

## ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM ANIMAIS DOMÉSTICOS E SILVESTRES PRESENTES NO CAMPUS UNIVERSITÁRIO DA FCAV, UNESP, JABOTICABAL/SP

ANTIBODIES AGAINST *Leptospira* spp. IN DOMESTIC AND WILD ANIMALS AT THE UNIVERSITY CAMPUS OF FCAV, UNESP, JABOTICABAL/SP

F. J. SILVA<sup>1\*</sup>, L. A. MATHIAS<sup>1</sup>, F. S. MAGAJEVSKI<sup>1</sup>, K. WERTHER<sup>2</sup>,  
N. A. ASSIS<sup>1</sup>, R. J. S. GIRIO<sup>1</sup>

### RESUMO

O presente estudo objetivou detectar anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no Campus Universitário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp, Jaboticabal. Em outubro de 2007, foram colhidas amostras de sangue de 279 animais, entre equinos, suínos, caprinos, ovinos, bovinos e cães. Desses animais, 87 (31,1%) foram reagentes à *Leptospira* spp., pela prova de soroaglutinação microscópica (SAM). Em março de 2008, foram colhidas amostras de sangue de 236 animais, entre equinos, suínos, caprinos, ovinos, bovinos, cães, coelho, gambás e cervídeos. Desses animais, 75 (31,7%) foram reagentes à *Leptospira* spp., pela SAM. Em julho de 2008, foram colhidas amostras de sangue de 167 animais, entre equinos, suínos, caprinos, ovinos, bovinos e gambás. Desses animais, 75 (44,9%) foram reagentes à *Leptospira* spp., pela SAM. Houve influência sazonal na ocorrência de anticorpos, e as diferenças entre as prevalências de anticorpos durante o inverno e a primavera e durante o inverno e o verão foram significativas pelo teste  $X^2$ ; a maior frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi observada durante o inverno. Dos 25 gambás analisados, 11 (44,0%) foram reagentes pela SAM, sendo 5 (20,0%) ao sorovar Patoc, 3 (12,0%) ao Autumnalis e 3 (12,0%) ao Icterohaemorrhagiae. Entre as diferentes regiões de captura e colheita de amostras de sangue de gambás (*Didelphis albiventris*), não houve diferença significativa quanto à ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp., pelo teste exato de Fisher. No mês de julho de 2008 observou-se maior ocorrência de anticorpos nos gambás. Os sorovares encontrados neste Campus, durante todo o período de estudo, foram: Andamana, Autumnalis, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Pomona e Pyrogenes.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Didelphis albiventris*. Leptospirose. Soroaglutinação microscópica.

### ABSTRACT

This study aimed to detect antibodies against *Leptospira* spp. in domestic and wild animals present in the Campus of FCAV, Unesp, Jaboticabal. In October 2007, blood samples were taken from 279 animals, including horses, pigs, goats, sheep, cattle and dogs. Of these animals, 87 (31.1%) were positive to *Leptospira* spp., by the microscopic agglutination test. In March 2008, blood samples were taken from 236 animals, including horses, pigs, goats, sheep, cattle, dogs, rabbits, opossums and deer. Of these animals, 75 (31.7%) were positive for *Leptospira* spp.. In July 2008, blood samples were taken from 167 animals, including horses, pigs, goats, sheep, cattle and skunks. Of these animals, 75 (44.9%) were positive to *Leptospira* spp.. Seasonal influence on the occurrence of antibodies was detected, and the differences between the prevalence of antibodies during the winter and spring and during the winter and summer were significant by  $X^2$  test - Chi-square, and the higher frequency of antibodies against *Leptospira* spp. was observed during the winter. Of the 25 opossums examined, 11 (44.0%) were positive by SAM, 5 (20.0%) to serovar Patoc, 3 (12.0%) to autumnalis and 3 (12.0%) to Icterohaemorrhagiae. Among the several regions of capture and collection of blood samples from opossums (*Didelphis albiventris*), no significant difference in the occurrence of antibodies against *Leptospira* spp was detected by Fisher's exact test. Serovars found in this Campus throughout the study period were: Andaman, Autumnalis, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Pomona and Pyrogenes.

**KEY-WORDS:** *Didelphis albiventris*. Leptospirosis. Mmicroscopic agglutination test.

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV – Unesp, Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n, CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP. \* [fjsvet@gmail.com](mailto:fjsvet@gmail.com)

<sup>2</sup> Departamento de Patologia Veterinária, FCAV – Unesp, Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellani, s/n, CEP: 14884-900, Jaboticabal, SP.

Campus, durante todo o período de estudo, foram: Andamana, Autumnalis, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Pomona e Pyrogenes.

## INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose que está relacionada às precárias condições de infraestrutura sanitária, reflexo da baixa condição socioeconômica observada em nosso país. Em 2003, os gastos hospitalares pelo SUS somaram aproximadamente 1,2 milhões de reais com leptospirose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). Além de ser uma doença de grande relevância para a saúde pública, é propensa a ocorrer em veterinários, trabalhadores de abatedouro e tratadores de animais, devido ao estreito contato com as fontes de infecção (ACHA & SZYFRES, 2003). Traz, também, prejuízos econômicos, pela queda na produção animal, devido, principalmente, a problemas reprodutivos, o que demonstra a importância da leptospirose na saúde animal (FAINE, 1999).

As inundações favorecem a disseminação e a persistência do agente causal no ambiente, facilitando a ocorrência de surtos, uma vez que as águas das chuvas e dos rios misturam-se às águas de esgoto normalmente contaminadas com urina de roedores (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

O ambiente do *Campus* da Unesp de Jaboticabal contém fragmentos de mata fechada, alimento e abrigo, sendo um local propício para a presença de animais silvestres como roedores e marsupiais, reservatórios de enfermidades com potencial zoonótico, como a leptospirose. Por isso, o objetivo do trabalho foi pesquisar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e domésticos presentes neste *Campus*. Além disso, relacionou-se a ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em equinos, suínos, caprinos, ovinos e bovinos, de acordo com as estações do ano; caracterizaram-se as regiões do *Campus* de maior ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em gambás (*Didelphis albiventris*); e determinaram-se os sorovares contra os quais se encontrou título de anticorpos.

## MATERIAL E MÉTODOS

A fim de determinar a frequência de animais com títulos de anticorpos contra *Leptospira* spp. nos rebanhos durante diferentes estações climáticas, foram feitas três etapas de colheitas de sangue dos equinos, suínos, caprinos, ovinos e bovinos, uma a cada quatro meses, sendo a primeira em outubro de 2007, a segunda entre fevereiro e março de 2008 e a terceira em julho desse mesmo ano. Os animais não foram obrigatoriamente os mesmos, devido a descartes e aquisições durante o período do presente trabalho.

Os gambás (*Didelphis albiventris*), os cervídeos, os cães errantes, os de canil e o coelho passaram por apenas uma colheita de sangue, e a identificação dos marsupiais capturados foi feita com a aplicação de tinta atóxica e inodora amarela ao redor da cauda do animal.

Este trabalho foi desenvolvido com autorização da Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (Cebea) da Unesp de Jaboticabal e do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama).

## Animais utilizados

Foram analisadas, na primeira etapa de colheita, em outubro de 2007, amostras de sangue de seis cães do canil do Departamento de Patologia Veterinária, 36 equinos do Setor de Equinocultura, 39 suínos do Setor de Suinocultura, 64 caprinos do Setor de Caprinocultura, 68 ovinos do Setor de Ovinocultura e 65 bovinos da Granja Leiteira, todos localizados no *Campus* Universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal.

Na segunda etapa, em março de 2008, foram colhidas e analisadas amostras de sangue de 32 equinos, 33 suínos, 63 caprinos, 49 ovinos e 43 bovinos, em seus respectivos setores na FCAV.

Na terceira etapa, em julho de 2008, foram colhidas e analisadas amostras de sangue de 29 equinos, 29 suínos, 24 caprinos, 29 ovinos e 45 bovinos, em seus respectivos setores na FCAV.

Foram, ainda, colhidas e analisadas amostras de sangue de 25 gambás (*Didelphis albiventris*) de vida livre, dois cães errantes, 44 cervídeos do Criadouro Científico da FCAV, Unesp, Jaboticabal, um coelho do Setor de Cunicultura desta Faculdade e seis cães do canil do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV.

## Captura e contenção dos animais

A contenção, em todas as espécies pesquisadas, foi realizada com base nas características específicas de defesa e ataque, evitando sempre grandes níveis de estresse para o animal.

## Colheita de sangue

De todas as espécies, tanto silvestres como domésticas, retiraram-se entre dois e três mililitros de sangue. Antes da colheita, foi feita desinfecção local da pele e dos pelos com iodo povidine.

O sangue foi colhido por meio de punção venosa, utilizando agulhas estéreis descartáveis, em tubos tipo Vacutainer<sup>®</sup> esterilizados. Essas amostras de sangue foram mantidas em temperatura ambiente por uma hora para a dessora.

Logo após cada colheita, realizou-se o mesmo processo de desinfecção e uma observação cuidadosa da região da colheita, para verificar se não houve hemorragia ou hematoma.

## Pesquisa de anticorpos

O sangue colhido foi encaminhado para o Laboratório de Leptospirose e Brucelose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da FCAV, Unesp, Jaboticabal, para a completa separação do soro sanguíneo, por meio de centrifugação durante cinco minutos a 700 G. Os soros obtidos foram transferidos para microtubos tipo Eppendorf<sup>®</sup> de 2,5 mL, identificados e mantidos em freezer à temperatura de -20°C, até a realização da prova de soroaaglutinação microscópica (SAM).

## Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)

A presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. nos soros foi verificada pela SAM, a partir de uma diluição 1/50 para os gambás e 1/5 para as demais espécies, sendo uma parte de soro sanguíneo para quatro partes de solução tamponada de Sørensen. Dessa diluição foram colocadas alíquotas de 30 µL em placas de polietileno, com fundo plano, e adicionada igual quantidade do antígeno. As placas foram então incubadas em estufa bacteriológica BOD à temperatura de 28°C por uma hora. A leitura foi realizada em microscopia de campo escuro, colocando-se uma gota da diluição em lâmina de vidro 26x76mm e utilizando objetiva de 40x e ocular de 15x (FAINE, 1999).

O critério adotado para considerar um soro como reagente foi a aglutinação de pelo menos 50% das leptospiras no campo microscópico no aumento de 100X. Os soros reagentes na triagem inicial foram reexaminados em quatro diluições seriadas de razão dois e selecionadas apenas as amostras com titulação mínima de 40 (ponto de corte) (FAINE, 1999).

Foram utilizados 24 sorovares vivos de *Leptospira* spp., sendo eles: Wolffi, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Pomona, Tarassovi, Grippotyphosa, Canicola, Hebdomalis, Panama, Pyrogenes, Shermani, Patoc, Castellonis, Autumnalis, Australis, Andamana, Bataveae, Sentot, Bratislava, Javanica, Cynopteri, Whitcombi e Butembo.

## Análise estatística

A comparação entre o número total de animais reagentes à *Leptospira* spp. nas diversas épocas de colheita de sangue, a diferença na frequência de anticorpos em cada espécie nas diversas épocas de colheita, a diferença na frequência de anticorpos entre as espécies nas diversas épocas do ano e a comparação entre o número de gambás reagentes na SAM nas diferentes regiões determinadas foram realizadas com o auxílio do teste de Qui-quadrado ( $X^2$ ) ou do teste exato de Fisher (BEIGUELMAN, 1996).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 279 animais examinados em outubro de 2007, 87 (31,1%) foram reagentes à *Leptospira* spp.. Dos 236 animais analisados em março de 2008, 75 (31,7%) foram reagentes pela SAM. Em abril, foram analisados 4 gambás, sendo 3 (75,0%) reagentes. Em julho, foram examinados 167 animais, sendo 75 (44,9%) reagentes à *Leptospira* spp.

Pelo teste de Qui-quadrado ( $X^2$ ), houve diferença significativa na ocorrência de animais reagentes pela SAM entre o inverno e a primavera ( $p < 0,05$ ) e entre o inverno e o verão ( $p < 0,05$ ). Nas demais comparações não houve diferença significativa entre a ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. nas várias as épocas do ano.

Observou-se um aumento na frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. a partir do outono, no final do período da seca. É fato que o período chuvoso proporciona maior desenvolvimento de leptospiras,

possibilita rápida disseminação ao ambiente e facilita a infecção de um hospedeiro susceptível (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005, MANUAL DE LEPTOSPIROSE, 1995). No entanto, a presença de anticorpos no sangue do hospedeiro continua sendo detectada meses após a infecção. Logo, é bem provável que os animais reagentes tenham se infectado durante o período das águas, entre janeiro e março de 2008, iniciando o desenvolvimento de anticorpos a partir do final do verão e início do outono, mantendo títulos detectáveis durante o inverno.

Resultados diferentes foram encontrados por Yasuda *et al.* (1980), num estudo da variação sazonal de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo. A prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. sofreu influência sazonal, sendo o verão (24,2%) e o outono (24,9%) as estações do ano com maior frequência de cães reagentes, em oposição à primavera (18,3%) e ao inverno (18,3%).

Para melhor elucidar os resultados, eles serão aqui apresentados separadamente para as espécies cujas colheitas de sangue ocorreram em três distintos períodos do ano, de forma seriada, e aqueles que foram analisados sem essa periodicidade, ou seja, aqueles nos quais se realizou apenas uma colheita de sangue.

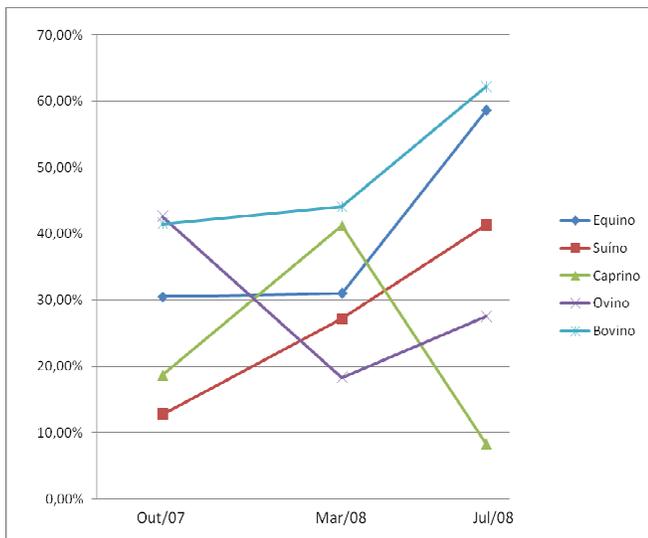
## Resultado das reações de soroaglutinação microscópica nos animais que passaram por colheita seriada

Dos 272 animais testados em outubro de 2007, 84 (30,8%) foram sororreagentes pela SAM, sendo 48 (17,6%) ao sorovar Patoc, 13 (4,7%) ao sorovar Andamana, 13 (4,7%) ao sorovar Autumnalis, 10 (3,6%) ao Pomona, 10 (3,6%) ao Pyrogenes, 6 (2,2%) ao Icterohaemorrhagiae e 4 (1,4%) ao Canicola (tabela 1).

Dos 220 animais analisados em março de 2008, 72 (32,7%) foram sororreagentes à *Leptospira* spp., sendo 32 (14,5%) ao sorovar Patoc, 28 (12,7%) ao Autumnalis, 16 (7,2%) ao Andamana, 10 (4,5%) ao Icterohaemorrhagiae e 4 (1,8%) ao Pyrogenes (tabela 1).

Em julho de 2008, 67 (42,9%) dos 156 animais analisados foram sororreagentes, sendo 39 (25,0%) ao sorovar Icterohaemorrhagiae, 26 (16,6%) ao Patoc, 19 (12,1%) ao Pyrogenes, 6 (3,8%) ao Autumnalis, 6 (3,8%) ao Canicola, 3 (1,9%) ao Pomona e 1 (0,6%) ao Andamana (tabela 1).

Pelo teste de Qui-quadrado ( $X^2$ ), houve diferença significativa, em outubro de 2007, na ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. entre suínos e ovinos ( $p < 0,05$ ), entre suínos e bovinos ( $p < 0,05$ ), entre caprinos e ovinos ( $p < 0,05$ ) e entre caprinos e bovinos ( $p < 0,05$ ). Em fevereiro e março de 2008, houve diferença significativa na ocorrência de anticorpos pela SAM entre caprinos e ovinos ( $p < 0,05$ ). Em julho de 2008, houve diferença significativa na ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. entre equinos e caprinos ( $p < 0,05$ ), entre equinos e ovinos ( $p < 0,05$ ), entre suínos e caprinos ( $p < 0,05$ ), entre caprinos e bovinos ( $p < 0,05$ ) e entre ovinos e bovinos ( $p < 0,05$ ).



**Gráfico 1** - Porcentagem de animais reagentes à *Leptospira* spp., entre equinos, suínos, caprinos, ovinos e bovinos, de acordo com o período de colheita de sangue, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

É possível perceber, pela análise do Gráfico 1, que houve um aumento na frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. ao longo do tempo, porém a partir do outono o aumento passou a ser maior, até julho de 2008 (42,9%). Por outro lado, Yasuda *et al.* (1980) encontraram, em cães de rua da cidade de São Paulo, uma maior prevalência de animais reagentes no verão (24,2%) e no outono (24,9%).

A frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi superior a 30,0% nas três épocas de colheita de sangue, porcentagem que pode ser considerada alta. Esse fato pode ser atribuído à constante presença de gambás e, principalmente, roedores, importantes reservatórios de leptospiros (CUBAS *et al.*, 2007,

MICHNA & CAMPBELL, 1970, REILLY *et al.*, 1968), nos setores de equinocultura, suinocultura, caprinocultura, ovinocultura e bovinocultura de leite da FCAV, apesar do uso de raticidas. O armazenamento incorreto de ração e suplementos alimentares é o principal fator que garante a permanência de roedores e gambás nesses locais. Os bebedouros dos animais possivelmente não representam grande importância na transmissão das leptospiros, pois em todos os setores eles são frequentemente higienizados com água e sabão. Além disso, alguns locais possuem bebedouros tipo “chupeta”, como é o caso da suinocultura. O grande problema está no vazamento de água, pelo mau ajuste dos bebedouros, ou pelo acúmulo de água da chuva, o que facilita a transmissão do agente etiológico por meio do solo alagado, considerando que as fontes de infecção estão presentes. A elevada incidência de raios solares sobre pastagens e piquetes é um fator que contribui no controle de leptospiros no ambiente.

Barcellos *et al.* (2003), num estudo da distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, identificaram áreas de maior risco e possíveis componentes ecológicos da transmissão da leptospirose. As maiores taxas de ocorrência da doença foram verificadas em áreas litorâneas, de baixa altitude e uso do solo predominantemente agrícola, de lavoura irrigada. Esses locais, segundo o estudo, possuem características ecológicas favoráveis à proliferação de roedores, favorecendo a transmissão de leptospiros.

Com o objetivo de analisar os fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas, Delbem *et al.* (2004) apontaram associação entre a leptospirose e a existência de áreas alagadiças próximas às instalações, o uso de bebedouro tipo canaleta e a inexistência de higienização do reservatório de água.

**Tabela 1** - Número e porcentagem de animais reagentes em relação aos analisados, de acordo com os sorovares de *Leptospira* spp. e as épocas do ano, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

| Sorovar                                    | % de animais sororreagentes |      |                      |      |            |      |
|--|-----------------------------|------|----------------------|------|------------|------|
|  | Primavera                   |      | Verão                |      | Inverno    |      |
|  | Outubro 2007                |      | Fevereiro/Março 2008 |      | Julho 2008 |      |
|  | R                           |      | R                    |      | R          |      |
|  | Nº                          | %    | Nº                   | %    | Nº         | %    |
| Andamana                                   | 13                          | 4,7  | 16                   | 7,2  | 1          | 0,6  |
| Autumnalis                                 | 13                          | 4,7  | 28                   | 12,7 | 6          | 3,8  |
| Canicola                                   | 4                           | 1,4  | 0                    | 0,0  | 6          | 3,8  |
| Icterohaemorrhagiae                        | 6                           | 2,2  | 10                   | 4,5  | 39         | 25   |
| Patoc                                      | 48                          | 17,6 | 32                   | 14,5 | 26         | 16,6 |
| Pomona                                     | 10                          | 3,6  | 0                    | 0,0  | 3          | 1,9  |
| Pyrogenes                                  | 10                          | 3,6  | 4                    | 1,8  | 19         | 12,1 |
| Total de reagentes a pelo menos um sorovar | 84                          | 30,8 | 72                   | 32,7 | 67         | 42,9 |
| Total de examinados                        | 272                         | 100  | 220                  | 100  | 156        | 100  |

R – Animais reagentes representados em número (Nº) e porcentagem (%)

Entre os sete sorovares encontrados, destaca-se a maior presença do sorovar Patoc durante a primavera, dos sorovares Patoc e Autumnalis no verão e dos sorovares Icterohaemorrhagiae, Patoc e Pyrogenes no inverno.

Em estudo semelhante, FAVERO *et al.* (2002), ao pesquisar anticorpos contra *Leptospira* spp. em soro de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros, encontraram os seguintes sorovares: Icterohaemorrhagiae, Pomona, Grippotyphosa, Copenhageni, Hardjo, Pyrogenes, Patoc e Autumnalis. Nota-se que, dos oito sorovares encontrados por FAVERO *et al.* (2002), cinco também foram encontrados no presente estudo: Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Patoc e Autumnalis.

## Eqüinos

Dos 36 eqüinos analisados no mês de outubro de 2007, 11 (30,5%) foram reagentes, sendo 8 (22,2%) ao sorovar Patoc e 6 (16,6%) ao Autumnalis (tabela 2).

Entre os meses de fevereiro e março de 2008, foram analisados 32 animais, dos quais 9 (28,1%) foram

reagentes. Os sorovares reagentes foram Patoc, 7 (21,8%), e Pyrogenes, 4 (12,5%) (tabela 2).

Dos 29 animais analisados no mês de julho de 2008, 17 (58,6%) foram reagentes, sendo 9 (31,0%) ao sorovar Icterohaemorrhagiae, 6 (20,6%) ao Canicola, 5 (17,2%) ao Autumnalis e 5 (17,2%) ao Pyrogenes (tabela 2).

**Tabela 2** - Número e porcentagem de eqüinos reagentes, de acordo com os sorovares de *Leptospira* spp. e a época do ano, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

| Sorovar                                    | % de animais sororreagentes |      |                            |      |                       |      |
|--|-----------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------|------|
|  | Primavera<br>Outubro 2007   |      | Verão Fevereiro/Março 2008 |      | Inverno<br>Julho 2008 |      |
|  | R                           |      | R                          |      | R                     |      |
|  | Nº                          | %    | Nº                         | %    | Nº                    | %    |
| Autumnalis                                 | 8                           | 22,2 | -                          | -    | 5                     | 17,2 |
| Canicola                                   | -                           | -    | -                          | -    | 6                     | 20,6 |
| Icterohaemorrhagiae                        | -                           | -    | -                          | -    | 9                     | 31,0 |
| Patoc                                      | 6                           | 16,6 | 7                          | 21,8 | -                     | -    |
| Pyrogenes                                  | -                           | -    | 4                          | 12,5 | 5                     | 17,2 |
| Total de reagentes a pelo menos um sorovar | 11                          | 30,5 | 9                          | 28,1 | 17                    | 58,6 |
| Total de examinados                        | 36                          | 100  | 32                         | 100  | 29                    | 100  |

- Ausência de reação

R – Animais reagentes representados em número (Nº) e porcentagem (%).

## Suínos

De um total de 39 suínos analisados em outubro de 2007, 5 (12,8%) foram reagentes na SAM, sendo 3 (7,6%) ao sorovar Icterohaemorrhagiae, 3 (7,6%) ao Patoc e 2 (5,1%) ao Pomona (tabela 3).

Na segunda série de colheita de material, dos 33 animais analisados, 9 (27,2%) foram reagentes, sendo Autumnalis o único sorovar encontrado (tabela 3).

No mês de julho de 2008, dos 29 animais analisados, 12 (41,3%) foram reagentes, sendo 6 (20,6%) ao sorovar Icterohaemorrhagiae, 4 (13,7%) ao Patoc e 3 (10,3%) ao Pomona (tabela 3).

**Tabela 3** - Número e porcentagem de suínos reagentes em relação aos analisados, de acordo com os sorovares de *Leptospira* spp. e as épocas do ano, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

| Sorovar                                    | % de animais sororreagentes |      |                            |      |                       |      |
|--|-----------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------|------|
|  | Primavera<br>Outubro 2007   |      | Verão Fevereiro/Março 2008 |      | Inverno<br>Julho 2008 |      |
|  | R                           |      | R                          |      | R                     |      |
|  | Nº                          | %    | Nº                         | %    | Nº                    | %    |
| Autumnalis                                 | -                           | -    | 9                          | 27,2 | -                     | -    |
| Icterohaemorrhagiae                        | 3                           | 7,6  | -                          | -    | 6                     | 20,6 |
| Patoc                                      | 3                           | 7,6  | -                          | -    | 4                     | 13,7 |
| Pomona                                     | 2                           | 5,1  | -                          | -    | 3                     | 10,3 |
| Total de reagentes a pelo menos um sorovar | 5                           | 12,8 | 9                          | 27,2 | 12                    | 41,3 |
| Total de examinados                        | 29                          | 100  | 33                         | 100  | 29                    | 100  |

- Ausência de reação

R – Animais reagentes representados em número (Nº) e porcentagem (%).

## Caprinos

Dos 64 caprinos analisados em outubro de 2007, 12 (18,7%) foram reagentes, sendo 5 (7,8%) ao sorovar Patoc, 4 (6,2%) ao Canicola e 3 (4,6%) ao Icterohaemorrhagiae (tabela 4).

Entre os meses de fevereiro e março de 2008, dos 63 animais analisados, 26 (41,2%) foram reagentes, sendo

12 (19,0%) ao sorovar Autumnalis, 10 (15,8%) ao Icterohaemorrhagiae e 8 (12,6%) ao Patoc (tabela 4).

No mês de julho de 2008, dos 24 animais analisados, 2 (8,3%) foram reagentes, sendo um animal reagente ao sorovar Andamana e outro ao sorovar Autumnalis (tabela 4).

**Tabela 4.** Número e porcentagem de caprinos reagentes em relação aos analisados, de acordo com os sorovares de *Leptospira* spp. e a época do ano, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

| Sorovar                                    | % de animais sororreagentes |      |                            |      |                       |     |
|--|-----------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------|-----|
|  | Primavera<br>Outubro 2007   |      | Verão Fevereiro/Março 2008 |      | Inverno<br>Julho 2008 |     |
|  | R                           |      | R                          |      | R                     |     |
|  | Nº                          | %    | Nº                         | %    | Nº                    | %   |
| Andamana                                   | -                           | -    | -                          | -    | 1                     | 4,1 |
| Autumnalis                                 | -                           | -    | 12                         | 19,0 | 1                     | 4,1 |
| Canicola                                   | 4                           | 6,2  | -                          | -    | -                     | -   |
| Icterohaemorrhagiae                        | 3                           | 4,6  | 10                         | 15,8 | -                     | -   |
| Patoc                                      | 5                           | 7,8  | 8                          | 12,6 | -                     | -   |
| Total de reagentes a pelo menos um sorovar | 12                          | 18,7 | 26                         | 41,2 | 2                     | 8,3 |
| Total de examinados                        | 64                          | 100  | 63                         | 100  | 24                    | 100 |

- Ausência de reação

R – Animais reagentes representados em número (Nº) e porcentagem (%).

## Ovinos

Dos 68 ovinos analisados em outubro de 2007, 29 (42,6%) foram reagentes pela SAM, sendo 12 (17,6%) ao sorovar Patoc, 10 (14,7%) ao Pyrogenes, 8 (11,7%) ao Pomona e 7 (10,2%) ao Autumnalis (tabela 5).

Na segunda série de colheita de material, dos 49 animais analisados, 9 (18,3%) foram reagentes, sendo 7 (14,2%) ao sorovar Autumnalis e 4 (8,1%) ao Patoc (tabela 5).

Dos 29 animais analisados em julho de 2008, 8 (27,5%) foram reagentes, sendo Icterohaemorrhagiae o único sorovar encontrado (tabela 5).

**Tabela 5 -** Número e porcentagem de ovinos reagentes em relação aos analisados, de acordo com os sorovares de *Leptospira* spp. e as épocas do ano, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

| Sorovar                                    | % de animais sororreagentes |      |                            |      |                       |      |
|--|-----------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------|------|
|  | Primavera<br>Outubro 2007   |      | Verão Fevereiro/Março 2008 |      | Inverno<br>Julho 2008 |      |
|  | R                           |      | R                          |      | R                     |      |
|  | Nº                          | %    | Nº                         | %    | Nº                    | %    |
| Autumnalis                                 | 7                           | 10,2 | 7                          | 14,2 | -                     | -    |
| Icterohaemorrhagiae                        | -                           | -    | -                          | -    | 8                     | 27,5 |
| Patoc                                      | 12                          | 17,6 | 4                          | 8,1  | -                     | -    |
| Pomona                                     | 8                           | 11,7 | -                          | -    | -                     | -    |
| Pyrogenes                                  | 10                          | 14,7 | -                          | -    | -                     | -    |
| Total de reagentes a pelo menos um sorovar | 29                          | 42,6 | 9                          | 18,3 | 8                     | 27,5 |
| Total de examinados                        | 68                          | 100  | 49                         | 100  | 29                    | 100  |

- Ausência de reação

R – Animais reagentes representados em número (Nº) e porcentagem (%).

## Bovinos

No mês de outubro de 2007, dos 65 bovinos analisados, 27 (41,5%) foram reagentes pela SAM, sendo 20 (30,7%) ao sorovar Patoc e 13 (20,0%) ao Andamana (tabela 6).

Em março de 2008, dos 43 animais analisados, 19 (44,1%) foram reagentes, sendo 16 (37,2%) ao sorovar Andamana e 13 (30,2%) ao Patoc (tabela 6).

Na terceira série de colheita de sangue, dos 45 animais analisados, 28 (62,2%) foram reagentes, sendo 22 (48,8%) ao sorovar Patoc, 16 (35,5%) ao Icterohaemorrhagiae e 14 (31,1%) ao Pyrogenes (tabela 6).

**Tabela 6** - Número e porcentagem de bovinos reagentes em relação aos analisados, de acordo com os sorovares de *Leptospira* spp. e as épocas do ano, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

| Sorovar                                    | % de animais sororreagentes |      |                            |      |                       |      |
|--|-----------------------------|------|----------------------------|------|-----------------------|------|
|  | Primavera<br>Outubro 2007   |      | Verão Fevereiro/Março 2008 |      | Inverno<br>Julho 2008 |      |
|  | R                           |      | R                          |      | R                     |      |
|  | Nº                          | %    | Nº                         | %    | Nº                    | %    |
| Andamana                                   | 13                          | 20,0 | 16                         | 37,2 | -                     | -    |
| Icterohaemorrhagiae                        | -                           | -    | -                          | -    | 16                    | 35,5 |
| Patoc                                      | 20                          | 30,7 | 13                         | 30,2 | 22                    | 48,8 |
| Pyrogenes                                  | -                           | -    | -                          | -    | 14                    | 31,1 |
| Total de reagentes a pelo menos um sorovar | 27                          | 41,5 | 19                         | 44,1 | 28                    | 62,2 |
| Total de examinados                        | 65                          | 100  | 43                         | 100  | 45                    | 100  |

- Ausência de reação

R – Animais reagentes representados em número (Nº) e porcentagem (%).

### Resultado das reações de soroaglutinação microscópica nos animais que passaram por uma única colheita

## Gambás

Dos 25 gambás analisados, 11 (44,0%) foram reagentes pela SAM, sendo 5 (20,0%) ao sorovar Patoc, 3 (12,0%) ao Autumnalis e 3 (12,0%) ao Icterohaemorrhagiae (tabela 7).

Em relação à época do ano, de janeiro a abril nenhum gambá foi reagente aos sorovares de *Leptospira* spp. utilizados. Dos dois animais analisados em maio, um

foi reagente ao sorovar Patoc. O único animal testado em junho foi reagente ao sorovar Patoc. Dos nove gambás testados em julho, 7 (77,7%) foram reagentes, sendo 3 (33,3%) ao sorovar Autumnalis, 2 (22,2%) ao Icterohaemorrhagiae e 2 (22,2%) ao Patoc. No mês de agosto, dos dois gambás analisados, um foi reagente ao sorovar Icterohaemorrhagiae e outro ao Patoc (tabela 7).

**Tabela 7** - Número e porcentagem de gambás reagentes em relação aos analisados, de acordo com os sorovares de *Leptospira* spp. e as épocas do ano, no *Campus* da Unesp de Jaboticabal.

| Sorovar                                    | % de animais sororreagentes |     |      |      |       |     |       |      |        |     |
|--|-----------------------------|-----|------|------|-------|-----|-------|------|--------|-----|
|  | Janeiro a Abril             |     | Maio |      | Junho |     | Julho |      | Agosto |     |
|  | R                           |     | R    |      | R     |     | R     |      | R      |     |
|  | Nº                          | %   | Nº   | %    | Nº    | %   | Nº    | %    | Nº     | %   |
| Autumnalis                                 | -                           | -   | -    | -    | -     | -   | 3     | 33,3 | -      | -   |
| Icterohaemorrhagiae                        | -                           | -   | -    | -    | -     | -   | 2     | 22,2 | 1      | 50  |
| Patoc                                      | -                           | -   | 1    | 50,0 | 1     | 100 | 2     | 22,2 | 1      | 50  |
| Total de reagentes a pelo menos um sorovar | -                           | -   | 1    | 50,0 | 1     | 100 | 7     | 77,7 | 2      | 100 |
| Total de examinados                        | 11                          | 100 | 2    | 100  | 1     | 100 | 9     | 100  | 2      | 100 |

- Ausência de reação

R – Animais reagentes representados em número (Nº) e porcentagem (%).

Não se pode descartar a possível transmissão de leptospiras entre os gambás e os animais que passaram por três colheitas. Entre os equinos, suínos, caprinos, ovinos e bovinos, os sorovares mais encontrados foram: Patoc na primavera, Autumnalis e Patoc no verão e Icterohaemorrhagiae no inverno, justamente os

três sorovares encontrados nos marsupiais. Outro ponto que chama a atenção é a maior frequência de equinos, suínos e bovinos reagentes durante o inverno, período em que se obteve a maior prevalência de gambás reagentes. Ao analisar novamente os setores, percebe-se que, entre os locais de colheita de sangue, os setores

de equinocultura, suinocultura e bovinocultura leiteira são os que mais albergam esses marsupiais. Isso reforça a idéia de que os gambás podem ser importantes reservatórios de *Leptospira* spp. (CUBAS *et al.*, 2007).

Da mesma forma, Reilly *et al.* (1968) e Michna & Campbell (1970) mencionaram que roedores, marsupiais, edentatas, carnívoros e artiodáctilos podem ser importantes fontes de infecção para a leptospirose. Dentre os marsupiais, os gambás (*Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Didelphis marsupialis*) são reservatórios de vários sorovares, tais como Ballum, Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Szwajizem e Grippotyphosa (CUBAS *et al.*, 2007).

Dos 11 animais reagentes na SAM, 2 (18,1%) foram capturados na Região 2, 6 (54,5%) na Região 3 e um animal em cada uma das Regiões 4, 5 e 6. As Regiões 1 e 7 não tiveram animais reagentes em nenhum período do estudo. Pelo teste exato de Fisher, não houve diferença significativa entre a ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. nas regiões determinadas ( $p>0,05$ ).

#### Demais espécies

Dos dois cães errantes analisados durante o estudo, cujos sangues foram colhidos respectivamente em outubro de 2007 e janeiro de 2008, um foi reagente aos sorovares Patoc e Pyrogenes e outro aos sorovares Autumnalis e Patoc. Dos seis cães do canil do Departamento de Patologia da FCAV, Unesp, Jaboticabal, 2 (33,3%) foram reagentes na SAM, um ao sorovar Autumnalis e outro ao sorovar Patoc.

O único coelho testado foi reagente ao sorovar Patoc.

Dos 44 cervídeos analisados, 19 (43,1%) foram reagentes, sendo 7 (36,8%) ao sorovar Autumnalis, 6 (31,5%) ao Andamana, 6 (31,5%) ao Icterohaemorrhagiae, 6 (31,5%) ao Patoc e 5 (26,3%) ao Canicola.

Ao pesquisarem anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, no Mato Grosso do Sul, GIRIO *et al.* (2004) examinaram amostras de sangue de várias espécies animais, inclusive duas espécies de cervídeos, o veado-campeiro (*Ozotocerus bezoarticus*) e o veado-mateiro (*Mazama americana*). Os sorovares mais encontrados no veado-campeiro foram Icterohaemorrhagiae e Copenhageni. Nenhuma das amostras de sangue de veados-mateiros foi reagente pela SAM.

#### CONCLUSÕES

Anticorpos contra *Leptospira* spp. estão presentes em várias espécies no Campus da FCAV, Unesp, Jaboticabal, sendo elas: equinos, suínos, caprinos, ovinos, bovinos, cães errantes e de canil, coelho, gambás de vida livre e cervídeos de cativeiro. As estações do ano tiveram influência na ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em equinos, suínos, caprinos, ovinos e bovinos. Houve diferença significativa na frequência de anticorpos contra

*Leptospira* spp. entre o inverno e a primavera e também entre o inverno e o verão. Não houve diferença significativa na frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. entre as regiões de captura e colheita de sangue de gambás (*Didelphis albiventris*). Os sorovares de *Leptospira* spp. contra os quais se encontrou título de anticorpos foram: Patoc, Autumnalis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Andamana, Canicola e Pomona.

#### REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N., SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**, 3. ed. Washington, EUA, OPS-OMS, 2003.
- BARCELLOS, C., LAMMERHIRT, C. B., ALMEIDA, M. A. B., SANTOS, E. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.5, p. 1283-1292, 2003.
- BEIGUELMAN, B. **Curso Prático de Bioestatística**. 4 ed. rev. São Paulo. Revista Brasileira de Genética, 242p, 1996.
- CUBAS, Z. S., SILVA, J. C. R., CATÃO-DIAS, J. L. Doenças Comuns a vários Taxa –Leptospirose. **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**, 1ed. Editora Roca. p.736-741, 2007.
- DELBEM, A. C. B., FREIRE, R. L., SILVA, C. A., MÜLLER, E. E., DIAS, R. A., NETO, J. S. F., FREITAS, J. C. Fatores de risco associados a soropositividade para leptospirose em matrizes suínas. **Cienc. Rural**, vol.34, n.3, p.847-852, 2004.
- FAINE, S. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MedSci, 272p, 1999.
- FAVERO, A. C. M., PINHEIRO, S. R., VASCONCELLOS, S. A., MORAIS, Z. M., FERREIRA, F. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Cienc. Rural**, vol.32, n.4, p.613-619, 2002.
- GIRIO, R. J. S., PEREIRA, F. L. G., MARCHIORI FILHO, M., MATHIAS, L. A., HERREIRA, R. C. P., ALESSI, A. C., GIRIO, T. M. S. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil: utilização da técnica de imunohistoquímica para detecção do agente. **Cienc. Rural**, vol.34, n.1, p.165-169, 2004.
- MANUAL DE LEPTOSPIROSE. **Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde - Leptospirose. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de**

**Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos.** 2 ed. rev. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 98p, 1995.

MICHNA, S. W., CAMPBELL, R. S. F. Leptospirosis in wild animals. **Journal of Comparative Pathology**, v.8, p.101-106, 1970.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância Epidemiológica.** 6 ed., p.502-520, Brasília, 2005.

REILLY, J. R., FERRIS, D. H., HANSON, L. E. Experimental demonstration of the enteric route of infection with *Leptospira grippotyphosa* in wild carnivores. **American Journal of Veterinary Research**, v.29, n.9, p.1849-1854, 1968.

YASUDA, P. H., SANTA ROSA, C. A., YANAGUITA, R. M. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.14, n.4, p.589-596, 1980.