

# LEPTOSPIRAS ISOLADAS DO CAMUNDONGO *Mus musculus brevis* NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO<sup>1</sup>

FERNANDO CORDEIRO<sup>2</sup>

## Sinopse

De 116 camundongos (*Mus musculus brevis* Waterhouse, 1837) capturados no Distrito de Seropédica, Município de Itaguaí, utilizados na pesquisa de leptospiros por método bacteriológico, 46 (39,6%) eram portadores de leptospiros. Foram isoladas por cultura direta 42 cêpas de rins, 6 de urina e 3 de sangue. Por inoculação de macerado de rim diluído em cobaios foram obtidas, ainda, 4 culturas positivas de sangue, 3 de urina, 4 de rim e 3 de fígado. A microscopia de campo escuro do mesmo material evidenciou a presença de leptospiros somente em 6 casos. O meio de Fletcher propiciou maior número de isolamentos, entretanto o de Korthof evidenciou o crescimento das leptospiros mais rapidamente. Quatro cêpas isoladas, testadas por micro-aglutinação com 15 soros hiperimunes, reagiram positivamente para o sorotipo *pomona*. Este sorotipo ainda não havia sido isolado de animais silvestres no Brasil. O autor acredita ser o camundongo um dos maiores reservatórios silvestres de leptospiros na região.

## INTRODUÇÃO

O camundongo (*Mus musculus*), roedor encontrado nos diversos continentes, é conhecido reservatório de *Leptospira*. Alston e Broom (1958) consideravam-no o principal hospedeiro dos sorotipos *ballum* e *sejroe*, e em menor importância, *icterohaemorrhagiae*, *pomona* e *saxkoebing*.

Por isolamento do germe, Borg-Petersen (1944) encontrou em *Mus musculus spicilegus*<sup>3</sup> o sorotipo que denominou *ballum*. Borg-Petersen e Christensen (1939), isolaram, também pela primeira vez, o sorotipo *sejroe* de um pescador, e posteriormente de camundongos. Fraga de Azevedo et al. (1951) encontraram um *Mus musculus lusitanicus* infectado pelo sorotipo *pomona*. Babudieri et al. (1955) encontraram também em *Mus musculus brevis* o sorotipo *sejroe*. Parnas et al. (1961), examinando 1090 camundongos (*Mus musculus*), isolaram 17 cêpas, de diversos sorotipos, sendo 12 *grippytyphosa*, 3 *sejroe*, 1 *bataviae* e 1 *icterohaemorrhagiae*. Em testes sorológicos, encontram com maior predominância, *grippytyphosa*, *sejroe*, *canticola*, seguidos de *australis*, *sax-*

*koebing*, *icterohaemorrhagiae*, *mitis*, *pomona*, *autumnalis*, *bataviae*, *poi*, *hebdomadis* e *ballum*. Emanuel et al. (1954), pesquisando sobre a epidemiologia das leptospiros em North Queensland, observaram que *Mus musculus* é hospedeiro do sorotipo *zanoni*. Sveshnikova e Karaseva (1965), investigando os hospedeiros de leptospiros entre os animais silvestres na América do Norte, verificaram ser o *Mus musculus* o mais infectado dos roedores. Tomopoulos (1967), pesquisando leptospiros em diversos animais silvestres, entre eles 41 camundongos, isolou destes somente uma cêpa, não identificada. Guzairova (1968), estudando as propriedades antigênicas de leptospiros isoladas de alguns animais, verificou que cêpas isoladas de *Mus musculus* pertenciam aos sorotipos *sejroe* e *hebdomadis*.

No Brasil, somente Lins (1925), Andrade e Oliveira (1954), Santa Rosa (1969) e Enrietti (1954) teriam utilizado o camundongo visando a pesquisa de leptospiros. Este último, entre os cinco *Mus musculus* que examinou, encontrou quatro portadores de leptospiros não identificadas.

Dada a escassez de trabalhos brasileiros sobre a pesquisa de leptospiros em camundongos (*Mus musculus brevis*) e considerando tratar-se de roedor de hábitos comensais, vivendo também no campo, com uma distribuição geográfica bastante ampla (Moojen 1952), alcançando as três Américas, além do Sul da Europa, Ásia Menor e norte da África (Schwarz & Schwarz 1943), o autor julgou de interesse divulgar os achados da presente investigação,

<sup>1</sup> Recebido 23 jan. 1970, aceito 28 jan. 1970.

Boletim Técnico n.º 96 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul (IPEACS).

<sup>2</sup> Médico Veterinário, bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq 9894/67), Km 47, Campo Grande, GB, ZC-26.

<sup>3</sup> Segundo Salminen (1956), deve tratar-se de *Mus musculus musculus*.

realizada no Setor de Fisiopatologia da Reprodução (SFR) do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Centro-Sul, de janeiro a dezembro de 1969.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 116 camundongos (*Mus musculus brevisrostris* Waterhouse, 1837), capturados em ratoeiras armadas no campo, em três pontos diferentes, no Distrito de Seropédica, Município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro.

Os animais eram anestesiados pelo éter e sacrificados por esgotamento de sangue, utilizando-se a punção cardíaca. O sangue era semeado em meios de cultura de Fletcher e Korthof, duas gotas em cada tubo. Posteriormente, retiravam-se os rins e fragmentos do fígado que, após maceração em gral e adição de salina tamponada (pH 7,4), eram semeados (2 gotas) em meios de Fletcher e Korthof, por três diluições ao décimo, conforme técnica preconizada por Galton *et al.* (1960). Sempre que possível, era também semeada urina diluída em salina. O material de rim, fígado e urina era examinado por microscopia de campo escuro.

Foram inoculados cobaios de 180 a 250 g, por via intraperitoneal, com 1 ml do macerado de rim diluído em salina. Algumas vezes também, foram inoculados com macerado de fígado. Do terceiro ao décimo dia após a inoculação, controlava-se a temperatura dos cobaios. Os que apresentavam temperatura igual ou superior a 40°C eram sangrados, e o sangue semeado nos meios acima citados assim como urina e macerado de rins e fígado.

Os cultivos eram incubados em estufa a 28°C. A partir do quinto dia da semeadura, os tubos de cultura eram inspecionados contra luz fluorescente e fundo escuro. Quando apresentavam crescimento característico, as culturas eram examinadas ao microscópio de campo escuro. Esse crescimento se evidenciava, no meio de Fletcher, pela formação de uma fina película (anel) a 1 cm aproximadamente da superfície, e no de Korthof, após agitar o tubo de cultura, pela formação de uma nuvem cinza-prateado.

Quatro cépas isoladas foram mantidas em meio de Korthof e Stuart, conforme recomendação do Grupo de Especialistas em Leptospiras da WHO (1967), e testadas por micro-aglutinação com quinze sôros hiperimunes, cedidos pelo Dr. C. A. Santa Rosa, do Instituto Biológico de São Paulo.

### RESULTADOS

Dos 116 camundongos examinados, 46 (39,6%) apresentaram resultados positivos por isolamento de

leptospiras. Foram isoladas 42 cépas de rins, 6 de urina e 3 de sangue. Por inoculação de macerado de rim diluído em cobaios, foram obtidas, ainda, 4 culturas de leptospiras do sangue, 3 da urina, 4 de rins e 3 de fígado.

A microscopia de campo escuro do mesmo material evidenciou a presença de leptospiras somente em 6 casos.

O meio de Fletcher propiciou maior número de isolamentos, entretanto o de Korthof evidenciou o crescimento das leptospiras mais rapidamente.

O Quadro 1 mostra os resultados da soro-aglutinação realizada com cépas isoladas. Todas apresentaram resultado positivo para o sorotipo *pomona*.

QUADRO 1. Resultado do teste de soro-aglutinação microscópica com cépas isoladas de camundongos

Sôros hiperimunes		Antígenos			
Serotipos	Cépas	Mm 1 <sup>a</sup>	Mm 2 <sup>a</sup>	Mm 3 <sup>a</sup>	Mm 4 <sup>a</sup>
<i>copenhageni</i>	M 20	— <sup>b</sup>	—	—	—
<i>janica</i>	Veldrat Batavia 46	—	—	—	—
<i>casicola</i>	Hond Utrecht IV	—	—	—	—
<i>hullum</i>	Mus 127	—	—	—	—
<i>pyrogenes</i>	Salina	—	—	—	—
<i>butembo</i>	Butembo	—	—	—	—
<i>australis</i>	Ballico	—	—	—	—
<i>pomona</i>	Pomona	+	+	+	+
<i>grippityphosa</i>	Moskva V	—	—	—	—
<i>mini</i>	Sari	—	—	—	—
<i>wolffi</i>	3705	—	—	—	—
<i>sejroe</i>	M 84	—	—	—	—
<i>tarassovi</i>	Perepelicin	—	—	—	—
<i>parama</i>	CZ 214 K	—	—	—	—
<i>andamana</i>	CII II	—	—	—	—

\* Cépas isoladas dos camundongos registrados, respectivamente, sob n.ºs 14, 43, 203 e 221.

b — Reação negativa, + Reação positiva com título de 1/3200.

### CONCLUSÕES

Os resultados vêm reafirmar, a exemplo de diversos autores, que o camundongo (*Mus musculus*) é hospedeiro habitual de leptospiras.

O alto índice de infecção (39,6%) encontrado por isolamento nos faz acreditar ser o camundongo, entre nós, um dos maiores portadores silvestres de leptospiras.

O meio de Fletcher demonstrou ser o mais indicado para o isolamento de leptospiras, entretanto o meio de Korthof tem a particularidade de evidenciar o crescimento em menor espaço de tempo.

Pelos resultados obtidos no teste de aglutinação microscópica com os quinze sôros hiperimunes, reves-



FIG. 1. *Camundongo Mus musculus brevisrostris Waterhouse, 1837.*

tem-se da maior importância estes dados, pois verifica-se que a leptospirose causada pelo sorotipo *pomona* teria também como disseminador, em nosso meio, o camundongo.

Convém ainda ressaltar que o camundongo (*Mus musculus brevisrostris*) é encontrado praticamente em todo território brasileiro, mesmo no sertão menos habitado (Moojen 1952), além de praticar o comensalismo e nidificar no campo, assim como em paióis e mesmo nas residências (Fig. 1 e 2).

Na bibliografia brasileira encontram-se diversos trabalhos relacionados com a ocorrência do sorotipo *pomona* (Corrêa *et al.* 1955, Guida & Barros 1958, Guida *et al.* 1959, Lacerda Jr. *et al.* 1960, Freitas *et al.* 1960, Santa Rosa *et al.* 1961, 1962ab, 1968; Santa Rosa & Pestana de Castro 1963, Pestana de Castro *et al.* 1962ab, 1966), entretanto é a primeira vez, no Brasil, que se verifica sua existência em animal silvestre.

#### AGRADECIMENTOS

O autor agradece ao Dr. Hélio Gustavo Guida, Diretor do IPEACS, e ao Dr. Carlos de Almeida Santa Rosa, do Instituto Biológico, pela orientação técnica recebida; ao Dr. Auvanir de Almeida Ramos, Chefe do SFR, pelas facilidades materiais concedidas; ao Dr. Jerome Langenegger, do IPEACS, pela sugestão da pesquisa em animais silvestres; e ao Dr. Adriano Lúcio Feracchi, do Departamento de Biologia Animal, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela classificação dos roedores.

Agradecimentos também são devidos a todos os servidores do Setor de Fisiopatologia da Reprodução (SFR), do IPEACS, particularmente à Srta. Vânia Lúcia Baêta da Cruz e Sr. Homero Martins de Oliveira, pela colaboração prestada no desenvolvimento dos trabalhos.

Finalmente, ao Conselho Nacional de Pesquisas, o agradecimento do autor, pela concessão da bolsa, que permitiu a realização deste trabalho.



FIG. 2. *Uma área onde foram capturados os camundongos.*

## REFERÊNCIAS

- Alston, J.M. & Broom, J.C. 1958. Leptospirosis in man and animals. E. & S. Livingstone, Edinburgh. 367 p.
- Andrade, Z.A. & Oliveira, J.C. 1954. Estudos sobre a leptospirose na Bahia. Bolm Fund. Gonçalo Moniz 3:1-28.
- Babudieri, B., Bussinello, E., Bajocchi, E., Salvi, A. & Massa, L. 1955. Studi sulla leptospirosi della risaia della Valle Padana. Ricerche epidemiologiche e profilassi vaccinale. Riv. Infert. Mal. Prof. 42:453-484. (Leptospiral Serotype Distribution Lists 1968)
- Borg-Petersen C. 1944. *Leptospira ballum* a new serological leptospiratype? Acta path. microbiol. scand. 21:504. (Citado por Alston & Broom 1958)
- Borg-Peterson, C. & Christensen, H.I. 1939. Et tilfaelde af leptospirose ('Mb. Weilii'), foraarsaget af en hidtil ukendt serologisk leptospiratype. Ugeskr. Laeg. 101:687. (Citado por Alston & Broom 1958)
- Corrêa, M.O.A., Amato Neto, V., Veronasi, R. & Fabbri, O.S. 1955. Leptospirose em eqüinos: Inquérito sorológico. Revta Inst. Adolfo Lutz 15:186-193.
- Emanuel, Marie L., Mackerras, I.M. & Smith, D.J.W. 1964. The epidemiology of leptospirosis in North Queensland. I. General survey of animal hosts. J. Hyg. 62(4):451-484.
- Enrietti, M.A. 1954. Contribuição ao conhecimento da incidência de leptospirose em murideos, caninos e suínos no Paraná. Arq. Biol. Tecnol., Curitiba, 9:21-72.
- Fraga de Azevedo, J., Valente, J.S. & Queirós, J.J. de S. 1951. Novos dados sobre a leptospirose de Portugal. Ann. Inst. Med. trop. Lisboa 8(4):621-627.
- Freitas, D.C., Salles Gomes, C.E. de, Lacerda, J.P.G. de & Pereira Lima, F. 1960. Notas sobre leptospirose eqüina. Arqs Inst. biol. S. Paulo 27:93-96.
- Galtou, Mildred M., Menges, R.W. & Shotts Jr., E.B. 1960. Leptospirosis. Methods in laboratory diagnosis. U.S. Dep. Health, Education and Welfare. Public Health Service. 31 p.
- Guida, V.O. & Barros, W.M. 1958. Pesquisa de aglutininas e lisinas anti-leptospira, em séros de bovinos aparentemente normais, sacrificados no matadouro. Biológico 24(2): 26-27.
- Guida, V.O., D'Apice, M., Corrêa, M.O.A., Santa Rosa, C.A. & Natale, V. 1959. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira no sêro de bovinos do Estado de São Paulo. Arqs Inst. biol. S. Paulo 26:109-117.
- Guzairova, E.A. 1968. A study of antigenic properties of pathogenic leptospira isolated in Kirgis - SSR. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 45(12):74-76.
- Lacerda Jr., P.M.G., Freitas, D.C. de & Lacerda, J.P.G. 1960. Notas sobre leptospirose bovina. Arqs Inst. biol. S. Paulo 27:87-91.
- Leptospiral Serotype Distribution Lists 1968. Communicable Disease Center, U.S. Dep. Health, Education and Welfare, Atlanta, Ga.
- Lins, A. 1925. Novas observações de *Leptospira icterohaemorrhagiae* nos ratos do Rio de Janeiro. Brasil-Méd. 2(18): 243-246.
- Moojen, J. 1952. Os roedores do Brasil. Inst. Nac. do Livro, Bibl. cient. bras. Série A, II, 214 p.
- Parnas, J., Koslak, A. & Krukowska, M. 1961. *Leptospira* affecting the common house-mouse (*Mus musculus*). Zentbl. Bakt. Parasitkde I. 182(1):121-128.
- Pestana de Castro, A.F., Santa Rosa, C.A. & Caldas, A.D. 1962. Isolamento de *L. canicola* de suínos abatidos em matadouro. Arqs Inst. biol. S. Paulo 29:193-197.
- Pestana de Castro, A.F., Santa Rosa, C.A., Troise, C. & Caldas, A.D. 1962b. Leptospirose canina em São Paulo: Inquérito sorológico e isolamento de *L. icterohaemorrhagiae*. Arqs Inst. biol. S. Paulo 29: 199-205.
- Pestana de Castro, A.F., Santa Rosa, C.A., Ferreira de Almeida, W. & Troise, C. 1966. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira entre magarefes em alguns municípios do Estado de São Paulo. Revta Inst. Med. trop. S. Paulo 8(6):287-290.
- Salminen, A. 1956. Studies on the occurrence of various leptospiral types in Finland. Ann. Med. exp. Fenn. 34(5). (Citado por Alston & Broom 1958)
- Santa Rosa, C.A. 1969. Comunicação pessoal.
- Santa Rosa, C.A. & Pestana de Castro, A.F. 1963. Presença de aglutininas anti-leptospira em séros de ovinos e caprinos no Estado de São Paulo. Arqs Inst. biol. S. Paulo 30:93-98.
- Santa Rosa, C.A., Pestana de Castro, A.F. & Troise, C. 1961. Leptospirose bovina. Inquérito sorológico na região de Campinas. Arqs Inst. biol. S. Paulo 28:169-173.
- Santa Rosa, C.A., Pestana de Castro, A.F. & Troise, C. 1962a. Isolamento de *Leptospira pomona* de suínos em São Paulo. Arqs Inst. biol. S. Paulo 29:165-174.
- Santa Rosa, C.A., Pestana de Castro, A.F. & Caldas, A.D. 1962b. Isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* e *Leptospira hyos* de suínos abatidos em matadouro. Arqs Inst. biol. S. Paulo 29:285-292.
- Santa Rosa, C.A., Pestana de Castro, A.F., Campedelli Filho, O. & Mello, D. de 1968. Leptospirose em eqüinos. Arqs Inst. biol. S. Paulo 35(2):61-65.
- Schwartz, E. & Schwarz, Henriette, K. 1943. The wild and commensal stocks of the house mouse, *Mus musculus* Linnaeus. J. Mammal. 24(1):59-72.
- Sveshnikova, N.P. & Karaseva, E.V. 1965. Leptospirose of wild animals in North America. Zool. Zh. 44(2):253-265.
- Tomopoulos, D.S. 1967. Research on the zoonoses in Greece: Leptospirosis in animals. Thesis, Vet. Fac. Thessaloniki, p. 111.
- World Health Organization. 1967. Current problems in leptospirosis research. Report of a WHO expert group. Wild Hlth Org. techn. Rep. Ser. 380.

LEPTOSPIRAS ISOLATED FROM MICE *Mus musculus brevistris* IN THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL

## Abstract

A bacteriological study for *Leptospira* was made on 116 mice (*Mus musculus brevistris* Waterhouse 1837) caught in the Seropédica District, Itaguaí Municipality. Forty six or 39.6% were found to be infected by *Leptospira*. The organisms were isolated 42 times from the kidneys, 6 from the urine and 3 from the blood. After the inoculation of macerated diluted kidneys in Guinea pigs an additional 4 strains were isolated from the blood, 3 from the urine, 4 from the kidneys and 3 from the liver. Direct darkfield examinations showed the presence of leptospirose only 6 times. Fletcher's medium permitted a greater number of isolations, however, Korthof's medium favored a more rapid growth of the organisms. Four strains were studied using the microscopical agglutination test with 15 hyperimmune serums. The serotype *pomona* reacted positively to the test. This serotype had not been found in the wild animals of Brazil. The author believes that the mouse is one of the most wild frequent life reservoirs of leptospirose in the area.