

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DAS LEPTOSPIROSES
EM SERPENTES DO BRASIL. II. LEVANTAMENTO SOROLÓGICO EM
CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS LAURENTI, 1768
(VIPERIDAE: CROTALINAE) — CASCAVEL *

Carlos Almeida SANTA ROSA **
Saburô HYAKUTAKE ***
Pérsio de BIASI ****
Hélio Emerson BELLUOMINI *****
Massami KAWARABAYASHI *****
Antonella GODANO *****

RIALA6/492

SANTA ROSA, C.A.; HYAKUTAKE, S.; BIASI, P.; BELLUOMINI, H.E.;
KAWARABAYASHI, M. & GODANO, A. — Contribuição ao estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil. II. Levantamento sorológico em *Crotalus durissus terrificus* Laurenti, 1768 (Viperidae: Crotalinae) — Cascavel. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 40(1):9-13, 1980.

RESUMO: Em seqüência a um trabalho anterior, os autores examinaram 73 soros de serpentes peçonhentas da espécie *Crotalus durissus terrificus*, conhecida como cascavel, usando como método a reação de soroaglutinação microscópica empregando uma bateria de 22 sorotipos como antígenos. O índice de positividade encontrado foi de 45,2%, sendo predominante o sorotipo *andamana* em 11 (3,2%) soros. Outros sorotipos tais como *cynopteri*, *ballum*, *bataviae*, *panama*, *icterohaemorrhagiae* e *pomona* também foram encontrados isoladamente ou em coaglutinação. Os títulos nas reações positivas variaram de 1:100 a 1:800. Foram analisados também o "habitat" do cascavel bem como seu possível papel na transmissão da leptospirose humana e animal.

DESCRITORES: leptospirose em serpentes, Brasil; *Crotalus durissus terrificus* (cascavel); serpentes, infecção por *Leptospira*; reservatórios de doença.

INTRODUÇÃO

A participação de animais silvestres, principalmente de roedores, na epidemiologia da leptospirose é fato indiscutível. Em geral se comportam como portadores permanentes de vários sorotipos de leptospirosas, ao contrário

de outros animais que são apenas portadores temporários ou transitórios. Esta permanência do estado de portador faz com que os ambientes em que vivem ou circulam tais animais estejam permanentemente contaminados por leptospirosas, eliminadas com a urina e, em conseqüência, constituam uma fonte permanente de infecção para o homem e outros animais.

* Realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. Apresentado no 13.º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical e 2.º Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Brasília, DF, de 27 fev. a 3 mar., 1977. A parte I deste trabalho foi publicada em: Mem. Inst. Butantan, 40/41:173-80, 1976/77.

** Da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

*** Do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

**** Do Instituto Butantan, São Paulo, SP.

***** Do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

A despeito do grande número de trabalhos existentes sobre leptospirose em espécies silvestres, como portadoras, pouco ou muito pouco se tem pesquisado em relação aos ofídios. Até 1958 tais pesquisas eram praticamente inexistentes². Posteriormente surgiram os trabalhos de COMBIESCO *et alii*⁴, FERRIS *et alii*⁸, ABDULLA & KARSTAD¹, WHITE¹⁵ e VAN DER HOEDEN¹⁴. Na América do Sul, destacam-se os trabalhos de HYAKUTAKE *et alii*¹¹ e BIASI *et alii*³, no Brasil e HIDALGO & MENESSES¹⁰, no Peru.

O presente trabalho descreve uma pesquisa de anticorpos antileptospiras em *Crotalus durissus terrificus* e a tentativa de isolamento de leptospiras na mesma espécie de serpente.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Foram examinadas 73 amostras de soros de serpentes peçonhentas, da espécie *Crotalus durissus terrificus*, vulgarmente conhecida como "cascavel", obtidas do Serviço de Animais Peçonhentos do Instituto Butantan de São Paulo; 30 amostras provinham de animais capturados na região de Juiz de Fora, em

Minas Gerais, e as demais tinham procedência variada.

Colheita de material

De todas as serpentes foram colhidas amostras de sangue para a obtenção de soro e, apenas em 10, foram colhidos rins para uma tentativa de isolamento. A técnica empregada em ambas as colheitas foi a mesma descrita em trabalho anterior¹¹.

Método de soroaglutinação

Foi usada como método diagnóstico a reação de soroaglutinação microscópica, de acordo com a recomendação do grupo de peritos da Organização Mundial da Saúde. Como antígenos foram empregadas culturas vivas de 27 sorotipos de leptospiras, conforme a tabela 1. A leitura da reação, feita em microscópio provido de condensador de campo escuro, obedeceu aos critérios adotados pela OMS. Foi considerado como positivo o soro que apresentou um título de 1:100.

Isolamento

Foram semeados, em meio de Fletcher, fragmentos de rins de 10 serpentes seguindo-se a técnica descrita por HYAKUTAKE *et alii*¹¹.

TABELA 1

Bateria de antígenos composta de 27 sorotipos de leptospiras

Sorogrupo	Sorotipo	Cepa
Icterohaemorrhagiae	<i>icterohaemorrhagiae</i>	RGa
	<i>copenhagani</i>	M 20
Canicola	<i>canicola</i>	Hond Utrecht IV
Pomona	<i>pomona</i>	Pomona
Grippotyphosa	<i>grippotyphosa</i>	Moskva V
Tarassovi	<i>tarassovi</i>	Perepelicin
Hebdomadis	<i>hebdomadis</i>	Hebdomadis
	<i>wolffi</i>	3705
	<i>sejroe</i>	M 84
	<i>saxkoebing</i>	Mus 24
	<i>goiano</i> *	—
Australis	<i>guaicurus</i> *	—
	<i>australis</i>	Ballico
Bataviae	<i>bataviae</i>	Swart
	<i>brasiliensis</i> *	An 776
	<i>castellonis</i>	Castellon 3
Ballum	<i>panama</i>	CZ 214 K
Pyrogenes	<i>pyrogenes</i>	Salinem
	<i>guaratuba</i> *	An 7705
Javanica	<i>javanica</i>	Veldrat Bat. 46
Autumnalis	<i>autumnalis</i>	Akiyami A
	<i>djasiman</i>	Djasiman
Cynopteri	<i>cynopteri</i>	3522 C
Shermani	<i>shermani</i>	LT 821
Celledoni	<i>whitcombi</i>	Whitcombi
Andamana	<i>andamana</i>	CH 11
Semarangia	<i>patoc</i>	Patoc I

* Novos sorotipos isolados, no Brasil, por Santa Rosa *et alii*: *goiano* e *guaicurus*, de bovino; *brasiliensis*, de gambá (*Didelphis marsupialis*) e *guaratuba*, de cuíca (*Philander opossum*).

RESULTADOS

Dos 73 soros examinados, 33 (45,2%) foram positivos para vários sorotipos de leptospiroses (tabela 2). Deles, 11 (3,2%) reagiram apenas com o sorotipo *andamana*, sendo que dois eram do grupo procedente de Juiz de Fora. Em 10 outros as reações foram positivas com os sorotipos *panama*, *icterohaemorrhagiae*, *cynopteri* e *bataviae*. E finalmente, nos 12 soros restantes, foram verificadas reações de coaglutinação entre sorotipos diversos, da seguinte maneira:

1. <i>panama</i>	1:100
<i>bataviae</i>	1:800
2. <i>icterohaemorrhagiae</i>	1:100
<i>panama</i>	1:200
3. <i>icterohaemorrhagiae</i>	1:400
<i>panama</i>	1:100
4. <i>icterohaemorrhagiae</i>	1:400
<i>ballum</i>	1:100

5. <i>icterohaemorrhagiae</i>	1:400
<i>ballum</i>	1:100
6. <i>andamana</i>	1:100
<i>autumnalis</i>	1:100
<i>ballum</i>	1:100
7. <i>panama</i>	1:200
<i>ballum</i>	1:200
8. <i>pomona</i>	1:100
<i>bataviae</i>	1:100
9. <i>andamana</i>	1:200
<i>ballum</i>	1:100
10. <i>andamana</i>	1:100
<i>javanica</i>	1:100
11. <i>andamana</i>	1:200
<i>javanica</i>	1:100
12. <i>andamana</i>	1:200
<i>ballum</i>	1:100

Destas reações, os soros designados pelos números 6 e 12 eram também de serpentes do grupo proveniente de Juiz de Fora.

Dos 33 soros positivos, 16 eram de machos e 17 de fêmeas.

TABELA 2

Resultado parcial da reação de soroaglutinação microscópica em soros de *Crotalus durissus terrificus*

Sorotipos	Títulos 1:				Total
	100	200	400	800	
<i>andamana</i>	4	3	2	2	11
<i>panama</i>	3	1	1	0	5
<i>icterohaemorrhagiae</i>	1	1	0	0	2
<i>cynopteri</i>	1	1	0	0	2
<i>bataviae</i>	1	0	0	0	1

DISCUSSÃO

A ocorrência de infecção natural por leptospiroses em serpentes do Brasil já foi anteriormente assinalada^{3, 11}. Agora, torna-se ainda mais evidente ao ser encontrada em uma das espécies mais comuns neste país, a *Crotalus durissus terrificus*, a conhecida cascavel. Ao lado das escassas pesquisas sobre leptospirose em ofídios feitas no exterior^{1, 4, 8, 10, 14, 15}, este fato pode sugerir mais uma vez que as serpentes, peçonhentas ou não, devem desempenhar também o seu papel na epidemiologia das leptospiroses.

Em regiões agrestes, nos campos, nos pastos onde são criados rebanhos bovinos, cobras são encontradas convivendo com eles e não raro acontecem acidentes ofídicos, mortes por

picadas não somente em animais como também no homem. Se este perigo existe associe-se a ele a possibilidade de, por intermédio de cobras portadoras de leptospiroses, se dar a transmissão da doença para animais domésticos, principalmente bovinos, eqüinos e cães de caça. Não se discute aqui o mérito da extensão deste perigo pois ela estaria na dependência de serem os ofídios portadores permanentes ou transitórios de leptospiroses, condição até o momento ainda não esclarecida.

No tocante à cascavel, sabe-se que é serpente de hábitos noturnos, sendo encontrada geralmente no campo e em regiões secas, ocultando-se durante o dia em reentrâncias ou depressões do terreno, e também em cupins. Em geral se alimenta de roedores e assim pode infectar-se ao ingerir um rato. E como é rela-

SANTA ROSA, C. A.; HYAKUTAKE, S.; BIASI, P.; BELLUOMINI, H. E.; KAWARABAYASHI, M. & GODANO, A. — Contribuição ao estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil. II. Levantamento sorológico em *Crotalus durissus terrificus* Laurenti, 1768 (Viperidae, Crotalinae) — Cascavel. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(1):9-13, 1980.

tivamente grande o número de sorotipos encontrados em roedores silvestres, cresce também a possibilidade de se infectarem as cascavéis com um número cada vez maior de tais sorotipos.

Tal como aconteceu com a *Bothrops pradoi*, em trabalho anterior³, também em *Crotalus durissus terrificus* o sorotipo mais encontrado em reações sorológicas foi o *andamana*. Até há poucos anos este sorotipo era considerado saprófita, até que foi incriminado como agente de casos de leptospirose humana em São Paulo^{5,6}. Recentemente, vem também de ser isolado em rato (*Rattus norvegicus*), em Israel¹³, e em *Bothrops pradoi*, em São Paulo, Brasil, por HYAKUTAKE *et alii*¹¹. Por outro lado, anticorpos para sorotipos patogênicos

tais como *bataviae*, *panama*, *cynopteri*, e *icterohaemorrhagiae* também foram encontrados isoladamente em soros de cascavel, ao lado de reações de coaglutinação, inclusive com *ballum* e *pomona*. Como este último já foi encontrado no Brasil em bovino e suínos¹², causando aborto, e também em cães vadios da cidade de São Paulo¹⁶, deve-se ressaltar a importância de ofídios que sejam reservatórios do sorotipo *pomona*. No entanto, novos estudos devem ser conduzidos neste campo, em outras espécies de serpentes, procurando, inclusive, a presença de outros sorotipos de leptospirose. É também importante verificar a possibilidade da transmissão intraespécies, bem como o tempo de duração do estado de portador, para melhor se avaliar o papel das serpentes na transmissão da doença.

RIALAG/492

SANTA ROSA, C.A.; HYAKUTAKE, S.; BIASI, P.; BELLUOMINI, H.E.; KAWARABAYASHI, M. & GODANO, A. — Contribution to the epidemiological study of leptospirosis in Brazilian snakes. II. Serological survey of *Crotalus durissus terrificus* Laurenti, 1768 (Viperidae: Crotalinae). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(1):9-13, 1980.

ABSTRACT: In a further study, 73 specimens of sera from poisonous snakes of the species *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae: Crotalinae) were tested for agglutinins against leptospires. Positive results were obtained in 33 (45.2%) sera; 11 (3.2%) showed agglutinins against serotype *andamana* (titers of 1:100 to 1:800); 10 sera reacted against *panama*, *icterohaemorrhagiae*, *cynopteri* and *bataviae* (titers 1:100 to 1:400) while the remaining 12 sera presented coagglutinins between *andamana* and *javanica* (2 sera); *andamana* and *ballum* (2 specimens); *andamana*, *autumnalis* and *ballum* (1 specimen); *icterohaemorrhagiae* and *ballum* (2 sera); *icterohaemorrhagiae* and *panama* (2 sera); *panama* and *bataviae* (1 serum); *panama* and *ballum* (1 serum) and *pomona* and *bataviae* (1 specimen). The possible role of *Crotalus durissus terrificus* in the transmission of leptospirosis to domestic and wild animals is stressed.

DESCRIPTORS: leptospirosis in snakes, Brazil; *Crotalus durissus terrificus*; snakes, *Leptospira* infection; snakes, disease reservoirs.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDULLA, P.K. & KARSTAD, L. — Experimental infections with *Leptospira pomona* in snakes and turtles. *Zoonoses Res.*, 1(16):295-306, 1962.
2. BABUDIERI, B. — Animal reservoirs of leptospiroses. *Ann. New York Acad. Sci.*, 70:393-413, 1958.
3. BIASI, P.; HYAKUTAKE, S.; BELLUOMINI, H.E. & SANTA ROSA, C.A. — Contribuição ao estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil. I. Levantamento sorológico em *Bothrops pradoi* Hoge, 1948 (Viperidae: Crotalinae). *Mem. Inst. Butantan*, 40/41:173-80, 1976/77.
4. COMBIESCO, D.; STURDZA, N.; RADU, I.; SEFER, M. & NICOLESCO, I. — Recherches concernant les sources d'infection dans les leptospiroses. *Arch. roum. Path. exper.*, 18:361-72, 1959.
5. CORRÊA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S.; NATALE, V.; TIRIBA, A.C. & GALVÃO, P.A.A. — Leptospiroses humanas ainda não assinaladas no Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 6:71-4, 1964.
6. CORRÊA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S.; NATALE, V.; TIRIBA, A.C.; MARTIRANI, I.; GALVÃO, P.A.A.; ALBANO, A.; FILIPPI, J.; FARHAT, C.K. & AMATO NETO, V. — Leptospirose humana por *Leptospira andamana*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 13:137-43, 1971.

SANTA ROSA, C. A.; HYAKUTAKE, S.; BIASI, P.; BELLUOMINI, H. E.; KAWARABAYASHI, M. & GODANO, A. — Contribuição ao estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil. II. Levantamento sorológico em *Crotalus durissus terrificus* Laurenti, 1768 (*Viperidae*, *Crotalinae*) — Cascavel. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 40(1):9-13, 1980.

7. ESTADOS UNIDOS. Public Health Service. Center for Disease Control. *Leptospiral serotype distribution lists and supplement: according to host and geographic area*, 1966 — 1973. Atlanta, 1975.
8. FERRIS, D.H.; RHOADES, H.E.; HANSON, L.E.; GALTON, M. & MANSFIELD, M.E. — Research into the nidality of *Leptospira ballum* in campestrial hosts including the hog-nosed snake (*Heterodon platyrhinus*). *Cornell Vet.*, 51: 405-19, 1961.
9. FREITAS, D.C.; VEIGA, J.S.; LACERDA JR., P.M.G. & LACERDA, J.P. — Identificação da leptospirose bovina no Brasil. *Rev. Fac. Med. Vet.*, 6:81-4, 1957.
10. HIDALGO, J.L. & MENESES, O.G. — Anticuerpos leptospirales en ofidios del Peru; In: CONGRESO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA, 7.º, Buenos Aires, 1977. [Resumos].
11. HYAKUTAKE, S.; BIASI, P.; SANTA ROSA, C.A.; BELLUOMINI, H. E. — Contribuição ao estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 18:10-6, 1976.
12. SANTA ROSA, C.A.; CASTRO, A.F.P.; SILVA, A.S. & TERUYA, J.M. — Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:19-27, 1969/70.
13. SHENBERG, E.; LINDENBAUM, I.; DIKKEN, H. & TORTEN, M. — Isolation of a "saprophytic" leptospiral serotype *andamana* from carrier rats in Israel. *Trop. geogr. Med.*, 27:395-8, 1975.
14. VAN DER HOEDEN, J. — Leptospiral antibodies in cold-blooded animals. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 46:171-2, 1966.
15. WHITE, F.H. — Leptospiral agglutinins in snake serums. *Amer. J. vet. Res.*, 24: 179-82, 1963.
16. YASUDA, P.H. — *Leptospirose em cães errantes da cidade de São Paulo*. São Paulo, 1979. [Tese — Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo]

Recebido para publicação em 10 de outubro de 1979.

