

# Soropositividade para leptospirose e desempenho reprodutivo de ovinos de criatórios localizados no estado de São Paulo, Brasil\*

Huber Rizzo<sup>1+</sup>, Lilian Gregory<sup>2</sup>, Fidel Beraldi<sup>3</sup>, Vanessa Castro<sup>4</sup>, Zenáide Maria de Moraes<sup>5</sup> e Silvio Arruda Vasconcellos<sup>6</sup>

**ABSTRACT.** Rizzo H., Gregory L., Beraldi F., Castro V., Moraes Z.M. & Vasconcellos S.A. [**Leptospirosis and reproductive performance of sheep bred in São Paulo State, Brazil.**] Soropositividade para leptospirose e desempenho reprodutivo de ovinos de criatórios localizados no estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 36(3):244-250, 2014. Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo SP 05508-270, Brasil. Email: hubervet@gmail.com

The association between leptospirosis serum reactivity and reproductive failure was investigated on 294 sheep from 28 farms on the State of São Paulo, Brazil. The samples were screened using microscopic serum agglutination with 24 serovars, the cut-off point was the dilution of 1:100. Biological samples from 16 abortion products, one uterus, six placentas, five samples of uterine discharge, five swabs with vaginal discharge, 17 semen samples, and three samples of preputial secretion, were submitted to bacterial cultivation and isolation on Fletcher media. Organs pools of seven aborted fetuses were screened through PCR technique in order to find *Leptospira* sp. DNA. Leptospirosis serum reactive sheep with reproductive disturbances history proportion was 22.8% (67/294). 87 positive serum agglutination reactions (title  $\geq$  100) were found with 15 different serovars. The most predominant were: Autumnalis (n=33), Icterohaemorrhagiae (n=11) e Hardjo (Hardjoprajitno) (n= nine) with titles ranging from 100 to 800. Positive animals association with endometritis was high OR=7.62 (p=0.021 and CI=1.36 - 42.72), abortion had low association OR=0.54 (p=0.046 and CI=0.30 - 0.99). There was neither positive PCR test nor isolation. It was not possible to find the association between reproductive disturbances and leptospirosis serum reactivity on the sheep flocks studied on the State of São Paulo.

**KEYS WORDS.** Reproductive disturbances, sheep husbandry, *Leptospiras* spp.

**RESUMO.** Foi investigada a relação entre reatividade sorológica para leptospirose e distúrbios reprodutivos verificados em 294 ovinos de 28 pro-

priedades do estado de São Paulo. Os soros foram submetidos à reação de soroprecipitação microscópica frente a uma coleção de 26 sorovares de leptos-

\*Recebido em 17 de setembro de 2012.

Aceito para publicação em 24 de janeiro de 2014.

<sup>1</sup>Médico-veterinário, DSc., Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-270, Brasil. <sup>+</sup>Autor para correspondência, E-mail: hubervet@gmail.com

<sup>2</sup>Médica-veterinária, DMV. Departamento de Clínica Veterinária, FMVZ, USP, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-270. E-mail: lgregory@usp.br

<sup>3</sup>Estatístico, Programa de Pós-Graduação em Estatística, Instituto de Matemática e Estatística, USP, Rua do Matão, 1010, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-090. E-mail: fidelberaldi@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Bióloga, MSc. Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, Avenida Conselheiro Rodrigues Alves, 1252, São Paulo, SP 04014-002, Brasil. E-mail: castro@biologico.sp.gov.br

<sup>5</sup>Bióloga, Técnica do Laboratório de Zoonoses Bacterianas, FMVZ, USP, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-270. E-mail: zenaide@usp.br

<sup>6</sup>Médico-veterinário, DSc, LD. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, FMVZ, USP, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, Cidade Universitária, São Paulo, SP 05508-270. E-mail: sovaco@usp.br

piras vivas, tendo como ponto de corte a diluição de 1:100. Amostras biológicas de 16 fetos abortados, um útero, seis secundinas, cinco secreções uterinas, cinco zaragatoas com material de secreção vaginal, 17 amostras de sêmen, três zaragatoas com secreção prepucial foram submetidas a cultivo para isolamento de leptospiras em meio Fletcher. Pool de órgãos de sete fetos abortados foram examinados pela técnica de PCR para demonstração do DNA de *Leptospira* sp. A proporção de ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos e sororeativos para leptospirose foi de 22,8% (67/294). Houve 87 reações de soroaglutinação positivas (título  $\geq$  100) com 15 sorovares diferentes. Os sorovares predominantes foram: Autumnalis (n=33), Icterohaemorrhagiae (n=11) e Hardjo (Hardjoprajitno) (n=9); os títulos variaram de 100 a 800. A associação de ovinos sororeagentes com endometrite foi alta, porém só foi avaliada em três animais com resultado de OR=7,62 (p=0,021 e IC=1,36 - 42,72), para o parâmetro abortamento a análise de fator de risco apresentou queda do risco entre os animais sororeagentes (OR=0,54 e IC=0,30-0,99) apesar do p=0,046. Todos os cultivos e as reações de PCR foram negativas. Nos rebanhos de ovinos do estado de São Paulo examinados não foi possível a constatação de uma relação entre os transtornos reprodutivos observados e a sorologia positiva para leptospirose.

**PALAVRAS-CHAVE.** Distúrbios reprodutivos, ovino-cultura, *Leptospiras* spp.

## INTRODUÇÃO

A leptospirose ovina é uma infecção cosmopolita estreitamente vinculada aos fatores ambientais, que se agrava em propriedades que consorciavam a criação de ovinos com outras espécies de animais (Langoni et al. 1995, Escócio et al. 2010). O primeiro registro da leptospirose em ovinos foi efetuado em 1937 na Áustria e desde então diversos sorovares tem sido incriminados em todo o mundo (Rafyi et al. 1967). As primeiras investigações em ovinos no Brasil foram efetuadas no estado de São Paulo e encontraram frequências de reatores de 34% (Santa Rosa, Castro 1963) e 29,7% (Santa Rosa et al. 1969/1970). Posteriormente no mesmo estado Langoni et al. (1995) registraram positivities para a leptospirose em ovinos examinados de 41,92% e 44,94%, respectivamente, nas provas de macroaglutinação em placa e de aglutinação microscópica. Já Favero et al. (2002) relataram 0,7% (2/284) e Escócio et al. (2010) 23,6% (26/110) em ovinos oriundos de rebanhos criados consorciados a bovinos e 5,5% (7/128) em criatórios exclusivamente de ovinos.

No Rio Grande do Sul, Herrmann et al. (2004) encontraram 34,26% (466/1360) ovinos soropositivos e Seixas et al. (2010) 3% (5/157). No Distrito Federal, Silva et al. (2007) relataram que dez de 44 animais (20,95%) oriundos de matadouro de Pelotas, foram sororeagentes para leptospirose e examinando os rins de um animal aparentemente saudável conseguiram firmar o primeiro isolamento de leptospira desta espécie animal no Brasil o qual foi classificado como da espécie *Leptospira noguchii*. No Estado do Rio de Janeiro, Lilenbaum et al. (2009) encontraram 13,7% de ovinos sororeagentes. No estado da Bahia Viegas et al. (1980) constataram 22,8% de positividade, com predomínio dos sorovares Autumnalis e Castellonis, decorridos quatorze anos o mesmo grupo observou a ocorrência de um grande aumento na positividade para leptospirose nos ovinos do Estado registrando 89,5% de animais soropositivos (Viegas et al. 1994). Também na Bahia, Caldas et al. (1983), encontraram a proporção de 174/1.130 de ovinos, 15,4% de sororeagentes para leptospirose assinalando ainda que 23,8% de reações positivas foram obtidas com o sorovar Autumnalis, 20,1% com Castellonis e 11,2% com Pomona. Destacaram também a crescente elevação da incidência da leptospirose em ovinos do estado da Bahia cuja série histórica dos anos de 1986, 1989, 1991, 1993 1995/96 e 1997/98 foi representada, respectivamente, pelos valores de 34,7% (n=800), 11,72% (n=900), 46% (n=200), 71,5% (n=111), 76,6% (n=103), 78,7% (n=122) respectivamente (Melo et al. 2010). No Estado da Paraíba Azevedo et al. (2004a) isolaram *Leptospira* spp. dos rins de ovinos porém não foi possível a tipificação da estirpe isolada também constataram a existência de 7,5% de animais sororeatores com predomínio de reações para o sorovar Autumnalis. No Estado do Rio Grande do Norte foram registrados 3,5% de ovinos sororeagentes para leptospiras (Azevedo et al. 2004b).

No mundo o sorovar Hardjo tem sido responsabilizado como o mais frequente causador de problemas reprodutivos (abortamentos) em ovelhas e também pela morte de cordeiros (Lilenbaum et al. 2009, Melo et al. 2010). Contudo outros sorovares tais como Pomona, Ballum, Bratislava, Grippityphosa, Icterohaemorrhagiae e Sejroe também têm sido confirmados, porém com menor frequência, (Ellis et al. 1983, Leon-Vizcaino et al. 1987). Informes epidemiológicos tem indicado a ocorrência de abortamentos e infertilidade principalmente nos criatórios de ovinos com maiores frequência de animais sororeagentes para a leptospirose (Lilen-

baum et al. 2008). No entanto, dentre os ruminantes domésticos, a espécie ovina é a que apresenta menor susceptibilidade a infecção por leptospirosas (Leon-Vizcaino et al. 1987), porém é aventada a hipótese de que estes animais se comportem como portadores assintomáticos e desenvolvam uma infecção renal crônica (Gerritsen et al. 1994) com leptospirúria persistente e contaminação ambiental de grande potencial zoonótico (Cousins et al. 1989).

Os ovinos adquirem a leptospirose pelo contágio indireto com água contaminada por urina, fluidos vaginais, placenta e por contágio direto pelo coito ou infecção intra-uterina (Ellis 1994, Faine et al. 1999, Lilenbaum et al. 2008). A alimentação de cordeiros com leite ou colostro de vacas infectadas também pode ser uma via de transmissão das leptospirosas (Simpson & Done 1989).

A leptospirose pode manifestar-se de forma aguda, crônica ou inaparente, caracterizada por quadros clínicos de piroxia, icterícia, hemoglobínúria, leptospiremia, mastite sanguinolenta, agalactia, abortamento seguida por hemorragia, nefrite, septicemia e anemia hemolítica nos cordeiros com morte na primeira semana de vida (Andreani et al. 1983, Acha & Szyfres 1989, Ellis 1994, Melo et al. 2010). Entretanto, os sinais clínicos parecem diferir de uma região para outra, sempre na dependência do sorovar, virulência, carga de inóculo, susceptibilidade, condição física e idade do animal (Faine 1982). Os abortamentos ocorrem geralmente no terço final de gestação principalmente nas duas últimas semanas e também tem sido observado o aumento do número de fetos mumificados, natimortos e cordeiros fracos ao nascer. Apesar das infecções serem provocadas por diversos sorovares o de maior destaque para os ovinos tem sido o Hardjo (Ellis 1994).

O presente trabalho foi delineado para investigar a relação entre sororeatividade para leptospirose e o tipo de transtrono reprodutivo observado em criatórios de ovinos do estado de São Paulo, Brasil.

## MATERIAL E MÉTODOS

Durante o ano de 2008 foi efetuada a colheita de sangue de 294 ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos, dos quais 257 eram fêmeas e 37 machos. Os animais foram originários de 28 propriedades localizadas em 20 municípios do Estado de São Paulo: Atibaia, Campinas, Cunha, Indaia-tuba, Itapevi, Itatiba, Itu, Itupeva, Jundiaí, Morungaba, Pedra Bela, Piedade, Piracaia, Pirassununga, Santa Rita do Passa Quatro, Santo Anastácio, São Paulo, Sorocaba, Valinhos e Vargem. O número de animais examinados por propriedade variou de um a 40 indivíduos.

No momento da visita, foi aplicado um questionário destinado a verificação das características do criatório que poderiam vir a ser fatores de risco para infecção por leptospirosas. Essas variáveis incluíram sexo, raça, instalações (presença de aprisco ou não), tipo de alimentação, sistema de criação (intensivo, semi-intensivo), manejo reprodutivo (monta natural ou utilização de biotecnologias) e presença de outras espécies de animais em contato com o rebanho.

Foram observadas alterações reprodutivas e histórico de problemas reprodutivos em passado recente como baixa eficiência reprodutiva, repetição de cio, abortamentos, nascimento de cordeiros “fracos” ou natimortos, parto distócico, retenção de secundina, endometrite, orquite, epididimite, hipoplasia testicular e alterações no exame andrológico entre outros. Os animais foram examinados individualmente pelo exame clínico geral e específico do aparelho genital de acordo com critérios recomendados por Rosenberger (1993).

A pesquisa de anticorpos para leptospirose foi executada pelo Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo que utilizou a reação de soroprecipitação microscópica (Faine 1982) com uma coleção constituída por 26 estirpes de leptospirosas: dos sorovares, Andamana, Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Canicola, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Fronn, Grippotyphosa, Hardjo (Hardjoprajitno), Hardjo (Hardjobovis), Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Mini, Panama, Pomona, Pyrogenes, Patoc, Sentot, Shermani, Tarassovi, Whitcombi e Wolffi. As leptospirosas foram cultivadas no meio de EMJH modificado (Alves et al. 1996) e só foram empregados como antígenos os cultivos com quatro a oito dias de idade. A reação foi efetuada em duas etapas, triagem com toda a coleção de antígenos tendo como ponto de corte a diluição de 1:100 da mistura soro/antígeno e titulação apenas com os antígenos que reagiram na triagem, em diluições seriadas de razão dois. O título considerado foi a recíproca da maior diluição do soro que apresentou 50% de leptospirosas aglutinadas por campo microscópico.

Além das amostras de sangue, sempre que possível, também foram colhidas outras amostras biológicas representadas por materiais provenientes do trato reprodutivo dos ovinos bem como dos produtos do abortamento. Dezesesseis fetos abortados, seis secundinas, secreções uterinas de cinco ovelhas, secreção vaginal de cinco ovelhas (zaragatoas), sêmen de 17 reprodutores e secreção do prepúcio de três reprodutores (zaragatoas) foram submetidos ao cultivo microbiológico para o isolamento de leptospirosas em meio de Fletcher (Miraglia et al. 2003). Todas as amostras foram mantidas sobre refrigeração e o exame laboratorial foi efetutado em até 24 horas do momento da colheita.

Dos 16 fetos abortados examinados, sete foram submetidos à pesquisa do DNA de leptospirosas com o emprego da reação da polimerase em cadeia (PCR), utilizando *pool* de fragmentos de rins, fígado, baço e pulmão (Richtzenhain et al. 2002).

A análise dos resultados obtidos foi efetuada com o emprego de técnica descritiva multidimensional que

analisou a proporção e quantidade de indivíduos por grupo de variáveis da enfermidade. Os grupos que apresentaram associações significantes ( $p < 0,05$ ) foram avaliados por regressão logística, para fins da mensuração do risco entre as variáveis do modelo (Neter et al. 1996, Paulino & Singer et al. 2006).

## RESULTADOS

A frequência de ovinos sororeagentes para a leptospirose nos 28 rebanhos paulistas examinados foi de 22,8% (67/294), dos quais 21,8% (56/254) foram fêmeas e 29,7% (11/37) machos, a diferença da

Tabela 1. Frequência e distribuição de 87 reações de soroaglutinação com 15 sorovares distintos na prova de soroaglutinação microscópica em 294 soros ovinos do Estado de São Paulo.

Titulação Sorovar / Sexo	100		200		400		800		Total		Total Ovinos
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
Australis	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-	1
Bratislava	3	1	-	-	-	-	-	-	3	1	4
Autumnalis	13	1	13	3	3	-	-	-	29	4	33
Castellonis	1	1	2	-	-	-	-	-	3	1	4
Sentot	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Grippotyphosa	-	-	1	-	1	-	-	-	2	-	2
Copenhagen	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
Icterohaemorrhagiae	5	1	3	2	-	-	-	-	8	3	11
Panama	1	-	1	-	-	-	-	-	2	-	2
Pomona	1	-	1	-	-	-	-	-	3	-	3
Pyrogenes	-	-	1	-	1	-	-	-	2	-	2
Patoc	-	-	1	1	1	-	-	-	2	1	3
Hardjo (hardjoprajitno)	1	2	4	-	1	1	1	-	7	2	9
Hardjo (hardjobovis)	5	-	1	-	1	-	-	-	6	1	7
Wolffi	1	-	1	-	-	-	1	-	3	1	4
Total por sexo	33	6	29	7	8	1	3	-	73	14	87
Total de ovinos	39		36		9		3		87		-

positividade em relação ao sexo foi destituída de significância ( $p > 0,05$ ). A porcentagem de rebanhos que apresentaram pelo menos um animal sororeagente para leptospirose foi de 64,3% (18/28).

Foram registradas 87 reações de soroaglutinação com 15 sorovares distintos. Os sorovares observados em ordem decrescente foram: Autumnalis ( $n=33$ ), Icterohaemorrhagiae ( $n=11$ ), Hardjo (Hardjoprajitno) ( $n=9$ ), Hardjo (Hardjobovis) ( $n=7$ ), Bratislava, Castellonis, Wolffi ( $n=4$ ), Pomona, e Patoc ( $n=3$ ), Grippotyphosa, Panama, Pyrogenes ( $n=2$ ), Australis, Sentot e Copenhageni ( $n=1$ ). Os títulos obtidos variaram de 100 a 800, e o mais freqüente foi o valor 100 em 39 animais. Em seguida foram observados os valores 200, 400 e 800 registrados, respectivamente em 36, nove e três animais (Tabela 1).

Quanto às características dos criatórios estudados, apenas a presença de felídeos apresentou risco significativo para infecções ovinas OR=2,15 ( $p=0,018$  e IC=1,14 - 4,06) (Tabela 2).

Não foi observada relação entre animais sororeagentes para leptospirose e os sinais clínicos observados no momento do exame ginecológico ou andrológico.

Em relação aos distúrbios no histórico reprodutivo, valor de  $p$  significativo foi observado nos casos de animais com histórico de abortamento ( $p=0,046$ ). No entanto a análise de fator de risco mostrou queda do risco em animais sororeagentes

Tabela 2. Análise de significância (valor de  $p$ ) entre ovinos sororeagentes a Leptospiras em relação ao sexo, raça, tipo de instalação, alimentação, sistema de criação, presença de outras espécies animais e tipo de monta.

Variável	Categoria	N	Sororeagentes	Odds ratio (IC 95%)	Valor p
Sexo	Fêmea	257	56 (21,8%)	-	0,28
	Macho	37	11 (29,7%)	-	
Raça	Dorper	29	9 (31,0%)	-	0,27
	Lanados	88	20 (22,7%)	-	0,85
	Mestiços	20	4 (20,0%)	-	0,87
	Santa Inês	157	34 (21,7%)	-	Ref.
Instalações	Com estábulo	249	58 (23,3%)	-	0,73
	Sem estábulo	43	9 (20,9%)	-	
Alimentação	P	51	11 (21,6%)	-	Ref.
	P+C	110	15 (16,7%)	-	0,47
	P+C+S	116	31 (29,2%)	-	0,31
	C+S	47	10 (21,3%)	-	0,97
Sistema de criação	Intensivo	80	22 (27,5%)	-	0,24
	Semi-intensivo	214	45 (21,0%)	-	
Presença de animais	Bovinos	59	15 (25,4%)	-	0,59
	Caninos	183	43 (23,5%)	-	0,71
	Felinos	192	52 (27,1%)	2,15 (1,14 - 4,06)	0,018
	Aves	141	32 (22,7%)	-	0,97
Tipo de monta	Natural	132	25 (18,9%)	-	0,16
	Mista	162	42 (25,9%)	-	

P= pastagem, C=concentrado e S=silagem; Ref. = Parâmetro de referência na análise de significância. Valores de  $p \leq 0,05$  são estatisticamente significantes.

Tabela 3. Análise de significância (valor de p) entre animais sororeagentes para leptospirose em relação à presença ou não de distúrbios reprodutivos no histórico de fêmeas ovinas do Estado de São Paulo.

Variáveis	Categoria	N	Sororeagentes	Odds ratio (IC 95%)	Valor p
Abortamento	Sim	136	23 (16,9%)	0,54 (0,30 - 0,99)	0,046
	Não	121	33 (27,3%)		
Endometrite	Sim	6	4 (66,7%)	7,62 (1,36 - 42,72)	0,021
	Não	251	52 (20,7%)		
Malformação fetal	Sim	3	0 (0,0%)	-	-
	Não	254	56 (22,0%)		
Morte neonatal	Sim	34	7 (20,6%)	-	0,86
	Não	223	49 (22,0%)		
Nascimento de cordeiro fraco	Sim	30	7 (23,3%)	-	0,83
	Não	227	49 (21,6%)		
Natimortalidade	Sim	7	3 (42,9%)	-	0,19
	Não	250	53 (21,2%)		
Parto distócico	Sim	6	2 (33,3%)	-	0,49
	Não	251	54 (21,5%)		
Parto prematuro	Sim	3	1 (33,3%)	-	0,63
	Não	254	55 (21,7%)		
Prolapso uterino	Sim	2	1 (50,0%)	-	0,36
	Não	255	55 (21,6%)		
Repetição de cio	Sim	77	21 (27,3%)	-	0,17
	Não	180	35 (19,4%)		
Retenção de secundinas	Sim	3	0 (0,0%)	-	-
	Não	254	56 (22,0%)		

Valores de  $p \leq 0,05$  são estatisticamente significantes.

(OR=0,54 e IC=0,30-0,99). A presença de endometrite apresentou correlação positiva com a soropositividade para a leptospirose, mas só foi observada em três animais com resultado de OR=7,62 ( $p=0,021$  e IC=1,36 - 42,72) (Tabela 3).

Não houve isolamento de leptospirose nem resultado positivo no teste de PCR em todos os materiais submetidos a estes procedimentos.

## DISCUSSÃO

O encontro de 22,8% de ovinos reagentes para a leptospirose é um valor semelhante ao constatado por Viegas et al. (1980) e Caldas et al. (1983) no estado da Bahia. Comparando-se os resultados do presente estudo com o de outros inquéritos sorológicos já realizados no estado de São Paulo pode-se verificar que o valor observado foi inferior ao registrado por Santa Rosa e Castro (1963), Santa Rosa et al. (1969/1970) e Langoni et al. (1995) assim como com o encontrado no Rio Grande do Sul (Hermann et al. 2004). Já o valor obtido por Lilenbaum et al. (2009) no Rio de Janeiro 13,7% foi inferior a todos os inquéritos sorológicos já efetuados.

As reações para o sorovar *Autumnalis* foram as de maior frequência presentes em 33 animais, esse resultado concorda com os encontrados por Viegas et al. (1980) e Caldas et al. (1983) no estado da Bahia. Contudo o sorovar *Autumnalis* ainda não foi isolado no Brasil de animais domésticos, silvestres ou sinantrópicos e, portanto não é possível o

estabelecimento de uma hipótese para a origem do foco de infecção, destaque-se, contudo que não pode ser excluída a hipótese da ocorrência de reações paradoxais em que a frequência e titulação é maior para um sorovar distinto do que esteja provocando a infecção (Turner 1969).

O sorovar *Icterohaemorrhagiae* registrado em 11 animais foi o segundo em ordem de frequência de registro. O predomínio de ovinos reatores para esse sorovar já foi observado por Langoni et al. (1995) em rebanhos do estado de São Paulo. O sorovar *Icterohaemorrhagiae* já foi isolado no Brasil e tem os roedores sinantrópicos como principal hospedeiro de manutenção (Correia et al. 2004) e, portanto essa é a provável fonte de infecção nos rebanhos acometidos.

Em diversos países do mundo o sorovar *Hardjo* tem sido responsabilizado por causar problemas reprodutivos em ovelhas, morte de cordeiros, e já foi isolado em casos de abortamentos nessa espécie animal (Hathaway & Marshall 1979, Bahaman et al. 1980, Schmitz et al. 1981, Blackmore et al. 1982, Ellis et al. 1983, Krawczyk 2005, Lilenbaum et al. 2009). No presente trabalho foram observados nove ovinos sororeagentes para o sorovar *Hardjo* (*Hardjoprajitno*) e sete para o *Hardjo* (*Hardjobovis*). Em alguns países tem sido aventada a hipótese de que os ovinos poderiam se comportar como reservatórios deste sorovar transmitindo o mesmo para os bovinos, espécie considerada como mais susceptível á

leptospirose que a ovina (Ciceroni et al. 2000). Já Hathaway et al. (1984) demonstraram que quanto maior a densidade de bovinos em uma propriedade, maior será a prevalência de ovinos infectados por *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo, fato não constatado no presente trabalho. Contudo no Brasil, até o presente, só houve um único isolamento de uma estirpe de leptospira do sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) em um rebanho de bovinos produtores de leite no estado de Minas Gerais (Araújo et al. 2005) e não pode ser excluída a hipótese de que as reações sorológicas obtidas com este sorovar sejam reações cruzadas com estirpes autóctones do sorovar Guaricura, membro do sorogrupo Sejroe já isolado no Brasil de bovinos (Santa Rosa et al. 1980) e de bubalinos (Vasconcellos et al. 2001).

O primeiro inquérito sorológico para leptospirose em ovinos no Brasil realizado por Santa Rosa e Castro em 1963 no estado de São Paulo que registraram 34% (136/400) de animais sororeatores com predomínio de reações para os sorovares Canicola, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Sejroe, Grippytyphosa, Hyos e Bataviae dispostos em forma decrescente com títulos variando de 200 a 1600. Posteriormente Santa Rosa et al. (1969/1970) em estudo retrospectivo referiram 29,7% de ovinos positivos, repetindo a ordem de frequência dos quatro sorovares principais observados no trabalho anterior. A comparação de tais resultados com os obtidos no presente trabalho revela a alteração do conjunto de sorovares predominantes o que poderia ser atribuída a alterações introduzidas nas formas de exploração de ovinos que tem empregado maior tecnificação, bem como na origem das matrizes ovinas introduzidas nos rebanhos do Estado de São Paulo a partir dos anos 80 e 90 (Simplicio 2001).

Entre os parâmetros analisados como possíveis fatores de risco registrado nos criatórios, a única categoria que apresentou significância foi à presença de felinos nas propriedades ( $P=0,018$ ) com fator de risco de 2,15 (Tabela 3). Durante as colheitas foi questionado aos tratadores qual a utilidade dos felinos nos criatórios e esses justificaram que era para que efetuassem o combate aos roedores, este motivo foi citado por todos os tratadores. De fato a despeito dos felinos serem uma categoria de animais sabidamente pouco sensíveis à infecção natural por leptospirose (Acha & Szyfres 1983), a sua presença no rebanho é um sinal indicativo da infestação por roedores sinantrópicos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*) reconhecidos, em todo o mundo, como importantes reservatórios

de estirpes de leptospirose do sorogrupo Icterohaemorrhagiae (Correia et al. 2004).

Foi observado que ovinos infectados por leptospirose podem se mostrar menos susceptíveis aos casos de abortamento com predomínio da endometrite (Aycardi et al. 1982, Thiermann 1982). No presente trabalho essa condição foi constatada em três animais, sendo que as os demais distúrbios reprodutivos analisados não apresentaram associação com a infecção a leptospirose. Os fatores que poderiam explicar esses resultados seriam que os sinais clínicos observados podem variar de acordo com sorovar, infectante, virulência, carga de inóculo, susceptibilidade, condição física e idade do animal (Smith et al. 1960, Smith et al. 1962, Faine 1982). Outra razão poderia ser à baixa titulação encontrada nos animais do presente trabalho, pois animais com histórico de abortamento poderiam desenvolver endometrite após o aborto.

## CONCLUSÕES

Em criatórios de ovinos localizados no estado de São Paulo, Brasil a presença de animais sororeagentes para a leptospirose não apresentou relação significativa com os sinais clínicos observados ao exame ginecológico ou andrológico tão pouco com os distúrbios no histórico reprodutivo. Dentre os animais sororeatores para leptospirose houve predomínio de reações com o sorovar Autumnalis. A proporção de rebanhos examinados que apresentou pelo menos um animal sororeator foi de 64,3%, a proporção de bovinos reagentes para pelo menos um sorovar de leptospirose no ponto de corte adotado (1:100) foi de 22,8%.

## REFERÊNCIAS

- Acha P.N. & Szyfres B. *Leptospirosis: Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals*. OPAS, Washington, 1989. p.93-97.
- Andreani E., Tolari F. & Farina R. Experimental infection in sheep with *Leptospira interrogans* serotype hardjo. *Brit. Vet. J.*, 139:165-170, 1983.
- Araújo V.E.M., Moreira E.C., Naveda L.A.B., Silva J.A. & Contreras R.L. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57:430-435, 2005.
- Azevedo S.S., Alves C.J., Andrade J.S.L., Santos F.A., Freitas T.D. & Batista C.S.A. Isolation of *Leptospira* spp. from kidneys of sheep at slaughter. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*, 71:383-385, 2004a.
- Azevedo S.S., Alves C.J., Andrade J.S.L., Batista C.S.A., Clementino I.J. & Santos F.A. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, 11:167-170, 2004b.
- Aycardi E., Rivera B., Torres B. & Bohorquez V. Experimental infection with a *Leptospira hardjo* strain isolated from cattle of the eastern plains of Colombia. *Vet. Microbiol.*, 7:545, 1982.
- Caldas E.M., Sampaio M.B., Viegas E.A., Viegas S.A.R.A. & Dias E.M.M. Aglutininas antileptospira em ovinos e caprinos na região nordeste do Estado da Bahia. *Arq. Esc. Vet., Univ. Fed. Bahia*, 8:88-98, 1983.

- Correia S.H.R., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Teixeira A.A., Dias R.A., Barros M.A., Guimarães V., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. Epidemiologia da leptospirose em animais silvestres na fundação parque zoológico de São Paulo. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 41:189-193, 2004.
- Cousins D.V., Ellis T.M., Parkinson J. & McGlashan C.H. Evidence of sheep as a maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Vet. Rec.*, 124:123-124, 1989.
- Ellis W.A., Bryson D.G., Neill S.D., McParland P.J. & Malone F.E. Possible involvement of leptospires in abortion, stillbirths and neonatal deaths in sheep. *Vet. Rec.*, 112:291-293, 1983.
- Ellis W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North America: Food Anim. Pract.*, 10:463-478, 1994.
- Escócio C., Genovez M.E., Castro V., Piatti R.M., Gabriel F.H.L., Chiebao D.P., Azevedo S.S., Vieira S.R. & Chiba M. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*, 77:371-379, 2010.
- Faine S. *Guidelines for the control of leptospirosis*, WHO, Geneva, 1982. p.1-171. (WHO Offset Publication, 67).
- Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. 1999. *Leptospira and leptospirosis*. MediSci, Melbourne, 1999. 272p.
- Favero A.C.M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Ferreira F. & Neto J.S.F. Sorovares de leptospirose predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos Estados brasileiros. *Cienc. Rur.*, 32:613-619, 2002.
- Gerritsen M.J., Koopmans M.J. & Olyhoek T. Sheep as maintenance host for *Leptospira* serovar hardjo subtype hardjobovis. *Am. J. Vet. Res.*, 55:1232-1237, 1994.
- Langoni H., Marinho M., Baldani S., Da Silva A.V., Cabral K.G. & Da Silva E.D. Pesquisa de aglutininas anti-leptospirose em soros ovinos do Estado de São Paulo, Brasil, utilizando provas de macroaglutinação em placa e soroaglutinação microscópica. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 17:264-268, 1995.
- Leon-Vizcaino L., Herdoso de Mendoza M. & Garrido F. Incidence of Abortions Caused by Leptospirosis in Sheep and Goats in Spain. *Comp. Immun. Microbiol. Infec. Dis.*, 10:149-153, 1987.
- Lilenbaum W., Varges R., Brandão F.Z., Cortez A., Souza S.O. Brandão P.E., Richtzenhain L.J. & Vasconcellos S.A. Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. *Theriogenology*, 69:837-842, 2008.
- Lilenbaum M.W., Varges R., Ristow P., Cortez A., Souza S.O., Richtzenhain L.J. & Vasconcellos S.A. Identification of *Leptospira* spp. carriers among seroreactive goats and sheep by polymerase chain reaction. *Res. Vet. Sci.*, 87:16-19, 2009.
- Herrmann G.P., Lage A.P., Moreira E.C., Haddad J.P.A., Resende J.R., Rodrigues R.O. & Leite R.C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Cienc. Rur.*, 34:443-448, 2004.
- Melo L.S.S., Castro M.B., Leite R.C., Moreira E.C. & Melo C.B. Principais aspectos da infecção por *Leptospira* sp, em ovinos. *Cien. Rur.*, 40:1235-1241, 2010.
- Miraglia F., Morais Z.M., Cortez A., Melville P.A., Marvullo M.F.V., Richtzenhain, L.J., Visintin J.A. & Vasconcellos S.A. Comparison of four antibiotics for inactivating leptospires in bull semen diluted in egg yolk extender and experimentally inoculated with *Leptospira santarosai* serovar guaricura. *Braz. J. Microbiol.*, 34:147-151, 2003.
- Neter J., Kutner M.H., Nachtsheim C.J. & Wasserman W. Applied linear statistical models. 4<sup>th</sup> ed. McGraw Hill, Boston, 1996.
- Paulino C.D. & Singer J. *Análise de dados categorizados*. Edgard Blucher, São Paulo, 2006.
- Rafiy A., Maghami G. & Niak A.I. Leptospirose ovine et caprine. *Bull. Of. Int. Epiz.*, 68:43-59, 1967.
- Richtzenhain L.J., Cortez A., Heinemann M.B., Soares M., Sakamoto S.M., Vasconcellos S.A., Higa Z.M.M., Scarcelli E. & Genovez M.E. A multiplex PCR for the detection of *Brucella* spp. and *Leptospira* spp. DNA from aborted bovine fetuses. *Vet. Microbiol.*, 87:139-147, 2002.
- Rosenberger G. *Enfermedades de los bovinos. Hemisferio Sur*, Montevideo, 1983. Tomo 2, 577p.
- Santa Rosa C.A. & Castro A.F.P. Presença de aglutininas antileptospirose em soro de ovinos e caprinos no Estado de São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, 30:93-98, 1963.
- Santa Rosa C.A., Castro A.F.P., Silva A.S. & Teruya J.M. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de SP. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29-30:19-27, 1969/1970.
- Santa Rosa C.A., Sulzer C.R., Pestana de Castro A.F., Yanaguita R.M. & Giorgi W. Two new leptospiral serovars in the hebdomadis group isolated from cattle in Brazil. *Int. J. Zoo.*, 7:158-163, 1980.
- Seixas L.S., Melo C.B., Leite R.C., Moreira E.C., Mc Manus C.M. & Castro M.B. Anti-*Leptospira* sp. agglutinins in ewes in the Federal District, Brazil. *Trop. Anim. Health Product.*, 43:9-11, 2010.
- Silva E.F., Brod C.F., Cerqueira G.M., Bourscheidt D., Seyffert N., Queiroz A., Santos C.S., Ko A. & Dellagostin O.A. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. *Vet. Microbiol.*, 31:144-149, 2007.
- Simplicio A.A. Caprino-ovincultura na visão do agronegócio. *Rev. CFMV.*, 7:15-18, 2001.
- Simpson V.R. & Done S. *Leptospira* Hardjo and lambs received cow's colostrum. *Vet. Rec.*, 124:469, 1989.
- Thiermann A.B. Experimental leptospiral infections in pregnant cattle with organisms of Hebdomadis serogroup. *Am. J. Vet. Res.*, 43:780-784, 1982.
- Turner L. H. Leptospirosis. *Brit. Med. J.*, 1:231-235, 1969.
- Vasconcellos S.A., Oliveira J.C.F., Morais Z.M., Baruselli P.S., Amaral R., Pinheiro S.R., Ferreira F., Ferreira Neto J.S., Schonberg A. & Hartskeerl R.A. Isolation of *Leptospira santarosai*, serovar Guaricura from buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, 32:298-300, 2001.
- Viegas E.A., Viegas S.R.A. & Caldas E.M. Aglutininas anti-*Leptospira* em hemossoro de caprinos e ovinos, no Estado da Bahia. *Arq. Fac. Vet. Univ. Fed. Bahia*, 5:20-34, 1980.
- Viegas E.A., Yanaguita R.M., Viegas S.A.R.A., Silva L.A. & Vasconcellos S.A. Emprego de estirpes de *Leptospira biflexa* na prova de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose caprina e ovina. *Braz. J. Vet. Anim. Sci.*, 31:25-30, 1994.