniente da criação Guarapuava-I. O sorovar Canicola tem o cão como principal hospedeiro de manutenção (BOLIN, 1996). Capivaras, catetos, onça parda (*Puma concolor*), urso marrom europeu (*Ursus arctos*), racoos (*Procyon lotor*), lobos (*Canis lupus*) e cervídeos norte-americanos já foram relatados como reatores a esse sorovar (FOURNIER et al., 1986; CORN et al., 1987; KHAN et al., 1991; MODRIC; HUBER, 1993; NOGUEIRA et al. 1997; MITCHELL et al., 1999; NETO, 2006; MENDOZA et al., 2007). Assim, essa única infecção pode ter sido decorrência do contato com cães ou com animais silvestres.

O sorovar Shermani foi isolado pela primeira vez de um roedor silvestre (*Proechimys semispinosus*) no Panamá (WHO, 1967). No presente estudo, apenas uma capivara, oriunda de Guarapuava II, apresentou maior título de anticorpos contra o sorovar Shermani. De Paula (2003) e Shimabakuro (2006) encontraram capivaras reatoras a esse sorovar.

Título de anticorpos mais elevado contra o sorovar Hardjoprajitno foi encontrado em uma capivara da criação de Três Rios-RJ. Assim como o sorovar Hardjobovis, o Hardjoprajitno ocorre com maior frequência em bovinos e já foi relatado no Reino Unido, Nigéria, Índia, Malásia, Brasil, México e EUA (AGUIAR, 2004). Nessa criação as capivaras compartilhavam piquete com bovinos.

Apenas um cateto, proveniente da criação Mandaguaçu, apresentou o sorovar Hebdomadis como o mais provável. Mendoza et al. (2007), em estudo com a mesma espécie na Amazônia Peruana, encontraram esse sorovar em sete dos 62 catetos amostrados. Assim como no presente estudo os títulos máximos encontrados foram de 100.

Pelos resultados observados em relação aos sorovares mais prováveis, esses animais expuseram-se à infecção por leptospiras principalmente através do contato com animais silvestres e, em menor grau, provavelmente pelo contato com bovinos, caprinos e cães.

Em relação às procedências, embora os dados não sejam oriundos de amostras planejadas, existe forte evidência de que nas propriedades Guarapuava I e II, Três Rios e Avaré, os níveis de exposição às leptospiras foram maiores que nas demais propriedades estudadas (Tabelas 4 e 5). Além disso, em três dessas propriedades, quais sejam Guarapuava II, Três Rios e Avaré, existiam capivaras, animais com comportamento aquático e, portanto, com maior probabilidade de exposição ao agente.

6.3 TUBERCULOSE

Como relatado anteriormente, nenhum dos 138 animais abatidos apresentou à inspeção, lesões sugestivas de infecção por micobactérias.

Esse é o primeiro relato de isolamento de *M. xenopi* a partir de linfonodo mesentérico de capivara, segundo consulta nas bases de dados Scopus, Pubmed e Cab Abstracts (Ovid).

Apesar da escassez de informação a respeito de micobacterioses em animais da fauna silvestres brasileira, o isolamento de apenas uma amostra frente às 57 processadas pode estar relacionado à baixa sensibilidade das técnicas empregadas (ROSALES-RODRIGUES, 2005), pois o processo de descontaminação utilizado pode afetar o crescimento das micobactérias (CORNER, 1994) e a temperatura de incubação utilizada foi de 37°C, sendo que a faixa de temperatura ideal para se realizar o primo isolamento do *M. xenopi* é de 40 a 42°C (SNIADACK, et al., 1993; TORKKO et al., 2000; DAUNENDORFFER et al., 2002). A inexistência de lesão macroscópica sugere que esses animais infectam-se por essa espécie de micobactéria, porém a infecção limita-se à porta de entrada e não produz doença. O isolamento de micobactérias atípicas ou oportunistas a partir de linfonodos sem lesão macroscópica já foi relatado em suínos domésticos (FERREIRA NETO, 1986).

Segundo Donnabella et al. (2000) o primeiro isolamento de *M. xenopi* foi realizado por Schwabacher, em 1959, a partir de lesões de um sapo (*Xenopus laevis*). A *M. xenopi* também foi isolada de lesão de pele de gato (TOMASOVIC et al., 1976) e em suínos a partir de linfonodos com lesões macroscópicas (JARNAGIN et al., 1971; THOEN et al., 1975; CORNER et al.,

1981). Estudos no Canadá apontaram que a *M. xenopi* é uma das micobactérias não-tuberculosas mais isolada em humanos (SIMOR et al., 1984; CONTRERAS et al. 1988), sendo que infecções do trato respiratório com a presença dessa bactéria têm sido descritas principalmente em pacientes com doença pulmonar crônica pré-existente (COSTRINI et al., 1981, SMITH; CITRON, 1983; BANKS et al. 1984; SIMOR et al. 1984; CONTRERAS et al. 1988). Em regiões onde é relativamente comum, a *M. xenopi* coloniza frequentemente pacientes imunodeprimidos, principalmente infectados com HIV (KOIZUMI; SOMMERS., 1980; BRIGHT, 1984; TECSON-TUMANG; FORRESTER, 1984; AUSINA, 1988; SHAFER; SIERRA, 1992; EL-HELOU et al., 1997; DONNABELLA et al., 2000). O agente já foi encontrado em ambientes como fontes de água, incluindo água do mar, torneiras de hospital e tanques de água quente (BULLIN, 1970; GROSS, 1976; COSTRINI et al., 1981; WRIGHT, 1985).

A capivara é uma espécie amplamente distribuída no país, ocupando diversos tipos de ambientes naturais (MOREIRA; MACDONALD, 1997). Assim, provavelmente esse animal tenha se infectado com o *M. xenopi* pela ingestão de água ou alimento contaminados.

6.4 ERISPELA

Segundo os bancos de dados Scopus, Pubmed e Cab Abstracts (Ovid), o presente relato é o primeiro isolamento de *E. rhusiopathiae* em queixada (*T. pecari*).

Apesar de não constar no Programa Nacional de Sanidade Suína, a erisipelose é uma zoonose de caráter ocupacional, com distribuição mundial e de importância econômica afetando a Austrália e os continentes Europeu, Asiático e Americano. O agente já foi isolado em muitas espécies de vertebrados e invertebrados, incluindo suínos, ovinos, cavalos, cães, ursos, cangurus, gambá, cervídeos, roedores selvagens, focas, leões marinhos, cetáceos, mustelídeos, esquilos, crocodilos, jacarés, crustáceos, peixes marinhos e de água doce. E ainda de uma grande variedade de aves como, peru, frango, patos, gansos, codornas, pombos, galinha-da-índia, pardais, canários, tentilhões, tordos, estorninhos, faisões, pavões, perdizes, papagaios, periquitos, emu, urubu-rei, águias, falcão e cegonhas (CREECH, 1921; GLEDHILL, 1948; WOODBINE, 1950; SNEATH et al., 1951; CASTRO et al., 1967; GILMARTIN et al., 1971; MUNDAY, 1972; HUNTER, 1974; WOOD, 1975; PETTIT et al, 1976; CONKLIN; STEELE, 1979; BRUNER;

GRIFFITH, 1984; RAMSAY; BAUMEISTER, 1986; PACE et al., 1987; LONIGRO; LAREGINA, 1988; CAMPBELL et al., 1994; MORGAN et al., 1994).

O suíno doméstico é considerado o reservatório mais importante para *E. rhusiopathiae*, pois 30 a 50% dos animais aparentemente saudáveis ou convalescentes abrigam o agente em tonsilas e outros tecidos linfóides, podendo eliminar o agente pelas fezes, urina, saliva e secreções nasais (WOOD, 1999; RADOSTITIS et al., 2003). No presente estudo, o isolado foi obtido de tonsilla da queixada, indicando que a infecção ocorreu pela ingestão. Embora o agente não tenha sido pesquisado nas secreções e excreções dos animais, é possível que haja eliminação do agente pela saliva, caracterizando a queixada como reservatório silvestre de *E. rhusiopathiae*. Outros estudos devem ser encorajados para verificar essa hipótese.

7 CONCLUSÕES

1. A forma de criação dos animais examinados tornou o risco de exposição às brucelas lisas praticamente negligenciável.
2. As capivaras, por serem animais com comportamento aquático e, portanto, com maior probabilidade de exposição às leptospiras, apresentaram a maior frequência de animais sorologicamente reagentes, seguidas das queixadas e dos catetos.
3. A maior parte das exposições à leptospira provavelmente decorreram do contato com animais silvestres, pois o sorovar mais provável mais freqüente foi o Grippytyphosa.
4. Capivaras parecem ser pouco suscetíveis à infecção pelo *M. xenopi*, que limita-se à porta de entrada não produzindo doença. A capivara provavelmente infecta-se pelo *M. xenopi* através da ingestão de água ou alimento contaminados.
5. A condição de reservatório de *E. rhusiopathiae* pela queixada deve ser investigada por estudos que visem isolar o agente de secreções e excreções.

REFERÊNCIAS¹

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. Organizacion Panamericana de La Salud. 3. ed. Washington, 2003. (Publicación Científica, 580).

AGUIAR, D. M. **Prevalência de anticorpos anti- neospora caninum, anti-brucella abortus e anti- leptospira spp. em bovinos da zona rural do município de monte negro, Rondônia: estudo de possíveis fatores de risco**. 2004. 120 p. Dissertação (Mestrado) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

AHMED, N.; DEVI, S. M.; VALVERDE, M.; VIJAYACHARI, P.; MACHANGU, R. S.; ELLIS, W. A.; HARTSKEERL, R. A. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic Leptospiras species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, n. 28, 2006.

ALHAJI, I. Bovine tuberculosis: a general review with special referente to Nigeria. **Veterinary Bulletin**, v. 46, p. 829-837, 1969.

ALTON, G. G.; JONES, L.M.; PIETZ, D.E.; **Laboratory Techniques in Brucellosis**, 2. ed. Geneva: World Health Organization.1975.

ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; CAMARGO, C. R. A.; MORAIS, Z. M. Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos sororeatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico** (São Paulo), v. 63, p. 11-18, 1996.

AUSINA, V.; BARRIO, J.; LUQUIN, M.; SEAMBEAT, M.A.; GURGI, M.; VERGER, G.; PRATS, G. Mycobacterium xenopi infections in the acquired immunodeficiency syndrome. **Annals of Internal Medicine**, v. 109, p. 927-928, 1988.

BANKS, J.; HUNTER, A. M.; CAMPBELL, I. A.; JENKINS, P. A.; SMITH, A. P. Pulmonary infection with Mycobacterium xenopi: Review of treatment and response. **Thorax**, v. 39, p. 376-382, 1984.

¹Conforme as diretrizes para apresentação de dissertações e teses na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo: FMVZ- USP, 2003. 84 p.

BARLOW, N. D. Bovine tuberculosis in New Zealand: epidemiology and models. **Trends in Microbiology**, v. 2, p. 119-124, 1994.

BARROW, P. A.; GALLAGHER, J. Aspects of the epidemiology of bovine tuberculosis in badgers and cattle. I. The prevalence of infection in two wild animal populations in south-west England. **Journal of Hygiene**. London, v. 86, p. 237- 245, 1981.

BELLO, N. A.; LORD, V.; LASERNA, R. Enfermedades infecciosas que afectan el chiguire (*Hydrochaeris hydrochaeris*) en Venezuela. **Revista Veterinaria Venezolana**, v. 278, p. 32-46, 1984.

BENTTI, S. B. Roedores da América Tropical. **Natura**, Caracas, n. 70, p. 40- 44, 1981.

BIER, O. Micobactérias. In: _____ **Bacteriologia e imunologia**. 19. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1961. p. 500-525.

BODMER, R.. Uso sustentable de los ungulados amazónicos: Implicaciones para las áreas protegidas comunales. Páginas 51-58 In FANG, T. G.; MONTENEGRO, O. L.; BODMER, R. E. (Ed.). **Manejo y conservación de la fauna silvestre en América Latina**. La Paz: Instituto de Ecología, 1999.

BOEER, W. J.; CRAWFORD, R. P.; HIDALGO, R. J.; ROBINSON, N. Small mammals and white tailed deer as possible reservoir hosts of *Brucella abortus* in Texas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 16, p. 19-24. 1980.

BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery** (Small Animal), v. 3, n. 11, p. 166-171, 1996.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA. **Portaria Nº 117 de 15 de outubro de 1997**. Disponível em:
<http://www.ibama.gov.br/fauna/legislacao/port_117_97.pdf>. Acesso em: junho, 2008.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. **Portaria Nº 118-N de 15 de outubro de 1997**. Disponível em:
<http://www.ibama.gov.br/fauna/legislacao/port_118_97.pdf>. Acesso em: junho, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose**. Brasília, 2008. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em 22, Mar 2009.

BRINLEY-MORGAN, W. J.; MCCULLOUGH, N.B. Genus *Brucella*. In: **Bergey's manual of Determinative Bacteriology**, 8. ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1974. p. 278-282.

BROSCH, R.; GORDON, S. V.; MARMIESSE, M.; BRODIN, P.; BUCHRIESER, C.; EIGLMEIER, K.; GARNIER, T.; GUTIERREZ, C.; HEWINSON, G.; KREMER, K.; PARSONS, L. M.; PYM, A. S.; SAMPER, S.; VAN SOLLIGEN, D.; COLE, A. A newevolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 6, p. 3684-3689, 2002.

BRUNER, J. A.; GRIFFITH, R. W.; GREVA, J. H.; WOOD, R. L. *Erysipelothrix rhusiopathiae* serotype 5 isolated from a white-tailed deer in Iowa. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 20, p. 235-236, 1984.

BULLIN, C. H.; TANNER, E. I.; COLLINS, C. H. Isolation of *Mycobacterium xenopei* from water taps. **Journal of Hygiene** London, v. 68, p. 97-100, 1970.

CAMPAGNOLO, E. R. Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans exposed to infected swine. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 216, p. 676-682, 2000.

CAMPBELL, G. D.; ADDISON, E. M.; BARKER, I.K.; ROSENDAL, S. *Erysipelothrix rhusiopathiae*, Serotype 17, Septicemia in Moose (*Alces alces*) from Algoquin Park, Ontario. **Journal of Wild Life Diseases**, v. 30, n. 3, 1994. (Wildlife Disease Association).

CASTRO, A. F. P.; FILHO, O. C.; TROISE, C. Isolamento de *Erysipelothrix rhusiopathiae* de peixes marinhos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 9, n. 3, p. 169-171, 1967.

CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. **Diagnóstico de laboratorio de la tuberculosis animal**. Buenos Aires: CPZ, 1972. 48 p. (Nota tecnica, 26).

CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. **Metodos de laboratorio de micobacteriologia veterinaria para el aislamiento e identificación de micobacterias**. Buenos Aires: CPZ, 1973. 48 p. (Serie de monografías científicas y técnicas, 6).

CHALMERS, J. W. T.; JAMIESON, A. F.; RAFFERTY, P. An outbreak of bovine tuberculosis in two herds in south west Scotland: veterinary and public health response. **J. Public Health Medicine**, v. 18, p. 54-58, 1996.

CLARK, J. D.; OLFERT, E. D. Rodents. In: FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p. 728-739.

CLIFTON-HADLEY, R. S.; WILESMITH, J. W. Tuberculosis in deer: a review. **The Veterinary Record**, v. 129, p. 5-12. 1991.

COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PULSSELY, P. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. **Journal of Applied Microbiology**, v. 5, n. 6, p. 976-980, 1973.

COLEMAN, J. D. Distribution, prevalence and epidemiology of bovine tuberculosis in brushtail possums, *Trichosurus vulpecula*, in the Hohonu Range, New Zealand. **Australian Wildlife Research**, v. 15, p. 651-63, 1988.

COLLINS, C. H.; GRANGE, J. M. A review the bovine tubercle bacillus. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 55, p. 13-29, 1983.

CONKLIN, R. H.; STEELE, J. H. Erysipelothrix infections, p. 327-337. In: STEELE, J. H. (Ed.). **CRC handbook** Boca Raton, Fla. CRC Press, Inc. 1979. vol. 1, sect. A. p. 327-337. (Series in zoonoses).

CONTRERAS, M. A.; CHEUNG, O. T.; SANDERS, D. E.; GOLDSTEIN, R. S. Pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. **American Review of Respiratory Disease**, v. 137, p. 149-152, 1988.

CORDEIRO, F.; SULZER, C. R.; RAMOS, A. A. Leptospira interrogans in several wildlife species in Southeast Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 19-29. 1981.

COREY, R. R.; PAULISSEN, L. J.; SWARTZ, D. Prevalence of Brucella in the wildlife of Arkansas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, p. 8. 1964.

CORN, J. L.; LEE, R. M.; ERICKSON, G. A.; MURPHY, C. D. Serologic survey for evidence of exposure to vesicular stomatitis virus, pseudorabies virus, brucellosis and leptospirosis in collared peccaries from Arizona. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 23, p. 551-557, 1987.

- CORNER, L.A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. **Veterinary Microbiology**, v. 40, p. 53-63, 1994.
- CORNER, L. A.; BARRETT, R. H.; LEPPER, A. W. D.; LEWIS, V.; PEARSON, C. W. A survey of mycobacteriosis of feral pigs in the northern territory. **Australian Veterinary Journal**, v. 57, p. 537-542, 1981.
- CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. Tuberculose. In: _____. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, p. 317-337, 1992.
- COSTA, M. C. R.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; MARTINS, N. R. S. Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 1, p.11-17, 1998.
- COSTRINI, A. M.; MAHLER, D. A.; GROSS, W. M.; HAWKINS, J. E.; YESNER, R.; D'ESOPPO, N. D. Clinical and roentgenographic features of nosocomial pulmonary disease due to *Mycobacterium xenopi*. **American Review of Respiratory Disease**, v. 123, p. 104-109. 1981.
- COUSINS, D.V.; FRANCIS, B.R.; CASEY, R. *Mycobacterium bovis* infection in a goat. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, p. 262-263, 1993.
- CREECH, G. T. The bacillus of swine erysipelas isolated from urticarial lesions of swine in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 59, p. 139-150. 1921.
- CUETO, G. R.; ALLEKOTTE, R.; KRAVETZ, F. O. Scurvy in capybaras bred in captivity in Argentina. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, p. 97-101. 2000.
- DAUENDORFFER, J. N.; LAURAIN, C.; WEBER, M.; DAILLOUX, M. In vitro sensitivity of *Mycobacterium xenopi* to five antibiotics **Pathologie Biologie**, v.50, p. 591-594. 2002.
- DAVIS, D. S.; BOEER, W. J.; MIMS J. P.; HECK, F. C.; ADAMS, L. G. *Brucella abortus* in coyotes. A serological and bacteriological survey in eastern Texas. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 15. p. 367-372, 1979.
- DE LA VEGA, E. C.; GARCIA-CARRILLO, C.; ARCE, C. Infección natural por *Brucella* en comadreja (*Didelphis marsupialis*) en la República Argentina. **Revista Medicina Veterinaria Argentina**, v. 60, p. 283-286, 1979.

DE PAULA, C. D. **Dinâmica populacional da leptospirose em capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) de vida livre**. 2003 65 f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo, 2003.

DONNABELLA, V.; SALAZAR-SCHICCHI, J.; BONK, S.; HANNA, B.; ROM, W. N. Increasing incidence of *Mycobacterium xenopi* at Bellevue Hospital: an emerging pathogen or a product of improved laboratory methods? **Chest**, v. 118, p. 1365-1370, 2000.

EKDAHL, M. O.; SMITH, B. L.; MONEY, D. F. L. Tuberculosis in some wild and feral animals in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 18, p. 44-45, 1970.

ELHELOU, P.; RACHLIS, A.; FONG, I.; WALMSLEY, S.; PHILLIPS, A.; SALIT, I.; SIMOR, A. E. *Mycobacterium xenopi* infection in patients with human immunodeficiency virus infection, **Clinical Infectious Diseases**, v. 25, p. 206-210, 1997.

ELLIS, W. A. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 2, p. 411-421, 1984.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. **Mammals of the neotropics**. London: The University of Chicago Press, 1989.

FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization, 1982. 171 p. (WHO off set publication, 67).

FAINE, S. **Leptospira and Leptospirosis**. Boca Raton: CRC, 1994. 353 p.

FAVERO, A C. M.; MANGERONA, A. C. S.; ALESSI, L. J.; MORAIS, Z. M.; PINHEIRO, S. R.; FERREIRA NETO, J. S.; VASCONCELLOS, S. A. Aglutininas pós-vacinais em bovinos imunizados com bacterina tetravalente contra a leptospirose Influência de reações pré-vacinais, homólogas e heterólogas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 45-55, 1997.

FERÓN, E. M. New food sources conservation of biodiversity and sustainable development: can a inconvenient animal specie contribute to feeding the world? **Biodiversity and Conservation**, v. 4 n. 3, p. 233-240, 1995.

FERREIRA NETO, J. S.; CÔRTEZ, J. A.; SINHORINI, I. L.; VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H.; SILVA, E. A. M. A lesão tuberculóide macroscópica como critério diagnóstico da infecção micobacteriana em suínos abatidos em matadouro. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 26, p. 21-33, 1986.

FOURNIER, J. S.; GORDON, J. C. DORN, C. R. Comparison of antibodies to *Leptospira* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) and the cattle in Ohio. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 22, n. 3, p. 335-339, 1986.

FRAGOSO, J. M. Large mammals and the community dynamics of Amazonian rain forest. 1994. 209 p. PhD Dissertation. University of Florida. 1994.

FREITAS, D.C.; VEIGA, J. S.; LACERDA, J. R.; LACERDA, J. P. Identificação da leptospirose bovina no Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 6, p. 81-84, 1957.

GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Journal of Applied Microbiology**. v. 13, n. 1, p. 81-85, 1965.

GARIN-BASTUJI, B.; OUDAR, J.; RICHARD, Y.; GASTELLU, J. Isolation of *Brucella melitensis* Biovar 3 from a chamos (*Rupicapra rupicapra*) in the southern French Alps. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 26, p. 116-118. 1990.

GILMARTIN W. G.; ALLEN, J. F.; RIDGWAY, S. H.; Vaccination of porpoises (*tursiops truncatus*) against *erysipelothrix rhusiopathiae* infection **Journal of Wildlife Diseases**. . 7, October, 1971.

GLEDHILL, A. W. Discussion on swine erysipelas (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) in man and animals. **Proceedings of the Royal Society of Medicine**. v. 41. p. 330-332. 1948.

GONZÁLES JIMÉNEZ, E. G. **El capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris*): estado actual de su producción**. Roma: FAO, p. 51-57, 1995. (Estudio FAO Produccion y sanidad animal, 122).

GRANGE, J. M. Human and bovine tuberculosis – New threats from an old disease. **British Veterinary Journal**, v.152, n. 3, p. 3-5, 1996.

GROSS, W. M.; HAWKINS J. E.; MURPHY, D. B. Origin and significance of *Mycobacterium xenopi* in clinical specimens. Water as a source of contamination. **Bulletin of the International Union against Tuberculosis**. v. 51, p. 267-269. 1976.

GRUVER, K. S.; GUTHRIE, J. W. Parasites and selected diseases of collared peccaries (*Tayasu tajacu*) in the Trans-Pecos region of Texas. **Journal of Wildlife Disease**, v. 32, n. 3, p. 560-562, 1996.

GUERRA NETO, G. **Frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil**, 2006. 56p. Tese (Mestrado), Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, 2006.

HAJNA, A. A. Triple-sugar iron agar medium for the identification of the intestinal group of bacteria. **The journal of bacteriology**. v. 49, p. 516-517 1945.

HATHAWAY, S.C. Leptospirosis in New Zealand: an ecological view: **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, p. 109-112, 1981.

HAYES, F. A. Wildlife reservoirs of brucellosis. In: **Bovine brucellosis**. An international symposium, R. P. Crawford and R. J. Hidalgo (eds.). Texas Agricultural and Mechanical University Press, College Station, Texas, pp. 269-276. 1977.

HORSCH, F. Leptospirose. In: BERER, J. (Ed.). **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, p. 305-326. 1999.

HUNTER, D. **The diseases of occupations**, 5th ed., The English Universities Press, Ltd., London. p.709-712. 1974.

HUSSEIN, Z.; LANDT, O.; WIRTHS, B.; WELLINGHAUSEN, N. Detection of non-tuberculous mycobacteria in hospital water by culture and molecular methods. **International Journal of Medical Microbiology**. v. 299 (4), p. 281-90. 2009.

ITO, F. H.; VASCONCELLOS, S. A.; BERNARDI, F.; NASCIMENTO, A. A.; LABRUNA, M. B.; ARANTES, I. G. Evidência sorológica de brucelose e leptospirose e parasitismo por ixodídeos em animais silvestres do Pantanal Sul-mato-grossense. **Ars Veterinária**. v. 14, n. 3, p. 302-310, 1998.

JARNAGIN, J. L.; RICHARDS, W. D.; MUHM, R. L; ELLIS, E. M. The isolation of *Mycobacterium xenopi* from granulomatous lesions in swine. **American Review of Respiratory Disease**. v. 104, p. 763-765. 1971.

JELAMBI, F. Leptospirosis em chiguires (*Hydrochoerus hydrocaeris*). In: **Jornadas Veterinárias**, Maracay. Maracay: Instituto de Investigaciones Veterinárias/ CENIAP/ MAC, p.791-793. 1974.

KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; JÁCOMO, A. T. A.; MARVULO, M. F.; SILVA, J. C. R.; SUERO, D. R.; FERRO, C.; ASTETE, S. A.; TORRES, N. M.; SILVEIRA, L. 2004. **Brucelose em queixadas *Tayassu pecari*, de vida livre da região do Parque Nacional das Emas.** In: XXV Congresso Brasileiro de Zoologia, Brasília, 2004.

KHAN, M.A.; GOYAL, S.M.; DIESCH, S.L.; MECH, D.; FRITTS, S.H. Seroepidemiology of leptospirosis in Minnesota wolves. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.27, n.2, p.248-53, 1991.

KOIZUMI, J.H.; SOMMERS, H. M. *Mycobacterium xenopi* and pulmonary disease. **American Journal of Clinical Pathology**. v. 73. p. 826-830. 1980.

KUCSERA, G. Serological typing of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains and the epizootiological significance of the typing. **Acta Veterinaria Hungarica**. v. 27, p. 19-28. 1979.

LA SCOLA, B.; BUI, L. T. M.; BARANTON, G.; KHAMIS, A.; RAOULT, D. Partial rpoB gene sequencing for identification of *Leptospira* species; **FEMS Microbiology Letters**. v. 263, n. 3, p. 142-147. 2006.

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

LILENBUM, W.; SOUZA, G. N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 75, n. 3, p. 249-251, 2003.

LISS, G. M.; WONG, L.; KITTLE, D. C.; SIMOR, A.; NAUS, M.; MARTIQUET, P. Occupational exposure to *Mycobacterium bovis* infection in deer and elk in Ontario. **The Canadian Journal of Public Health**. v. 85, p. 326-329. 1994.

LONIGRO, J. G.; LAREGINA, M. D. Characterization of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from an opossum (*Didelphis virginiana*) with septicemia. **Journal of Wildlife Disease**. v. 24, p. 557-559. 1988.

LORD, V.; FLORES, R. C. *Brucella* spp. from the capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Venezuela: serologic studies and metabolic characterization of isolates. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 19, n. 4, p. 308-314, 1983.

LORD, V. R.; LORD, R. D.; *Brucella suis* infection in collared peccaries in Venezuela. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 27, p. 477-481, 1991.

MAKINO, S.; OKADA, Y.; MARUYAMA, T.; ISHIKAWA, K.; TAKAHASHI, T.; NAKUMURA, M.; EZAKI, T.; MORITA, H. Direct and rapid detection of *Erysipelothrix rhusiopathiae* DNA in animals by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 32, p. 1526–1531. 1994.

MARVULO, M. F. V. ; SILVA, J. C. R. ; FERREIRA, P. M. ; MORAIS, Z. M. ; MORENO, A. M. ; DOTO, D. S. ; PAIXÃO, R. ; BACCARO, M. R. ; VASCONCELOS, S. A. ; FERREIRA NETO, J. S. Experimental leptospirosis in capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) infected with *Leptospira interrogans* serovar pomona. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 40, p. 726-730, 2009

MAYER, J. J.; BRANDT, P.N. Identity, distribution, and natural history of the peccaries, Tayassuidae. In: **Mammals Biology of South America**, M.A. Mares and H.H. Genoways, eds. Pittsburg, Pa.: University of Pittsburg Press. 433-455. 1982.

McDIARMID, A. **Diseases of free-living wild animals**. Roma: FAO, 1962. 126 p. (FAO agricultural studies, 57).

MENDOZA, P.; MAYOR, P.; HUGO, A.; GÁLVEZ, M. J. CÉSPEDES, F. J. **Antibodies against *Leptospira* spp. in Captive Collared Peccaries, Peru**. *Emerging Infectious Diseases*. v. 13, n. 5, maio, 2007.

MICHEL A. L. **Implications of tuberculosis in African wildlife and livestock**. In *Annals of the New York Academy of Sciences*. v. 969, p. 251-225. 2002.

MITCHELL, M.A.; HUNGERFORD, L.L.; NIXON, C.; ESKE, T.; SULLIVA, J.; KOERKENMEIER, R.; DUBEY, J.P. Serologic survey for selected infectious disease agents in raccoons from Illinois. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.35, n.2, p.347-55, 1999.

MODA, G.; DABORN, C. J.; GRANGE, J.M.; COSIVI, O. The zoonotic importance of *Mycobacterium bovis*. **Tubercle and Lung Disease**. v. 77, n. 2, p.103–108. 1996.

MODRIC, Z.; HUBER, D. Serologic survey for Leptospirae in european brown bears (*Ursus arctos*) in Croatia. **Journal of Wildlife Diseases**, Kansas, v.29, n.4, p.608-11, 1993.

MONDOLFI, E. **La laca o Paca. Defensa de la naturaleza**. Caracas, v. 2, n. 5, p. 4-16, 1972.

MOORE, C. G.; AND P. R. SCHNURRENBERGER. A review of naturally occurring *Brucella abortus* infections in wild mammals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 179, p. 1105- 1112. 1981.

MOREIRA; J.R.; MACDONALD, D.W. Técnicas de manejo de capivara e outros grandes roedores na Amazônia. In: VALLADARES-PADUA, C.; BODMER, R.E.; CULLEN J.R.; L. (Eds) **Manejo e conservação da vida silvestre no Brasil**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, p. 186-213, 1997.

MORGAN, M. J., BRITT, J. O.; COCKRILL, J. M.; EITEN, M. L. *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection in an emu (*Dromaius novaehollandiae*). **The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 6, p. 378-379. 1994.

MORRIS, R. S.; PFEIFFER, D. U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. **Veterinary Microbiology**. v. 40, p. 153-77. 1994.

MUNDAY, B.L. A serological study of some infectious diseases of Tasmanian wildlife. **Journal of Wildlife Diseases**. v. 8, April, 1972.

MURASE, N.; EBI, Y. Studies on the typing of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. IV Epidemiological significance of *E. rhusiopathiae* harboured in the tonsils of apparently healthy pigs. **Jpn. J. Vet. Science**, v. 22, p. 1-10, 1960.

MYERS, D. M. **Manual de métodos, para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis**. Martinez: OPAS, Centro Panamericano de Zoonosis, 1985.

NAVA A. F. D. **Espécies sentinelas para a Mata Atlântica: as consequências epidemiológicas da fragmentação florestal no Pontal do Paranapanema, São Paulo**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências. São Paulo, 2008.

NISHIYAMA, S. M.; Moraes, M. P.; Figueiredo, A. S.; Pompermayer, L. G.; Paula, T. A. R. **Perfil sorológico de capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) mantidas em cativeiro**. In: Congresso E Encontro Da Associação Brasileira De Veterinário De Animais Selvagens, 6, 2002, Guarapari. Anais... São Paulo: Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens, 2002. p. 26.

NOGUEIRA, M. F.; LANGONI, H.; LAVORENTI, A.; GIMENES, S. M.; NOGUEIRA FILHO, S. L. G. **Deteção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-*Brucella abortus* em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*)**. In: XIX Congresso Brasileiro De Microbiologia, 1997, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 1997. p. 120.

NOGUEIRA, M. F.; CRUZ, T. F. **Doenças da Capivara**. Dados eletrônicos. – Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007. 74 p. Disponível em <http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=Livro030> Acesso em: 21 mar. 2008.

OIE, OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. **Terrestrial animal health code**, 2004. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00052.htm> Acesso em: 15 jul, 2009.

O'REILLY, L.M.; DABORN, C.J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: a review. **Tubercle and Lung Disease**, v. 76 (Supplement 1), p. 1-46, 1995. Supplement, 1.

PACE, L. W.; CHENGAPPA, M. M.; GREER, S.; ALDERSON, C. Isolation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from a Red-tailed Hawk (*Buteo jamaicensis*) with a Concurrent Pox Virus Infection. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 23, n. 4, p. 671-673, 1987.

PACHALY, J. R.; ACCO, A.; LANGE, R. R; NOGUEIRA, T. M. R.; NOGUEIRA, M. F.; CIFFONI, E. M.; Order Rodentia (rodents). In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine and surgery of south American wild animals**. Ames: Iowa State University, p. 225-296, 2001.

PAIVA, R. Capivara: bicho novo no pasto. **Globo Rural**, n.80, p.42-47, 1992.

PAULIN, L.M.; FERREIRA NETO, J.S. **O combate a brucelose bovina: situação brasileira**. Jaboticabal: Funep, 2003. 154p.

PÉREZ, E. M. Mammalian Species – Agouti paca. **The American Society of Mammalogists**, n. 404, p. 1-7, 1992.

PETTIT, J. H.; COUGH, A. W.; TRUSCOTT, H. B. *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection in chukar partridge (*Alectoris graeca*). **Journal of Wildlife Diseases**. v. 12, p. 254-255, 1976.

PINHEIRO, M. S.; SILVA, J. J.C.; RODRIGUES, R. C. **Sistemas de criação de capivaras**, -- Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. 84 p. Embrapa Clima Temperado. Documentos, 152. 2005.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um Tratado de doenças dos bovinos, ovinos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 841.

RAMSAY; E. C.; BAUMEISTER, B. M. Isolation of *Erysipelothrix rhusiopathiae* from lesions of Distal Extremity Necrosis in a Captive King Vulture. **Journal of Wild Life Diseases**, v. 22, n. 3, p. 430-431, 1986.

ROSALES-RODRIGUEZ, C. A. **Sistema de detecção de focos de tuberculose bovina no Estado de São Paulo utilizando métodos moleculares e epidemiológicos**. 2005. 86 f. Tese (Doutorado). In: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

ROSEMBERGER, G. **Enfermedades de los bovinos**. Buenos Aires, Editorial Hemisferio Sur, v.2, p. 139-51, 1983.

SÁNCHEZ, L.; CEPEDA, R.; MORANO, T.S. Analisis de um brote epidemiológico de brucellosis en trabajadores de un matadero. **Revista Española de Salud Pública**. v. 72, p. 137-146, 1998.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. **Revista de Microbiologia**, v. 1, n. 2, p. 97, 1970.

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; YANAGUITA, R. M.; SILVA, A. S. Leptospirosis in wildlife in Brasil: isolation of serovars canicola, pyrogenes and grippothyphosa. **International Journal of Zoonosis**, v. 7, n. 1, p. 40-43, 1980.

SEBAKOVA, H.; KOZISEK, F.; MUDRA, R.; KAUSTOVA, J.; FIEDOROVA, M.; HANSLIKOVA, D. Incidence of nontuberculous mycobacteria in four hot water systems using various types of disinfection. **Canadian Journal of Microbiology**. v. 54, n.11, p. 891-8. Nov, 2008.

SHAFER, R.W.; SIERRA, M. F. *Mycobacterium xenopi*, *Mycobacterium fortuitum*, fast bacilli occurring in man. **The Journal of hygiene**. v. 57, p. 57-67. 1959.

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

SHIMOJI, Y.; MORI, Y.; HYAKUTAKE, K.; SEKIZAKI, T.; YOKOMIZO, Y. Use of an Enrichment Broth Cultivation-PCR Combination Assay for Rapid Diagnosis of Swine Erysipelas. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 86-89, 1998.

SHUMAN, R.D. Erysipelothrix. In: DAVIS, J. W.; ANDERSON, R.C.; KARSTAD, L.H.; TRAINER, D.O. (Ed.). **Infection and Parasite Diseases of Wild Birds**. Ames: Iowa State University Press. 1971, p.141.

SILVA, E. F.; SEYFFERT, N; JOUGLARD, S. D. D.; ATHANAZIO, D. A.; DELLAGOSTIN, O. A.; BROD, C. S. Soroprevalência da infecção leptospiral em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) abatidas em um frigorífico do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 29, n. 2, 2009.

SIMOR, A. E.; SALIT, I. E.; VELLEND, H. The role of *Mycobacterium xenopi* in human disease **American Review of Respiratory Disease Journal**. v. 129, p. 435-438, 1984.

SMITH, M.J.; CITRON, K.M. Clinical review of pulmonary disease caused by *Mycobacterium xenopi*. **Thorax**, v. 38, p. 373-377, 1983.

SNEATH, P. H.; ABBOTT, A. J. D.; CUNLIFFE, A. C. The bacteriology of erysipeloid. **British Medical Journal**, v. 2. p. 1063-1066. 1951.

SNIADACK, D. H.; OSTROFF, S. M.; KARLIX, M. A.; SMITHWICK, R. W.; SCHWARTZ, B.; SPRAUER, M. A.; SILCOX, V. A.; GOOD, R. C. A nosocomial pseudo-outbreak of *Mycobacterium xenopi* due to a contaminated potable water supply: lessons in prevention. **Infection Control and Hospital Epidemiology**. v. 14, p. 636-641, 1993.

SOWLS, L. K. **Javelinas and other peccaries: their biology, management, and use**. 20 ed. Texas: A e M University Press. College Station, 1997. 325 p.

STETTER, M.D.; MIKOTA, S.K.; GUTTER, A.F.; MONTERROSO, E.R.; DALOVISIO, J.R.; DEGRAW, C.; FARLEY, T. Epizootic of *Mycobacterium bovis* in a zoologic park. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 207. n. 12, p.1618-21, 1995.

SZYFRES, B., TOME, J. G. Natural *Brucella* infection in Argentina wild foxes. **Bulletin of World Health Organization**, v. 34. p. 919-923, 1966.

TAKAHASHI, T.; NAGAMINE, N.; KIJIMA, M.; SUZUKI, S.; TAKAGI, M.; TAMURA, Y.; NAKAMURA, M.; MURAMATSU, M.; SAWADA, T. Serovars of *Erysipelothrix* strains isolated from pigs affected with erysipelas in Japan. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 58, p. 587-589, 1996.

- TECSON-TUMANG, F. T.; BRIGHT, J. L. *Mycobacterium xenopi* and the acquired immunodeficiency syndrome [letter]. **Annals of Internal Medicine**, v. 100, p. 461-462, 1984.
- TELENTI, A.; MARCHESI, F.; BALZ, M.; BALLY, F.; BÖTTGER, E. C.; BODMER, T. Rapid Identification of Mycobacteria to the Species Level by Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 2, p. 175-178, 1993.
- THOEN, C. O., JARNAGIN, J. L. & RICHARDS, W. D. Isolation and identification of mycobacteria from porcine tissues : a three-year summary. **American Journal of Veterinary Research**. v. 36, p. 1383-1386, 1975.
- THOEN, C. O.; KARLSON, A. G.; HIMES, E. M. Mycobacterium tuberculosis complex. In: Kubica, G. P.; WAYNE, L. G. **The Mycobacteria: a sourcebook**. New York, Marcel Dekker, Part B. p. 1209-35, 1984.
- TOMASOVIC, A. A.; RAC, R.; PURCELL, D. A. *Mycobacterium xenopi* in a skin lesion of a cat. Letter. **Australian Veterinary Journal**, v. 52, p. 103, 1976.
- TORKKO, P.; SUOMALAINEN, S.; IIVANAINEN, E.; SUUTARI, M.; TORTOLI, E.; PAULIN, L.; KATILA, M. L. *Mycobacterium xenopi* and related organisms isolated from stream waters in Finland and description of *Mycobacterium botniense* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 50, p. 283-289, 2000.
- TWEDDLE, N. E.; LIVINGSTONE, P. Bovine tuberculosis control and eradication programs in Australia and New Zealand. **Veterinary Microbiology**, v. 40, p. 23-39, 1994.
- VASCONCELLOS, S. A. O papel dos reservatórios na manutenção da leptospirose na natureza. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 11, n. 1, p. 17-24, 1987.
- WITTER, J. F. Brucellosis. In: DAVIS, J. W.; KARSTAD, L. H.; TRAINER, D. O. (Ed.). **Infectious diseases of wild mammals**, Iowa: Iowa State University Press, Ames, 1982. p. 280-287.
- WOOD, R. L. Erysipelothrix infection, p. 271-281. In: HUBBERT, W. T.; MCCULLOUGH, W. F.; SCHNURRENBERGER, P. R. (Ed.). **Diseases transmitted from animals to man**, 6th ed. Springfield, Charles C. Thomas, Publisher, 1975.
- WOOD, R. L. A selective liquid medium utilizing antibiotics for isolation of Erysipelothrix insidiosa. **American Journal of Veterinary Research**, v. 26, p.1303-1308, 1965.

WOOD, R. L. Erysipelas In: STRAW, B. E.; MENGELING, W. L.; TAYLOR, D. J.; D'ALLAIRE, S. (Ed.). **Diseases of Swine**, Ames: Iowa State University, 1999. p. 419-431.

WOOD, R. L.; SHUMAN, R. D. Erysipelothrix infection. In: DAVIS, J. W.; KARSTAD, L.H.; TRAINER, D.O. (Ed.). **Infectious diseases of wild mammals**, 2 ed. Ames: Iowa State University Press. 1981. p. 297-305.

WOODBINE, M. Erysipelothrix rhusiopathiae. Bacteriology and chemotherapy. **Bacteriological Reviews**, v. 14, p. 161-178, 1950.

WOODS, G. G.; DONALDS, B. R.; SNYDER, W.A.; HANSON, L.E. Serology of New Mexico javelin (*Pecari angulatus*) for evidence of some zoonotic infections. **Bulletin Wildlife Disease Association**, v. 4, p. 139, 1968.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Current problems in leptospirosis research**: Report of a WHO expert group. Geneva: World Health Organization. 1967. (Technical Report Series of the World Health Organization, n° 380).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control**. Geneva: WHO, 2003. p. 107.

WRIGHT, E. P.; COLLINS, C. H.; YATES, M. D. *Mycobacterium xenopi* and *Mycobacterium kansasii* in a hospital water supply. **The Journal of Hospital Infection**, v. 6, p. 175-178, 1985.

YASUDA, P. H.; STEIGERWALT, A. G.; SULZER, K. R. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 37, p. 407-415, 1987.