



Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel
Centro de Ciências Biológicas



Projeto de Pesquisa

Avaliação do risco de zoonoses emergentes, derivadas da invasão biológica de *Sus scrofa*, ao Parque Estadual Mata São Francisco

Autor Marco Antonio Zanoni

Bandeirantes – Pr

2021



Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel
Centro de Ciências Biológicas



Título

Avaliação do risco de zoonoses emergentes, derivadas da invasão biológica de *Sus scrofa*, ao Parque Estadual Mata São Francisco

Introdução

Dados da U.S. Agency for International Development (USAID) apontam que desde o início do século 21, aproximadamente 75% de todas as doenças emergentes ou reemergentes que afetam humanos são zoonoses, a exemplo disso a COVID-19 que vem afetando drasticamente o mundo no ano de 2020. Dentre os principais fatores que afetam a emergência, ou reemergência, de zoonoses estão: a interação com animais silvestres, tanto por parte dos animais domésticos, quanto por contato direto com o ser humano; e a adaptação dos patógenos à novas espécies hospedeiras Hegel et al. (2019) (ZANELLA, 2016). Muitos desses patógenos encontram na fauna silvestre espécies que sirvam de reservatórios, podendo emergir por desequilíbrio de fatores ambientais.

Nos últimos anos, a invasão do Norte do Paraná por populações ferais de javalis (*Sus scrofa* Linnaeus 1758), e seus descendentes híbridos os javaporcos, tem representados um forte desequilíbrio ambiental (SALVADOR, 2017). A espécie, eurasiática, se adaptou rapidamente ao clima da região, e na ausência de predadores efetivos no controle populacional, tem causado sérios danos ao meio ambiente, afetando a fragmentos florestais e Unidades de Conservação, prejudicando lavouras, interferindo na pecuária suína e bovina (Rosa; Hegel (2019); HEGEL et al. (2019)), além de representar um imenso risco à saúde humana, por apresentar forte interação com morcegos hematófagos (HERNÁNDEZ-PÉREZ et al. (2019), que por possuírem predileção pelo sangue de suínos e de outros animais domésticos (BOBROWIEC et al. (2015); LEMES & GRIBEL, 2015), podem encontrar na farta fonte de alimento uma oportunidade para rápido crescimento populacional.

O javali já é um considerado uma espécie invasora na América do Sul desde os anos 90, e tem sido foco de estudos que visam avaliar seu potencial de servir como reservatório e dispersor de diversas zoonoses. O contato com javalis infectados, de modo indireto por interação com animais domésticos (JORI et al. (2016), ou direto como nos casos de ataques a humanos (CHRISTY WYCKOFF et al., (2009); OLIVEIRA (2012)), ou ainda consumo de carne infectada, expõem humanos e outros animais a doenças como brucelose, salmonelose, toxoplasmose, tuberculose, enteropatógenos, dentre outras zoonoses bacterianas, parasitárias ou virais (Carvalho-souza; Browne-ribeiro (2010); SEWARD et al. (2004)).

O Paraná é considerado livre da raiva canina desde 2005, sem registro de óbitos em humanos por causa dessa doença a mais de 30 anos. Apesar disso, nos últimos anos, estados vizinhos como Santa Catarina e São Paulo registraram mortes pela doença. O último caso registrado para o Brasil ocorreu no estado do Rio de Janeiro, levando a óbito um adolescente de 14 anos, contaminado por um morcego com a variante 3 do vírus (PEDROSA et al. (2015). Os dados a respeito de outros grupos animais já são mais alarmantes, o Paraná registrou no ano de 2019, mais de 2.300 animais afetados por pelo menos 6 das 119 zoonoses de registro obrigatório, de categorias 1, 2 e 3, listadas na Instrução Normativa MAPA nº 50/2013, desses 131 casos foram diagnosticados como raiva, englobando bovinos, equinos, felinos e outros animais silvestres, como os morcegos PEREIRA et al. (2016).

Justificativa

A presença constante dessas zoonoses no Paraná e o risco de emergência e reemergência dos patógenos, estimulada pela invasão territorial e crescimento populacional descontrolado de *S. scrofa*, reforçam a necessidade e a celeridade na



Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel
Centro de Ciências Biológicas



implementação de estudos e núcleos de pesquisas que visem o monitoramento constante dessas doenças na fauna silvestre. Estabelecendo assim, bancos de informações regionais que sirvam de alerta e suporte para a implementação de políticas públicas, que atuem de modo efetivo na contenção de possíveis epidemias provocadas por zoonoses.

Objetivos

Diagnosticar a presença de zoonoses na população de *S. scrofa* do Parque Estadual Mata São Francisco, e avaliar possibilidade desses animais atuarem como dispersores dessas doenças, diretamente ou indiretamente, por contato com outros animais, principalmente morcegos hematófagos. E assim, propor estratégias que auxiliem no monitoramento dos agentes patogênicos, bem como planos de manejo visando o controle populacional do javali e dos morcegos.

Objetivos específicos

Avaliar se o risco de disseminação da raiva, e outras zoonoses, pelos morcegos hematófagos a partir PEMS F

Capturar e identificar morcegos hematófagos na área do Parque

Construir quatro jaulas currais modelo pampa, indicadas pelo ICMBio para a captura dos javalis

Criar um banco de dados de sequências genômicas para Lyssavirus, possibilitando estratégias, para avaliar se em possíveis futuros casos de raiva na região da 18ª Regional de Saúde do Paraná, o vírus se originou de reservatório do PEMS F

Determinar o tamanho da população de javalis no PEMS F, utilizando câmeras trap

Diagnosticar a presença de helmintos gastrintestinais e pulmonares, e infecções por

Cryptosporidium e *Giardia* nos indivíduos coletados de *S. scrofa*

Identificar a presença do vírus da raiva (RABV) nos javalis e morcegos capturados

Propor soluções para manejo da população de javalis que visem minimizar os impactos ao meio ambiente, agricultura, pecuária e saúde pública

Material e métodos

A abundância de *Sus scrofa* no Parque Estadual Mata São Francisco (PEMSF), Paraná, será avaliada com auxílio de 9 câmeras trap (MAGALHÃES (2011). Em frente às armadilhas fotográficas, serão utilizadas iscas para atrair os javalis. Para determinação da abundância relativa será calculado, para cada local de amostragem, a frequência de registro: razão entre o número de registros de cada indivíduo e o total de dias de funcionamento das armadilhas fotográficas, multiplicado por 100 [(reg/câmeras-dia)*100]. Registros realizados em menos de uma hora serão considerados um único registro evitando pseudorréplica. A disposição e a configuração das câmeras trap seguirá Keuling et al. (2018). Os dados serão analisados utilizando o software estatístico RStudio através do package camtrapR ..

Para coleta dos javalis serão construídas 4 armadilhas modulares. Redes de neblinas, para coleta dos morcegos hematófagos, serão fixadas nos cinco quadrantes de maior atividade alimentar dos javalis. As redes serão mantidas abertas por um período de seis horas após o pôr do sol, com inspeções a cada 15 minutos. Todos os animais serão manuseados, com a supervisão de um médico veterinário, de acordo com os procedimentos descritos por Sikes; Gannon (2011). Os animais capturados serão eutanasiados de acordo com a portaria interministerial nº 232, de 28 de junho de 2017 do Ministério do Meio Ambiente.



Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel
Centro de Ciências Biológicas



As amostras de sangue serão colhidas por meio de punção venal e armazenadas em tubos Vacutainer® com EDTA-K3. Será feito um esfregaço sanguíneo, fixados em metanol e corados com Giemsa para verificação de presença de hemoparasitas.

As amostras de fezes do conteúdo intestinal serão conservadas sob-refrigeração em solução de dicromato de potássio 5% até a análise. Informações sobre sexo, faixa etária (jovem/adulto), peso aproximado, status fisiológico das fêmeas (prenhes positiva), escore corporal e estado de saúde geral serão anotadas para futura avaliação dos fatores de risco às infecções parasitárias encontradas. A busca de helmintos gastrointestinais e oocistos de *Cryptosporidium* seguirá a metodologia descrita por Sheather (1923), e à sedimentação espontânea. Para busca de helmintos pulmonares, as amostras serão submetidas à técnica de Baerman modificada e para busca de cistos de *Giardia*, submetidas a técnica de Faust.

Uma alíquota de cada amostra será submetida à extração do DNA por meio de Kit comercial NucleoSpin Tissue® (Macherey-Nagel) seguindo o protocolo do fabricante, para diagnóstico molecular da presença de *Cryptosporidium* e *Giardia*. Para detecção de *Cryptosporidium* spp. um fragmento do gene 18S rRNA será amplificado por reação de nested-PCR, com iniciadores descritos por Liu et al. (2013). E para detecção de *Giardia* spp., um fragmento do gene TPI será amplificado também por nested PCR (Sulaiman et al., 2003). Os produtos serão submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,5%, corados com SYbR Safe® e fotodocumentados.

Para detecção do vírus da raiva (Rabies virus/RABV), o RNA será extraído utilizando 30 mg de tecido (encéfalo) com auxílio de TRIzol™ (Invitrogen; Thermo Fisher Scientific) e PureLink™ RNA mini-kit (Ambion; Thermo Fisher Scientific) e armazenado em -80 °C. O cDNA dos genes N e G será obtido com auxílio do OneStep RT-PCR Kit (Qiagen) usando os primers descritos por Kamolvarin et al. (1993) e Hyun et al. (2005). As amostras serão sequenciadas por metodologia Sanger, e as sequências serão analisadas no software Sequencher 5.4.6 (Gene Codes), submetidas ao Blast (Altschul et al., 1990) e depositadas no GenBank (NCBI). Análises filogenéticas serão realizadas no software MEGA X (Kumar et al., 2018), a fim de determinar similaridades que possam ser utilizadas para identificar regionalmente as linhagens virais.

ORÇAMENTO

RESUMO TOTAL

Valor Porcentagem (sobre o valor solicitado)

Corrente: R\$ 114.061,00

Capital: R\$ 31.150,00

Contrapartida: R\$ 0,00 0.00

Total: R\$ 145.211,00

• RESUMO POR ELEMENTO

Elemento Solicitado Contrapartida Total Porcentagem

Despesas Corrente

AUXÍLIO FINANCEIRO A ESTUDANTES - AUXÍLIOS PARA DESENV. DE

ESTUDOS E PESQUISAS:

R\$ 14.400,00 -- R\$ 14.400,00

DIÁRIAS - PESSOAL CIVIL -

DIÁRIAS NO PAÍS:

R\$ 11.160,00 -- R\$ 11.160,00

MATERIAL DE CONSUMO -



Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel
Centro de Ciências Biológicas



OUTROS MATERIAIS DE CONSUMO:

R\$ 63.201,00 -- R\$ 63.201,00

OUTROS SERVIÇOS DE TERCEIROS - PESSOA JURÍDICA:

R\$ 21.300,00 -- R\$ 21.300,00

OUTROS SERVIÇOS DE TERCEIROS - PESSOA JURÍDICA - AQUISIÇÃO DE SOFTWARES DE APLICAÇÃO:

R\$ 4.000,00 -- R\$ 4.000,00
Despesas Capital

EQUIPAMENTOS E MATERIAL PERMANENTE - OUTROS MATERIAIS PERMANENTES:

R\$ 31.150,00 -- R\$ 31.150,00

Total: R\$ 145.211,00 R\$ 0,00 R\$ 145.211,00

CRONOGRAMA DE ETAPAS (depende da liberação do orçamento pela Fundação Araucária)

- DURAÇÃO EM MESES: 18
- ETAPA 1 início mês 1 término mês 6

Determinação da abundância de *Sus scrofa* no PEMSF e dos locais para montagem das armadilhas.

Descrição

Posicionamento das câmeras trap, determinação das abundâncias relativas dos javalis dentro do PEMSF. Levantamento das áreas de maior consumo de alimento para montagem das armadilhas modulares e redes de neblina. Aquisição dos equipamentos e construção dos módulos das armadilhas.

ETAPA 2

Título Início mês 6 Fim mês 13

Coleta de Material Biológico

Descrição

Instalação das armadilhas para javali, e das redes de neblina para morcegos nos 4 primeiros meses. Coleta e processamentos dos materiais, incluindo todas as análises moleculares e de sequenciamento.

ETAPA 3

Título Início mês 10 Fim mês 18

Avaliação do Dados e Publicação dos Resultados

Descrição

Nesta etapa será realizada toda avaliação dos resultados, tanto qualitativamente quanto quantitativamente. Com base nos dados amostrais serão criados materiais didáticos, de conscientização, cartilhas e manuais de manejo do javali e enfrentamento das zoonoses encontradas. Bem como documentos que auxiliem no direcionamento de políticas públicas e de educação ambiental nos municípios englobados pela 18ª Regional de Saúde do Paraná.



Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel
Centro de Ciências Biológicas



Bibliografia

- BOBROWIEC, P. E. D.; LEMES, M. R.; GRIBEL, R. Prey preference of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*, Chiroptera) using molecular analysis. **Journal of Mammalogy**, v. 96, n. 1, p. 54–63, 2015.
- CARVALHO-SOUZA, G. F. DE; BROWNE-RIBEIRO, H. C. Understanding Genetics For Use In Goat Production. , p. 24–29, 2010.
- CHRISTY WYCKOFF, A.; HENKE, S. E.; CAMPBELL, T. A.; HEWITT, D. G.; VERCAUTEREN, K. C. Feral swine contact with domestic swine: A serologic survey and assessment of potential for disease transmission. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 2, p. 422–429, 2009.
- HEGEL, C. G. Z.; DOS SANTOS, L. R.; PICHORIM, M.; MARINI, M. Â. Wild pig (*Sus scrofa* L.) occupancy patterns in the Brazilian Atlantic forest. **Biota Neotropica**, v. 19, n. 4, 2019.
- HERNÁNDEZ-PÉREZ, E. L.; CASTILLO-VELA, G.; GARCÍA-MARMOLEJO, G.; LÓPEZ, M. S.; REYNA-HURTADO, R. Wild pig (*Sus scrofa*) as prey of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*). **Therya**, v. 10, n. 2, p. 195–199, 2019.
- JORI, F.; LAVAL, M.; MAESTRINI, O.; et al. Assessment of Domestic Pigs, Wild Boars and Feral Hybrid Pigs as Reservoirs of Hepatitis E Virus in Corsica, France. , 2016. Disponível em: <www.mdpi.com/journal/viruses>. Acesso em: 17/3/2021.
- LIU, X.; WU, P.; SONGER, M.; et al. Monitoring wildlife abundance and diversity with infra-red camera traps in Guanyinshan Nature Reserve of Shaanxi Province, China. **Ecological Indicators**, v. 33, p. 121–128, 2013. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.09.022>>. .
- MAGALHÃES, D. F. DE. Zoonoses e saúde pública: riscos da proximidade humana com a fauna silvestre. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 14, n. 1-2-3, p. 1–9, 2011.
- OLIVEIRA, C. H. S. DE. Ecologia e Manejo de Javali (*Sus scrofa* L.) na América do Sul [Ecology and management of Eurasian wild boar (*Sus scrofa* L.) in South America]. **Tese doutorado em Ecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro**, , n. July 2012, p. 1–169, 2012.
- PEDROSA, F.; SALERNO, R.; PADILHA, F. V. B.; GALETTI, M. Current distribution of invasive feral pigs in Brazil: Economic impacts and ecological uncertainty. **Natureza e Conservação**, v. 13, n. 1, p. 84–87, 2015. Associação Brasileira de Ciência Ecológica e Conservação. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ncon.2015.04.005>>. .
- PEREIRA, A.; BLEFARI BATISTA, C.; BENDER, D.; DOS REIS, N. R.; BAZILIO, S. Report on *Desmodus rotundus* (Chiroptera, Phyllostomidae) feeding on *Sus scrofa* (Artiodactyla, Suidae) blood. **Sociedad Brasileña de Mastozoología**, v. 77, n. September, p. 151–153, 2016.
- ROSA, C. A.; HEGEL, C. G. Z. ESTIMATIVA E MONITORAMENTO DAS POPULAÇÕES DE JAVALIS - Protocolo de amostragem para coleta de dados. , , n. October, 2019.
- SALVADOR, C. H. Diagnóstico do Plano Nacional do Javali. **Plano Nacional de Prevenção, Controle e Monitoramento do Javali (*Sus scrofa*) em estado asselvajado no Brasil. Anexo da Portaria Interministerial No. 232, de 28 de junho de 2017**, p. 14–54, 2017.
- SEWARD, N.; VERCAUTEREN, K.; WITMER, G.; ENGEMAN, R. Feral swine impacts on agriculture and the environment. **Sheep and Goat Research Journal**, v. 19, n. October, p. 34–40, 2004. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1011&context=icwdmsheepgoat>>. .
- SIKES, R. S.; GANNON, W. L. Guidelines of the American Society of Mammalogists



Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel
Centro de Ciências Biológicas



for the use of wild mammals in research. **Journal of Mammalogy**, v. 92, n. 1, p. 235–253, 2011.

ZANELLA, J. R. C. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 510–519, 2016.