

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos deslanados do Semiárido da
Paraíba**

Diego Figueiredo da Costa

2012



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MONOGRAFIA

**Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos deslanados do Semiárido da
Paraíba**

Diego Figueiredo da Costa
Graduando

Prof. Dr. Clebert José Alves
Orientador

Patos - PB
Dezembro de 2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**DIEGO FIGUEIREDO DA COSTA
Graduando**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADA EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

_____	Nota	_____
Prof. Dr. Clebert José Alves Orientador		
_____	Nota	_____
Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo Examinador I		
_____	Nota	_____
MSc. Severino Silvano dos Santos Higinio Examinador II		

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**DIEGO FIGUEIREDO DA COSTA
Graduando**

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM/...../.....

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Clebert José Alves

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo

MSc. Severino Silvano dos Santos Higino

DEDICATÓRIA

A Deus, em primeiro lugar, por sempre mostrar-me o caminho certo a percorrer.

Aos meus pais, Ivan Pereira e Diene, pelo amor incondicional que sentem por mim e seus incansáveis esforços no intuito de me oferecer uma vida que os mesmos não tiveram, sem eles não teria chegado até aqui.

A minha irmã Ianny pelo carinho que sente por mim e o incentivo que sempre me deu.

A minha noiva Emannelly, um dos motivos para que eu lutasse por um futuro melhor e pelo amor e companheirismo que temos.

AGRADECIMENTOS

A DEUS. Ao meu pai Ivan, a minha mãe Diene, a minha irmã Ianny e minha noiva Emannelly. Amo muito vocês!

Aos meus avós Antônio Pereira “*in memória*”, Severino (seu biu) “*in memória*”, Maurina “*in memória*”, e Francisca.

Ao meu padrinho Zuca e minha madrinha Francisca, essas são pessoas que admiro muito e de grande importância para mim. A todos os meus tios, obrigado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Clebert José Alves, pela oportunidade condicionada e a confiança em mim depositada durante todo o trabalho. Sendo, portando, de grande ajuda em minha formação.

Ao Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo, que foi meu co-orientador todo esse tempo, e que não deixou a desejar e foi de grande ajuda no resultado do trabalho.

Ao grande Silvano, um bom amigo que consegui durante a caminhada no laboratório e que com certeza levarei essa amizade comigo.

Ao Paulo Vinícius, um cara diferente e pessoa de Deus que tive o privilégio de morar e aprender muito, seja com ele me dando orientações, conselhos dos melhores e “pressionando” muito para que eu estudasse sempre mais.

A Jefferson Filgueira, outro grande amigo que sempre que precisei nunca falhou, e foi também quem me indicou e me deu a chance de trabalhar com pesquisa.

A todos os meus amigos que dividi casa aqui em Patos, Diego Barreto, Rodrigo (Stilo), Carlos Magno (Azevedo), Pedro Neto, Bênio, Rafael (Boqueirão), Ronald (Pooh), Francisberto e também Paulo Vinícius e Jefferson Filgueira,

Aos meus amigos de infância, Nieliton (nil), Junior Almeida (Juninho), Diego (motor), Pablo Lopes, Jorge Henrique, Anderson (paco), Lênio (baratinha), Railson, Paulo Dantas.

Aos meus amigos de sala que tanto aprendi ao longo dessa caminhada, Maira Porto, Piêtro, Andrezza, Tardelli (Macabro), José Eduardo (Cafajeste), Wallyson, Hugo Antônio, Liliane Marinho, Gustavo, Larissa Amaral, José Junior, João Paulo.

A todos os colegas de laboratório, Fabrine (o cara), Arthur, Luana, Karla, Sabrina, Dona Francinete, Areano.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Conceito	14
2.2 Agente etiológico.....	14
2.3 Aspectos epidemiológicos	15
2.4 Patogenia.....	16
2.5 Sinais Clínicos	16
2.6 Patologia	17
2.7 Diagnóstico	18
2.7.1 Diagnóstico Clínico	18
2.7.2 Diagnóstico Sorológico	19
2.7.3 Exame direto em microscopia de campo escuro	19
2.7.4 Inoculação em animais de laboratório	20
2.7.5 Reação de Polimerase em Cadeia (PCR).....	20
2.8 Tratamento	20
2.9 Controle e Profilaxia.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Descrição e Caracterização da Área de Estudo	22
3.2 Animais.....	22
3.3 Delineamento Amostral	22
3.4 Procedimentos de Campo	23
3.5 Análise dos Fatores de Risco	24
3.6 Procedimentos Laboratorias	24
3.6.1 Diagnóstico para a infecção por <i>Leptospira</i> spp.	24
3.6.2 Antígenos.....	25

3.6.3 Isolamento e identificação de <i>Leptospira</i> spp.	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5. CONCLUSÃO.....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Colheita de sangue pela punção da veia jugular	23
Figura 2 - Amostra negativa na Soroaglutinação Microscópica (SAM)	25
Figura 3 - Amostra positiva na Soroaglutinação Microscópica(SAM)	25
Figura 4 - Colheita de urina pela uretra com sonda (fêmea).....	27

LISTA DE QUADROS

Quadro 01 – Sorovares de Leptospiras empregados como antígenos na técnica de SAM aplicados a Leptospirose em ovinos no semiárido paraibano no período de Agosto de 2011 a Julho de 2012, Patos – PB.....	25
---	----

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01** – Amostras de urina selecionadas para o isolamento e positivas para o teste de Soroaglutinação Microscópica aplicada a leptospirose de ovinos com seus respectivos sorovares e títulos no Semiárido da Paraíba do período de 2011 a 2012..... 30
- Tabela 02** – Fatores de risco associados á infecção por *Leptospira* spp. para ovinos deslanados criados na região do Semiárido paraibano, estimados pelo teste Qui-quadrado..... 31
- Tabela 03** –Fatores de risco para *Leptospira* spp. em ovinos deslanados criados na região do Semiárido paraibano estimados por regressão logística múltipla... 33

RESUMO

COSTA, DIEGO FIGUEIREDO. Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos deslanados do Semiárido da Paraíba, Brasil. Patos, UFCG. 2012 42p. (Monografia – Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

A leptospirose é uma zoonose amplamente difundida no Brasil que acarreta elevados prejuízos econômicos para a pecuária nacional. O seu principal impacto é o comprometimento do desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos. O presente trabalho teve como objetivos, determinar a prevalência nas propriedades positivas (focos) para a leptospirose ovina no Semiárido da Paraíba; determinar a prevalência de ovinos deslanados soropositivos e o isolamento de *Leptospira* spp. a partir da urina dos animais sororeagentes. Foram pesquisadas aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos da mesorregião do Semiárido do estado da Paraíba, Brasil de agosto de 2011 a julho de 2012, de um total de 246 soros de ovinos provenientes de sete rebanhos situados em seis municípios, pela prova de Soroaglutinação Microscópica, utilizando-se 24 sorovares de *Leptospira* spp. como antígenos. Das 246 amostras testadas, 15(6,09%) animais foram reagentes para pelo menos um sorovar. Das sete propriedades, cinco (57,1%) tiveram animais reagentes. A caracterização dos sorovares mais prováveis levou em conta a titulação e a frequência. A distribuição dos sorovares mais prováveis foi: *Autumnalis* (40%), *Patoc* (26,66%), *Andamana* (20%), *Hardjo* (13,33%).

Palavras-chave: Leptospirose ovina, sorologia, isolamento.

ABSTRACT

COSTA, DIEGO FIGUEIREDO. Epidemiological characterization of leptospirosis in sheep without wool of the semiarid of paraíba. Brazil. Patos, UFCG. 2012 42p. (Monograph- Veterinary Medicine, Preventive Veterinary Medicine and Animal Health).

Leptospirosis is a illness prevalent spread in Brazil that cause to high economic lasses for nation livestock. Its main impact is the impairment of reproductive performance of herds affected. This work had as objective to determine the prevalence in the positive properties (focus) to sheep leptospirosis in semiarid of Paraíba; to determine the prevalence of seropositive in sheep without wool and the isolately of *Leptospira spp.* through of urine of seropositive animals. Were researched anti-lepitospira agglutinins in sheep from the mesoregion of semiarid of Paraíba, Brazil August of 2011 to July of 2012, in total 246 sero of sheep from seven herds in seven cities by the microscopic agglutination test, using 24 *Leptospira spp.*, serovars as antigens. From 246 samples tested, 15(6,09%) animals were positive for more sorovar. Of seven properties, five (57,1%) had positive animals. The Characterization of sorovars mast likely took into consideration the tiration and frequency. The mast likely distribution of serovars was: *Autumnalis* (40%), *Patoc* (26,66%), *Andamana* (20%), *Hardjo* (13,33%).

Keywords: leptospirosis in sheep; serology; isolately.

1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura brasileira destaca-se no cenário nacional por apresentar um grande potencial de crescimento, tendo-se observado, nos últimos anos, uma evolução significativa no rebanho nacional, contando hoje com um efetivo de ovinos que chega a mais de 16 milhões de cabeças (IBGE, 2009). Este crescimento pode ser explicado devido às inúmeras vantagens que a espécie ovina apresenta, como a necessidade de uma menor área de criação, menor consumo de alimentos, facilidade de manejo e uma grande diversidade de produção de carne e couro de boa qualidade, servindo como alternativa de renda. Contudo deficiências sanitárias envolvidas no processo evolutivo da ovinocultura brasileira necessitam de resolução, tais como os prejuízos provocados pelas perdas, associados à necessidade de reposição dos animais. Essa espécie além de representar um fator econômico significativo, também tem enorme importância no que diz respeito à agricultura familiar subsistente e cultural no Nordeste brasileiro.

Dentre as doenças com impacto na esfera reprodutiva, a leptospirose é uma enfermidade reconhecida como presente nos rebanhos, existindo poucas informações a respeito de sua situação na ovinocultura.

No presente trabalho objetivou-se determinar a prevalência nas propriedades positivas (focos) para a leptospirose ovina no semiárido da Paraíba; determinar a prevalência de ovinos deslanados soropositivos; tentar o isolamento da *Leptospira* spp. a partir da urina dos animais sororreagentes e analisar os fatores de riscos associado a essa enfermidade no rebanho ovino.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Conceito

É uma doença infectocontagiosa, de curso agudo ou crônico, que acomete animais domésticos, silvestres e inclusive o homem. É uma antropozoonose de ampla distribuição geográfica mundial e de ocorrência em áreas urbanas e rurais. É uma afecção transmissível entre os vertebrados, portanto assume considerável importância econômica e de saúde pública (ESCÓCIO et al., 2010).

2.2 Agente etiológico

A enfermidade é causada por bactérias do gênero *Leptospira* spp. Esse agente possui um grande número de variantes sorológicas, as quais não apresentam especificidade de hospedeiro (FAINE et al., 1999).

O agente etiológico da leptospirose pertence à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira*. Durante muito tempo, esse gênero foi dividido em duas espécies: *L. biflexa* e *L. interrogans*, ambas subdivididas em várias sorovariedades. As sorovariedades da *L. biflexa* são as de vida livre, consideradas saprófitas, enquanto as da *L. interrogans* são responsáveis pela infecção nos animais domésticos e no homem. Recentemente, na reunião do Subcomitê de Taxonomia da Leptospiraceae realizada no Equador, em 2007, *L. interrogans* foi reclassificada em 13 espécies patogênicas de *Leptospiras*: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. nogu-chi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffii*, distribuídas em mais de 260 sorovariedades agrupadas em 23 sorogrupos (ADLER & DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

As leptospirosas são bactérias espiraladas, muito finas (0,1 µm de diâmetro) e comprimento variando de 6 a 20 µm, tendo uma ou as duas extremidades em forma de gancho. São aeróbicas estritas, de multiplicação e crescimento lentos, com divisão celular em torno de sete a doze horas. Uma cultura em meio líquido leva cinco a sete dias para atingir crescimento para ser utilizada como antígeno. São bastante sensíveis à luz solar direta, aos desinfetantes comuns e aos antissépticos. O período de sobrevivência das leptospirosas patogênicas na água varia segundo a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição. Sua multiplicação é ótima em pH compreendido entre 7,2 a 7,4. Já foi

constatada, por meio de ensaios experimentais, a persistência de leptospiras viáveis em água por até 180 dias. No meio ambiente sobrevivem bem em terrenos úmidos, pântanos, córregos, lagos e estúbulos com excesso de umidade e de detritos. São muito sensíveis ao pH ácido e à dissecação (FAINE et al., 1999).

2.3 Aspectos epidemiológicos

Zoonose mundialmente distribuída, a leptospirose é particularmente prevalente nas Américas e considerada endêmica na América Latina e no Caribe, com impacto na economia agropecuária. A ocorrência de leptospirose está estreitamente vinculada aos fatores ambientais, que podem dar lugar a um foco de infecção, cuja amplitude está na dependência de condições favoráveis, das características do habitat e da presença de animais silvestres (ALVES et al., 1996; GENOVEZ et al., 2006). A sua incidência tem forte associação com períodos de alta pluviosidade (ALVES et al., 1996, VANASCO et al., 2008). Em condições favoráveis e na presença de hospedeiros adequados, as leptospiras podem persistir por semanas a meses no ambiente. O homem se comporta na maioria das vezes como hospedeiro acidental, pois raramente se constitui em transmissor da infecção (FAINE et al., 1999).

Teoricamente qualquer sorovar de *Leptospira* spp. pode infectar qualquer espécie animal, mas na prática um número limitado de sorovares é endêmico em uma região ou país em particular. Neste caso, a infecção será determinada pelas espécies animais de contato, pelo(s) sorovar(es) existente(s) naquela propriedade ou região, pelas condições ambientais e climáticas, e ainda dependerá do manejo e das oportunidades de infecção direta ou indireta (GENOVEZ et al., 2006). Uma forma de transmissão pode ser por meio do sêmen, o DNA leptospiral foi detectado no sêmen de seis carneiros com infecção subclínica e isso sugeriu fortemente que os machos podem transmitir a bactéria por este meio do sêmen. No entanto, os autores não descartaram a possibilidade de o DNA encontrado no sêmen ser devido a uma contaminação com urina presente na uretra (LILENBAUM et al., 2008).

Entre os fatores envolvidos com a ocorrência de leptospirose, nas criações de ovinos, a criação consorciada com bovinos tem sido justificada como fator principal, onde os ovinos adquirem a infecção pela urina e bebedouros coletivos, ocorrendo ainda

transmissões entre ovinos por contato direto ou contato com fluidos vaginais, placenta e contatos sexuais (FERNANDES, 2009).

A forma inaparente é a mais comum em ovinos, sendo a forma clínica está associada a alguns sorovares como *Pomona*, *Gipptiphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Serjoe* e *Hardjo* (ZAMORA et al., 1999). O sorovar mais comum em ovinos em todo o mundo é o *Hardjo*, portanto, o principal responsável por problemas reprodutivos em ovelhas e de morte de cordeiros (HERRMANN et al., 2004).

2.4 Patogenia

A bactéria ganha acesso ao hospedeiro pelas membranas mucosas ou pele lesada, após a penetração as leptospiras disseminam-se pela corrente sanguínea e inicia-se o processo de multiplicação no sangue e em diversos órgãos, como fígado e baço. Esta fase é chamada de leptospiremia, que tem uma duração de quatro a cinco dias, raramente superando sete dias. Com o progredir da infecção, ocorre a reação imunitária do hospedeiro, que antagoniza o agente invasor e faz com que o mesmo encontre refúgio em algumas áreas do organismo onde a imunidade humoral inexistente ou é verificada em níveis baixos. Tais locais são a câmara do globo ocular e a luz dos túbulos renais. A localização renal caracteriza a fase de leptospirúria, que tem início entre o sétimo e o décimo dia da evolução da doença. Nesta fase, ocorre a formação de complexos imunes e reação inflamatória, o que leva vários órgãos a uma vasculite generalizada, principalmente no fígado, rins, coração, pulmões e sistema reprodutivo (FAINE, et al., 1999).

A colonização renal ocorre na maioria dos animais infectados em virtude do agente se replicar e persistir nas células epiteliais dos túbulos renais onde os anticorpos ocorrem em baixos níveis. O comprometimento agudo da função renal pode resultar na diminuição da filtração glomerular causada pelo edema intersticial e diminuição da perfusão renal (ZAMORA et al., 1999).

2.5 Sinais Clínicos

A infecção nos ovinos pode se manifestar sob a forma aguda, crônica ou inaparente. Os quadros clínicos mais característicos da forma aguda são de septicemia, hemorragia e nefrite, seguida por icterícia, hemoglobinúria, mastite sanguinolenta, repetição de cio, abortamento nas ovelhas e anemia hemolítica nos cordeiros com morte na

primeira semana de vida. No entanto, a forma inaparente é muito mais frequente do que as outras e desperta pouca atenção dos pesquisadores devido à dificuldade no diagnóstico. Por outro lado, do ponto de vista epidemiológico, é uma forma muito importante, uma vez que a introdução de animais com infecção inaparente pode garantir a persistência do agente nos rebanhos acometidos (CICERONI et al., 2000).

2.6 Patologia

As lesões macroscópicas nos animais e no homem caracterizam-se pela presença de hemorragias petequiais e, menos comumente, equimóticas, espalhadas pelo corpo. Quando presente a icterícia, a necropsia revela uma intensa coloração amarela ouro, que atinge todo o organismo. Contrasta perfeitamente, a cor amarela espalhada pelo corpo com as inúmeras petéquias existentes (ENRIETTI, 2001).

O miocárdio aparentemente normal apresenta focos petequiais e hiperemia dos capilares. As petéquias estão situadas no tecido intersticial do miocárdio, principalmente, do lado endocárdico. Torna-se claro o estado de edema em que se encontram as fibras musculares onde estão presentes elementos provenientes do sangue (ENRIETTI, 2001).

Nos pulmões, as hemorragias são focais e sempre em torno dos vasos que atravessam o parênquima. O órgão apresenta áreas atelectásicas e sofre hepatização, pois é grande a quantidade de elementos do sangue que são encontrados nos alvéolos. As paredes dão origem à mobilização dos elementos, que pouco a pouco, invadem o parênquima pulmonar e se transformam em grandes macrófagos que contêm hemácias e pigmentos fagocitados (ENRIETTI, 2001; RIET-CORREA et al., 2001).

O aparelho digestivo também apresenta numerosos pontos de hemorragias no interior da cavidade gastroentérica. Encontra-se por esse motivo, líquido sanguinolento no estômago e nos intestinos, e a mucosa desses órgãos se apresenta de aspecto hemorrágico puntiforme ou mesmo, com grandes sufusões em toda a sua extensão. Os folículos linfóides do intestino apresentam mobilização dos elementos, pouco evidente com o aumento das placas de Peyer, conseqüente à reação histiolinfocitária que se processa. Microscopicamente, as lesões obedecem às mesmas causas que as lesões macroscópicas (ENRIETTI, 2001).

Nos rins há degeneração hialina e tumefação das células epiteliais dos túbulos, que apresentam vacúolos de diversos tamanhos ou citoplasma de aspecto granular. Cilindros

hialinos e granulares em menor número são observados em muitos túbulos. Ao lado do processo degenerativo, observa-se lesões hemorrágicas que se localizam nos próprios túbulos, como também na próprias alças glomerulares. No timo observam-se numerosas áreas focais hemorrágicas (RIET-CORREA et al., 2001).

Carvalho (2012) utilizou 42 amostras de rim, fígado e pulmão de ovinos no Maranhão. No exame histopatológico do pulmão foi observado infiltrado inflamatório e espessamento do septo alveolar. No fígado foi observado infiltrado inflamatório focal em intensidade maior nos animais infectados, hiperplasia das células de Kupffer e hiperplasia dos ductos biliares. No rim observou-se nefrite intersticial. Pela técnica de imunohistoquímica foi detectado antígeno de *Leptospira* spp. em todos os tecidos avaliados e leptospiras livres nos túbulos renais.

Carvalho et al. (2011) analisaram fragmentos de rins de 36 ovinos sororeagentes e 10 não reagentes como controle. Em 33 animais foi observado nefrite intersticial, já em oito animais foi possível detectar leptospiras no lúmen dos túbulos proximais dos rins. As lesões glomerulares foram discretas, mas a hiperplasia e a lobulação do tufo glomerular chamaram atenção. O processo inflamatório renal observado foi classificado como crônico pela presença de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e fibrose intersticial.

2.7 Diagnóstico

O diagnóstico da leptospirose deve-se basear nos achados clínicos, sorologia e na detecção e isolamento do agente. Também pode ser empregada a inoculação em animais de laboratório e recentemente, com o advento da biologia molecular, o DNA de *Leptospira* spp. pode ser detectado a partir de vários materiais (FAINE et al., 1999).

2.7.1 Diagnóstico Clínico

Nos ovinos, pode-se suspeitar de leptospirose em rebanhos que apresentam taxas elevadas de abortos e repetições de cio, que são os principais problemas acarretados pela doença nessa espécie. Todavia, quadros clínicos de septicemia, hemorragias, nefrite, seguido de icterícia, hemoglobinúria, mastite sanguinolenta também são sinais sugestivos da doença (CICCERONI et al., 2000).

O diagnóstico pela sintomatologia clínica não é preciso em virtude da similaridade dos sinais clínicos com outras doenças. Portanto, o diagnóstico definitivo deve ser estabelecido por testes indiretos e/ou diretos (MARTINS & CASTIÑEIRAS, 1998).

2.7.2 Diagnóstico Sorológico

A reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM) é o teste recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o diagnóstico da leptospirose. Os anticorpos formados no animal são dirigidos contra o sorovar específico, entretanto existem reações cruzadas de diferentes sorovares e assim o animal pode ser reagente a vários sorovares simultaneamente, dificultando a identificação do sorovar mais prevalente responsável pela infecção. O estabelecimento do diagnóstico pode ser feito por sorologia pareada, com uma amostra de soro obtida na fase aguda e outra na fase de convalescença. A soroconversão ou uma diferença de quatro diluições entre a primeira e a segunda amostra indica infecção aguda. Por exemplo, título 100 na fase aguda e 800 na fase de convalescença, para o mesmo sorovar. Na prática, por ser difícil à obtenção de amostras pareadas de soro, a sintomatologia e o título de 1:800 para o sorovar suspeito são altamente sugestivos de leptospirose (SANTA ROSA, 1970; HAGIWARA, 2003).

Na bateria de antígenos empregados no teste é incluído pelo menos um representante de cada grupo existente. Quando nem todos os sorogrupos estão presentes, a infecção por sorovares do grupo não representado na bateria de antígenos passa despercebida. Nos Estados Unidos e no Canadá, a maior parte dos laboratórios das universidades inclui apenas os sorovares *Bratislava*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Hardjo* e *Hippotyphosa* na bateria de antígenos da reação de Soroaglutinação Microscópica (SANTA ROSA, 1970; HAGIWARA, 2003).

2.7.3 Exame direto em microscopia de campo escuro

Durante a primeira semana de infecção até os dez dias (fase aguda), especialmente entre três e sete dias, as leptospirosas podem ser vistas por exame direto em microscopia de campo escuro utilizando-se sangue, exsudato peritonial, pleural ou urina. As vantagens da observação direta são a rapidez na obtenção de espécimes viáveis, o curto período (três a sete dias pós-infecção) em que provavelmente encontra-se um resultado positivo, e as

desvantagens são a interpretação subjetiva dos resultados, tendo em vista que coleções de fibrina e proteína em preparações a fresco podem ser confundidas com leptospiras (FAINE et al., 1999).

2.7.4 Inoculação em animais de laboratório

Leptospiras virulentas causam infecção em animais de laboratório, que podem ser usados para o isolamento primário a partir de materiais clínicos. O hamster (*Mesocricetus auratus*) é a espécie mais sensível à ação das leptospiras, morrendo em aproximadamente quatro dias após a inoculação (ENRIETTI, 2001). Dessa forma é a espécie de eleição para o isolamento de leptospiras (OLIVA et al., 1994). A inoculação por via intraperitoneal é a forma mais eficiente para o estabelecimento e evolução de infecções experimentais pelos variados sorovares de leptospiras nestes animais (MACEDO et al, 2004).

2.7.5 Reação de Polimerase em Cadeia (PCR)

A detecção do DNA de *Leptospiras* spp. pela PCR tem sido de grande utilidade e requer a seleção de *primers* específicos que permitam a amplificação de todas as espécies classificadas como patogênicas ou potencialmente patogênicas, incluindo *L. inadai* e *L. fainei*. As principais vantagens da PCR são: rapidez na obtenção dos resultados, sensibilidade e especificidade elevada, entretanto, a necessidade de equipamentos especiais, o alto custo dos reagentes e a inexistência de procedimentos automatizados e padronizados limitam o seu uso (BATISTA, 2004).

2.8 Tratamento

As leptospiras são susceptíveis à maioria dos antibióticos, sendo indicado a penicilina, doxiciclina e tetraciclina principalmente. Para a diminuição da replicação das leptospiras, limitação da leptospiremia e diminuição da eliminação do agente pela urina, são recomendadas duas fases de antibioticoterapia. A penicilina é o antibiótico de eleição para o tratamento da leptospiremia e deve ser administrada no início do curso da doença. Penicilina G procaína na dose de 40.000 a 80.000 UI/kg, intramuscular ou subcutânea, uma ou duas vezes ao dia, durante cinco a sete dias, é o esquema de tratamento mais comumente utilizado (WOHL, 1996).

A diidroestreptomicina é a droga de eleição para a eliminação do agente dos rins e supressão do estado de portador (GREENE & SHOTTS, 1990). Doxiciclina, na dose de 2,5 a 5 mg/kg, uma vez ao dia, durante duas semanas, também é indicada para a eliminação das leptospiros dos rins (WOHL, 1996).

2.9 Controle e Profilaxia

Medidas de controle objetivando limitar a ocorrência da doença clínica são baseadas em ações integradas em pontos críticos da cadeia de transmissão como o diagnóstico e tratamento das fontes de infecção, o combate de reservatórios sinantrópicos, a drenagem de áreas alagadiças, higiene nas instalações e equipamentos, a implantação de inseminação artificial e vacinação, em bovinos, garantindo um elevado nível de imunidade no rebanho (BADKE, 2001).

Nas propriedades, a doença é usualmente introduzida por animais infectados, através do ambiente ou pelo contato com outros animais infectados no pastejo. Evidentemente, outra medida de controle importante consiste em evitar a introdução de animais portadores da bactéria no rebanho, entretanto, em função de algumas características epidemiológicas da doença em caprinos e ovinos essa tarefa torna-se bastante difícil. As medidas gerais, como limpeza do ambiente, são medidas importantes para reduzir as chances de contaminação dos animais. Quando não se conhece a condição sorológica dos animais, estes devem ser mantidos em quarentena por quatro semanas e testados antes de serem introduzidos no rebanho. As vacinas contra a leptospirose estão disponíveis para bovinos bem como para outros animais domésticos (HAGIWARA, 2003).

Embora a vacinação diminua a gravidade da doença, as vacinas não previnem a infecção completamente porque a imunidade é sorovar-específica e estas protegem apenas contra sorovares incluídos nos imunógenos (OIE, 2006).

De forma geral o controle da leptospirose em caprinos e ovinos envolve a aplicação das seguintes medidas: identificação de fontes de infecção, controle de roedores, controle na aquisição de animais e imunização sistemática com vacinas inativadas que contenham sorovares de leptospiros regionais (FAINE et al., 1999). O uso combinado da SAM como teste de triagem e posterior exame da urina por PCR pode ser uma estratégia adequada para a identificação de animais portadores (CARDOSO et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição e Caracterização da Área de Estudo

O Estado da Paraíba é dividido geograficamente em quatro mesorregiões (Sertão Paraibano, Borborema, Agreste Paraibano e Mata Paraibana) e 23 microrregiões. A mesorregião do Sertão Paraibano têm como principal atividade a pecuária extensiva, assumindo destaque a criação de ovinos no sertão. O Brasil conta com um efetivo de ovinos que chega a mais de 16 milhões de cabeças, das quais 56,90% (9.566.968) estão na região Nordeste. Desse efetivo de ovinos nordestinos 4,54% (434.225) são encontrados na Paraíba distribuídos em aproximadamente 19.744 estabelecimentos (IBGE, 2009).

3.2 Animais

Foram utilizados 246 ovinos deslanados provenientes de propriedades localizadas na mesorregião do sertão do Estado da Paraíba, onde no primeiro momento da pesquisa foram sororeativos para pelo menos um sorovar com título igual ou maior que 1:200 na prova de SAM. Após análise foram selecionadas um total de sete propriedades focos de um total de 117 pesquisadas por ALCINDO (2010) na primeira etapa do projeto. Nesta segunda etapa foram testados 100% dos animais nas propriedades visitadas, visto que na primeira foi feito a coleta de apenas 10 animais por propriedade, amostragem esta calculado pelo programa Epilnfo, versão 6.04.

3.3 Delineamento Amostral

As propriedades (focos) foram escolhidas a partir de animais soropositivos para infecção por *leptospira* spp. na primeira fase do projeto, onde foi realizado em duas etapas: (1) uma seleção aleatória de um número pré-estabelecido de propriedades (unidades primárias); (2) dentro das unidades primárias foi amostrado, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de ovinos deslanados, onde serão as unidades secundárias (THRUSFIELD, 1995).

$$n = \frac{Z^2 \times P(1 - P)}{d^2}$$

Onde:

n= número de propriedades amostradas

Z= valor de distribuição normal para o nível de confiança de 95%

P= prevalência esperada

d= erro absoluto

O número de animais testados para um rebanho ser classificado como positivo ou negativo foi calculado com base no valor de sensibilidade e especificidade agregadas. Os valores de sensibilidade e especificidade em nível de rebanho dependem de: (a) sensibilidade e especificidade de teste, em nível individual; (b) número de animais testados e tamanho do rebanho; (c) prevalência esperada; e (d) ponto de corte, ou seja, número mínimo de animais para classificar o rebanho como foco. Dessa forma, o cálculo do número de unidades secundárias foi realizado com o programa Herdacc versão 3.0 de modo a ser obtido um valor de sensibilidade e especificidade agregadas de pelo menos 90% (JORDAN, 1996).

3.4 Procedimentos de Campo

Nas propriedades selecionadas as atividades incluíram a colheita de sangue, aplicação do questionário epidemiológico, colheita de urina nos animais soropositivos para isolamento de *Leptospira* spp. O material biológico foi enviado ao Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB.

As amostras de sangue foram colhidas de ovinos deslanados adultos, em volumes de 8 ml, pela punção da veia jugular com agulha descartável e tubo a vácuo (sem anticoagulante) com capacidade de 8,5 ml. Após o dessoramento, o soro foi transferido para micro tubos e congelado. O transporte das amostras para o laboratório foi feito em caixas de isopor com gelo.



Figura 1: Colheita de sangue pela punção da veia jugular

3.5 Análise dos Fatores de Risco

Para a análise de possíveis fatores de risco associados com a condição de propriedade positiva para a infecção por *Leptospira* spp. foram utilizados os dados colhidos nos questionários epidemiológicos (Anexo) no primeiro momento da pesquisa por Alcindo (2010). Uma propriedade foi considerada positiva quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. A análise de fatores de risco foi conduzida em duas etapas: análise univariada e análise multivariada. Na análise univariada, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente, e aquelas que apresentaram um valor de $p \leq 0,15$ pelo teste de Qui-quadrado (ZAR, 1999). Foram selecionadas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão logística múltipla (HOSMER & LEMESHOW, 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

3.6 Procedimentos Laboratoriais

3.6.1 Diagnóstico para a infecção por *Leptospira* spp.

Para o diagnóstico da infecção por *Leptospira* spp. foi utilizado o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Os antígenos foram mantidos em culturas em meio líquido de EMJH modificado (ALVES et al., 1996) suplementado com 15% de soro estéril de coelho e inativado a 56°C por 30 minutos, enriquecido com 1% de piruvato de sódio, 1% de cloreto de cálcio, 1% de cloreto de magnésio e 3% de L-asparagina e incubadas durante sete a dez dias em estufa bacteriológica a 28°C. Cada cultura foi examinada quanto à pureza e ausência de autoaglutinação em microscopia de campo escuro em aumento 100X. A densidade antigênica foi acertada para conter aproximadamente de 100 a 200 microrganismos por campo microscópico 100X (SANTA ROSA, 1970).

Cada amostra de soro foi diluída a 1:50 em solução salina tamponada de Sorøsen (pH 7,4); 50 µL do soro diluído foi colocado em micro placa de poliestireno de fundo chato com 96 poços, e acrescentados de 50 µL do antígeno, obtendo-se diluição inicial 1:100. Cada amostra sorológica foi colocada frente à bateria antigênica com 24 sorovares. As micro placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 °C por três horas. Soros reagentes na triagem foram novamente testados para a determinação do título final de aglutininas antileptospiras, efetuando-se diluições seriadas em escala geométrica de razão

dois em solução salina tamponada de Sorënsen (pH 7,4) e acrescidos de 50 μ L do antígeno detectado como positivo na triagem, daí seguiu-se o procedimento anterior. As leituras foram realizadas em microscópio óptico com condensador de campo escuro seco, com lente objetiva 10x/0,20 e ocular 10 (100X), observando-se a formação de aglutinações. Na triagem, os soros na diluição de 1:100 que revelaram 50% ou mais leptospiras aglutinadas foram titulados frente aos respectivos antígenos. O título final foi a recíproca da maior diluição (≥ 100) que apresentou pelo menos 50% de leptospiras aglutinadas (FAINE et al. 1999).

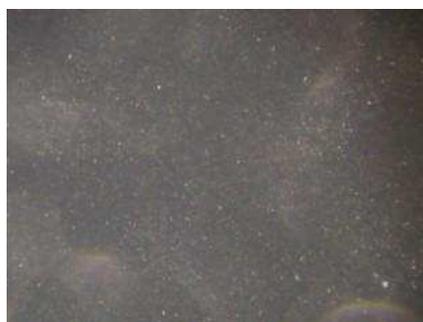


Figura 2. Amostra negativa na SAM.



Figura 3. Amostra positiva na SAM.

3.6.2 Antígenos

Utilizamos como antígenos 24 sorovares patogênicos (FAINE et al., 1999), demonstrados no quadro 1.

Quadro 1 – Sorovares de Leptospiras empregados como antígenos na técnica de SAM aplicados a Leptospirose em ovinos no Semiárido paraibano no período de Agosto de 2011 a Julho de 2012, Patos – PB.

Sorogrupo	Sorovar	Símbolo
Australis	Australis	1-A
Australis	Bratislava	1-B
Autummalis	Autummalis	2-A
Autummalis	Butembo	2-B
Ballum	Castellonis	3
Bataviae	Bataviae	4-A

Canicola	Canicola	5
Calledoni	Whitcombi	6
Cynopteri	Cynopteri	7
Grippotyphosa	Grippotyphosa	8
Hebdomalois	Hebdomalois	9
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	10-A
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	10-B
Javanica	Javanica	11
Panamá	Panamá	12
Pomona	Pomona	13-A
Pyrogenes	Pyrogenes	14
Serjoe	Hardjo	15-A
Sejroe	Wolffi	15-B
Shaermani	Shermani	16
Tarassovi	Tarassovi	17
Andamana	Andamana	18
Seramanga	Patoc	20
Djasiman	Sentot	ST

3.6.3 Isolamento e identificação de *Leptospira* spp.

Nos animais que apresentaram quaisquer títulos de anticorpos foi realizada à tentativa de isolamento de *Leptospira* spp. a partir da urina. Os animais soropositivos foram submetidos à colheita de urina com sonda e seringa estéreis, com acesso a bexiga pelo meato externo (Figura 4). Daí foi aproveitado 0,5ml de urina e colocado em 5 ml de meio de cultura EMJH líquido sem antibiótico, para posterior transporte ao Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB. Nas dependências do laboratório foi repicado 0,5 ml desta cultura para meio Fletcher, desta vez com antibiótico, e incubado por 24 horas. Após este período, foram realizadas novos repiques para Fletcher com antibiótico foi passado para Fletcher sem antibiótico, em sucessivas diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Essas amostras foram acondicionadas em estufas com temperatura de 28°C para posteriores leituras em microscópico óptico com condensador de

campo escuro uma vez por semana, num total de seis semanas, onde verificava-se a presença de microorganismos com morfologia semelhante à *Leptospira* spp.



Figura 4. Coleta de urina pela uretra com sonda (fêmea).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira fase do projeto Alcindo (2010), pesquisando 117 propriedades verificou 33 positivas com uma prevalência de 28,20%. Em relação aos animais, 69 (5,41%) dos 1275 pesquisados foram sororeativos para pelo menos um dos antígenos testados.

Das sete propriedades visitadas e situadas na mesorregião do sertão paraibano, quatro destas (57,1%) se mostraram sororeativas para algum dos antígenos testados. O total da amostragem foi de 246 animais, onde 15 foram positivos no teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) para pelo menos um sorovar, revelando uma prevalência de (6,09%). Os resultados obtidos foram inferiores, quanto ao número de reatores, aos encontrados por Herrmann (2004), que em estudo experimental na mesorregião do sudeste e sudoeste do Rio Grande do Sul, detectou que de 136 propriedades pesquisadas um total de 113 (83,09%) positivas, com pelo menos uma amostra de soro reagente para uma das 17 sorovarietades de *Leptospira* spp. utilizadas na bateria de antígeno. Os números também foram inferiores comparados a Higino (2012), que pesquisando 975 caprinos no cariri ocidental encontrou uma prevalência de (8,7%) de animais soropositivos. Os resultados foram superiores comparado a Azevedo et al. (2004), em pesquisa de aglutininas anti-leptospira em ovinos do estado do Rio Grande do Norte obteve quatro (3,5%) animais soropositivos de 115 pesquisados. Na tabela 1. podemos verificar quais os principais sorovares presentes e quantidade de animais reagentes nas propriedades selecionadas, comparadas a primeira e a segunda etapa do projeto.

Provavelmente a grande variação na prevalência da leptospirose observada nessas regiões deve-se ao fato destas possuírem características ambientais diferentes, como por exemplo, o alto índice de precipitações pluviométricas registrada no sul do país, assim como o tipo de manejo adotado pela maioria das propriedades, com a presença de áreas irrigadas, conferindo dessa forma um maior número de reatores comparado a outros trabalhos realizados na região semiárida do nordeste (HERRMANN, 2004; AZEVEDO et al. 2004). Portanto faz-se necessário um planejamento estratégico de controle levando em consideração a ocorrência de eventos de natureza reprodutiva associados às diferentes épocas do ano.

Quatro propriedades que tiveram animais sororeativos foram revisitadas, com o intuito de realizar-se uma colheita de urina. Desse modo, um total de nove animais

(fêmeas) foram coletadas (Tabela 2.) Essa urina já em meio de cultura foi observada e todas se mostraram sem indícios do crescimento de microorganismos semelhantes à leptospirose. Macroscopicamente nenhuma amostra demonstrou presença de anel de turvação. Microscopicamente foi observado crescimento de microorganismos tais como: bacilos, protozoários, hifas septadas de fungos, entre outros contaminantes.

Apesar de alguns títulos baixos na prova de Soroaglutinação Microscópica não quer dizer que os animais não possam estar infectados e ou a bactéria não possa ser isolada. Higino et al., (2010) trabalhando com ovinos conseguiram isolar a *Leptospira* spp. com animais negativos no teste SAM.

O sorovar mais frequente no presente trabalho com (40%) de frequência foi o *Autumnalis*, seguido por *Patoc* (26,66%), *Andamana* (20%), *Hardjo* (13,33%). O resultado assemelha-se com a primeira etapa do projeto, onde Alcindo (2010) também encontrou o sorovar *Autumnalis* com o mais prevalente, com (49,27%). Esses resultados condizem com o encontrado por Silva et al. (2006), que analisaram 450 amostras de soro caprino de 45 rebanhos da microrregião do Cariri Paraibano e obteve 44 soros reagentes para o sorovar *Autumnalis* (74,6%). Os resultados são superiores comparados a Higino (2012), que analisou soros de caprinos no cariri ocidental paraibano e encontrou como o mais frequente o sorovar *Autumnalis*, mas com uma prevalência um pouco menor (10,9%). Em pesquisa de prevalência em 230 animais, Santos et. al (2012) também encontraram como mais prevalente o sorovar *Autumnalis*, com 30,30%. Minas

Araújo Neto et al. (2010) realizaram levantamento soroepidemiológico em caprinos no Estado do Rio Grande do Norte, onde foram colhidas amostras de soro sanguíneo de 366 cabras em idade reprodutiva de 12 rebanhos, dos 366 caprinos investigados, 53 foram soropositivos para pelo menos um sorovar de *Leptospira* spp. na SAM, resultando em soroprevalência 14,5% (IC 95% = 11,0% – 18,5%). O sorovar mais frequente foi o *Autumnalis* (73,6%), seguido por *Australis* (11,3%), *Icterohaemorrhagiae* (7,5%), *Hardjo* (3,8%) e *Canicola* (3,8%).

Herrmann et al., (2004) revela que o sorovar mais comum em ovinos em todo o mundo é o *Hardjo*, mas estudos recentes em nossa região revelam um crescente aumento do sorovar *Autumnalis*.

Esses estudos, bem como os resultados do presente trabalho, levantam a hipótese dos ovinos como fontes de infecção do sorovar *Autumnalis* na região e reforçam o risco de transmissão para os seres humanos e para outras espécies. Além da ocorrência desse

sorovar causar bastante preocupação, visto que não existe imunidade cruzada entre os diferentes sorovares e no mercado as vacinas são compostas basicamente pelos sorovares *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Hardjo*, *Tarassovi*, *Andamana*, *Wolffii* e *Bataviae*, o que alerta para a importância da produção de novas vacinas contra a leptospirose e a necessidade de inclusão de novos sorovares, visando à elaboração de vacinas mais efetivas e de imunidade mais duradoura.

A maioria dos ovinos retores não apresentava sinais clínicos da doença o que mostra a grande importância desse fato no que se diz respeito ao ponto de vista epidemiológico, pois os animais assintomáticos eliminam constantemente o agente, garantindo a sua persistência no meio ambiente (FAINE et al., 1999).

Tabela 01 – Amostras de urina selecionadas para o isolamento e positivas para o teste de Soroaglutinação Microscópica aplicada à leptospirose de ovinos com seus respectivos sorovares e títulos no Semiárido da Paraíba do período de 2011 a 2012.

Identificação das amostras	Isolamento	Soroaglutinação microscópica	Sorovar	Título de anticorpos
65	-	+	<i>Patoc</i>	1:100
15	-	+	<i>Autumnalis</i>	1:200
71	-	+	<i>Patoc</i>	1:800
25	-	+	<i>Hardjo</i>	1:100
14	-	+	<i>Hardjo</i>	1:200
69	-	+	<i>Patoc</i>	1:1600
44	-	+	<i>Andamana</i>	1:200
34	-	+	<i>Autumnalis</i>	1:100
07	-	+	<i>Autumnalis</i>	1:400

(-) Negativo; (+) Positivo

No tocante à análise de fatores de risco, as variáveis mais associadas ($p \leq 0,15$) à ocorrência de focos na análise univariada (Tabela 3.) foram: tipo de criação ($p = 0,015$), finalidade da criação ($p = 0,046$), tamanho do rebanho ($p = 0,007$) e participação em exposições ($p = 0,007$). Na análise multivariada (Tabela 4.), as variáveis apontadas como fatores de risco foram tamanho do rebanho > 48 animais (*odds ratio* = 2,26; IC 95% = 1,33

– 5,07; $p = 0,021$) e participação em exposições (*odds ratio* = 9,05; IC 95% = 0,96 – 85,71; $p = 0,055$).

Tabela 02 - Fatores de risco associados á infecção por *Leptospira* spp. para ovinos deslanados criados na região do Semiárido paraibano, estimados pelo teste de Qui-quadrado.

Variável	Nº total de propriedades	Propriedades positivas (%)	OR ^a	IC 95%	P
Tipo de criação					
Intensiva	6	5 (83,3)	11,61	1,22 –	0,015§
Extensiva/semi-intensiva	93	28 (30,1)	1	275,07	
Finalidade da criação					
Cria	28	6 (21,4)	1		
Recria/engorda	45	16 (35,6)	2,02	0,61 –	0,309
Reprodução	9	2 (22,2)	1,05	6,96	1,000
Subsistência	15	8 (53,3)	4,19	0,11 –	0,046§
				8,22	
				0,9 –	
				20,71	
Tipo de exploração					
Corte	80	25 (31,3)	1		
Leite	3	1 (33,3)	1,10	0,02 –	1,000
Outros	16	7 (43,8)	1,71	22,03	0,498
				0,5 – 5,79	
Criação tecnificada					
Não	82	25 (30,5)	1		
Sim	16	7 (43,8)	1,77	0,52 –	0,457
				5,99	
Principal atividade da propriedade					
Não	76	25 (32,9)	1		
Sim	23	8 (34,8)	1,09	0,36 –	0,933
				3,21	
Tamanho do rebanho					
Até 19	29	6 (20,7)	1		
20 – 48	48	13 (27,1)	1,42	0,42 –	0,720
> 48	23	14 (60,9)	5,96	4,95	0,007§
				1,5 –	
				24,97	
Contato com outros animais					
Não	39	14 (35,9)	1,24	0,48 –	0,780
Sim	58	18 (31,0)	1	3,20	
Pastagem nativa					

Não	2	1 (50,0)	2,06	0,03 –	1
Sim	98	32 (32,7)	1	164,31	
Suplementação					
Não	50	18 (36,0)	1,05	0,41 –	0,916
Sim	43	15 (34,9)	1	2,69	
Aquisição frequente de animais					
Não	36	11 (30,6)	1		
Sim	61	22 (36,1)	1,28	0,49 – 3,4	0,740
Participação em exposições					
Não	80	25 (31,3)	1		
Sim	7	6 (85,7)	13,20	1,43 – 306,82	0,007§
Vacinações					
Não	72	23 (31,9)	1		
Sim	26	10 (38,5)	1,33	0,47 – 3,73	0,718
Vermifugações					
Não	12	2 (16,7)	1		
Sim	88	31 (35,2)	2,72	0,51 – 19,25	0,327
Presença de abortos					
Não	59	21 (35,6)	1,21	0,45 –	0,851
Sim	35	11 (31,4)	1	3,23	
Nascimento de crias mortas					
Não	65	23 (35,4)	1,3	0,45 –	0,772
Sim	27	8 (29,6)	1	3,84	
Morte dos cordeiros nas primeira 24hrs.					
Não	65	21 (32,3)	1		
Sim	24	10 (41,7)	1,5	0,51 – 4,36	0,567
Morte após desmame					
Não	74	24 (32,4)	1		
Sim	15	5 (33,3)	1,04	0,27 – 3,84	1,000
Comportamento homossexual					
Não	42	14 (33,3)	1		
Sim	48	19 (39,6)	1,31	0,51 – 3,4	0,693
Presença de plantas toxica					
Não	34	14 (41,2)	1,67	0,64 –	0,354
Sim	61	18 (29,5)	1	4,41	

§ Variáveis usadas na regressão logística múltipla

Tabela 03.- Fatores de risco para *Leptospira* spp. em ovinos deslançados criados na região do semiárido paraibano estimados por regressão logística múltipla.

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Tamanho do rebanho > 48 animais	2,26	1,33 – 5,07	0,021
Participação em exposições	9,05	0,96 – 85,71	0,055

O tamanho do rebanho > 48 animais e participação em exposições, apontados como fatores de risco, refletem as condições de aglomerações de animais, que são sabidamente favoráveis à disseminação de doenças para os susceptíveis dentro das populações, sendo as chances cada vez maiores à medida que o número de animais e o tempo de exposição aumentam nestas populações (THRUSFIELD, 1995). Faine (1982) afirma que dentro desta condição a sanidade do rebanho é um fator crítico para a infecção por *Leptospira* spp., onde animais presentes nessas aglomerações são mais expostos ao contato com fômites, urina de animais portadores assintomáticos, secreções vaginais e abortos de animais acometidos. Embora apresentando valor de “p” no limite da significância estatística ($p = 0,055$), achamos conveniente considerar a variável participação em exposições como fator de risco, tendo em vista a plausibilidade biológica, pois sabemos que animais que saem da propriedade correm o risco de trazerem consigo diversos agentes de várias doenças, e não é diferente quando se trata de leptospirose.

Outras variáveis, embora não tenham sido apontadas como fatores de risco na análise multivariada, merecem destaque. A finalidade de criação de subsistência reflete as condições mais rudimentares de tais propriedades, bem como a ausência de assistência veterinária frequente, onde os proprietários geralmente só consideraram a visita de um veterinário na propriedade quando se observa grandes perdas na criação. Lilembaum et al. (2008) observaram que rebanhos caprinos que não tinham assistência veterinária apresentaram maior chance de serem focos de leptospirose comparados com aqueles que contavam com tal assistência.

No tocante a outros fatores como problemas reprodutivos (perda de cordeiros nas primeiras 24 horas, nascimento de crias mortas e presença plantas tóxicas), não foi observada associação com a ocorrência da doença ($p > 0,05$), o que difere de outros autores

como Lilembaum (2008), que realizou um inquérito soroepidemiológico em 13 criações de caprinos leiteiros no Rio de Janeiro. A baixa fertilidade não foi um critério de inclusão das propriedades, mas todas apresentavam certo grau de problemas reprodutivos, dentre os quais os mais acentuados foram repetição de cio, baixa taxa de concepção, nascimentos prematuros e abortos esporádicos. Na referida pesquisa obteve-se uma prevalência de 20,9% (52/248).

Em relação a outros trabalhos sobre fatores de risco, Silva et al. (2012) realizaram um estudo com 182 ovinos no Estado de São Paulo, e observaram que animais da raça Santa Inês apresentaram maior prevalência em comparação a outras raças. Já Rizzo et al. (2011), investigaram 294 amostras de soro ovino com histórico de distúrbios reprodutivos de 28 criatórios no Estado de São Paulo, obtiveram associação estatística entre presença de felídeos e soropositividade para leptospirose (OR = 2,15; IC 95% = 1,14 - 4,06). Higino et al. (2012) em inquérito soroepidemiológico em 975 caprinos leiteiros de 110 propriedades do semiárido paraibano observaram associação entre presença de roedores e aumento da prevalência de propriedades com pelo menos um caprino soropositivo para leptospirose (OR = 2,78; P = 0,015). Também foi verificada associação entre histórico de infertilidade e prevalência de leptospirose (OR = 14,74; P = 0,015), com rebanhos nos quais houve relato de infertilidade apresentando prevalência de 77,8%, e os rebanhos sem histórico de infertilidade apresentaram prevalência de 40,6%.

5. CONCLUSÃO

A prevalência de ovinos sororeativos foi de 6,09%, portanto tendo em vista os novos trabalhos revisados estima-se que seja em torno desse valor a prevalência em áreas Semiáridas do Nordeste.

O sorovar mais prevalente foi a sorovariedade *Autumnalis*, despontando em várias pesquisas como o mais prevalente. A presença do sorovar *Autumnalis* causa bastante preocupação, pois pouco se sabe sobre esse agente e qual a sua verdadeira dinâmica e patogenicidade nos animais. E com base nos novos trabalhos publicados, juntamente com a falta de relatos de ovinos que desenvolve a forma clínica, sugere-se que esses podem atuar como de fonte de infecção para outras espécies. Com isso torna-se mais do que importante o isolamento desse sorovar, pois a partir daí poderemos tipificar a bactéria presente em nossa região e realizar estudos sobre quais os verdadeiros prejuízos que esse agente causa nos rebanhos, descobrindo assim se há necessidade de vacinas homólogas, seja na inclusão desse sorovar na vacina de bovinos ou na própria elaboração de uma vacina para pequenos ruminantes.

Em relação aos fatores de risco, foram apontados como agravantes para aparição da leptospirose rebanhos com mais de 48 animais e participação em exposições, portanto, há uma necessidade de estabelecer programas de controle baseados nos meios de transmissão já conhecidos, evitando a superlotação de animais e que esses possam carrear agentes para dentro da propriedade, respeitando tanto a taxa de densidade demográfica quanto o período de quarentena quando há o retorno dos animais a propriedade, além da limpeza e desinfecção das instalações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 149, n 3-4, p. 287-296.2010. Disponível em:

<http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6TD6-4VTVPY8-D-7&_cdi=5190&_user=10&_pii=S0378113509001163&_orig=search&_coverDate=01%2F27%2F2010&_sk=998599996&view=c&wchp=dGLzVzb-zSkzV&md5=a17d37a73be289f6c761e3ae584d611f&ie=/sdarticle.pdf> Acesso em: 23 abr. 2012

ALCINDO, J. F. **Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba**. Estado da Paraíba, Brasil. 2010. 36f. Monografia (para obtenção de grau em Médico Veterinário) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB.

ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; CAMARGO, C. R. A.; MORAIS, Z .M. Influência dos fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 63, n. 2, p. 11-8, 1996.

ARAÚJO NETO, J. O.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; SILVA, M. L. C. R.; BATISTA, C. S. A. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v.47, n.2, 2010.

AZEVEDO, S.S. et al.. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v.11, n.3, p.167-170, 2004. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V71_3/azevedo>. Acesso em: 10 janeiro de 2010.

BADKE, M. R. T. Leptospirose. In: Encontros Técnicos Abraves; Concórdia: ABRAVES; p. 1-4, 2001.

BATISTA, C.S. A. **Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães da cidade de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil**. 2004. 49f. Monografia (para obtenção do grau de Médico Veterinário) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB.

BRASIL, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. Censo Agropecuário 2008-2009.Sistema IBGE de recuperação automática SIDRA.

Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1&u2=1> Acesso em 28 de setembro de 2011.

CARDOSO, M.V.; LARA, M. C. C. S. H.; CHIEBAO, D.; GABRIEL, F. H. L.; VILLALOBOS, E. M. C.; PAULIN, L. M. Determinação da condição sanitária de rebanho caprinos e ovinos na região sudoeste do Estado de São Paulo, Brasil. 35º CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA; 2008. Gramado, RS. Gramado: CONBRAVET; 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0611-2.pdf>. Acessado em: 30 de outubro de 2012.

CARVALHO, S. M. Avaliação das alterações em rim, fígado e pulmões de ovinos infectados por leptospirosas. 74 f. Tese (Doutorado no Programa de pós-graduação em Ciência Animal), Universidade Federal do Piauí, Terezina, 2012.

CARVALHO, S. M.; GONÇALVES, L. M. F.; MACEDO, N. A.; GOTO, H.; SILVA, S. M. M. S.; MINEIRO, A. L. B. B.; KANASHIRO, E. H. Y.; COSTA, F. A. L. Infecção por leptospirosas em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. *Pesq. Vet. Bras.* v.31, n.8, p.637-642, 2011.

CICERONI, L.; LOMBARDO, D.; PINTO, A.; CIARROCCHI, S.; SIMEONI, J. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. *Journal of Veterinary Medicine. Series B*, v.47, n.5, p.217-223, 2000.

ENRIETTI, M. A. Contribuição ao Conhecimento da Incidência de Leptospirosas em Murédeos, Caninos e Suínos no Paraná. *Braz. arch. biol. Technol.*, p.311-342, 2001.

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. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo*, 77(3):371-379. 2010.

FAINE, S. Guidelines for the control of leptospirosis. World Health Organization, Geneva. 171p. 1982.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira and leptospirosis*. 2 ed. Melbourne: MediSci, 272p., 1999.

FAINE, S. Guidelines for the control of leptospirosis. World Health Organization, Geneva. 171p. 1982.

FERNANDES C.E. Papel do ovino na cadeia epidemiológica da leptospirose pela *Leptospira* spp. sorovar Hardjo: fatores de risco que envolvem a infecção e transmissão entre ovinos e bovinos. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal, Segurança Alimentar e o Ambiente, Instituto Biológico de São Paulo, SP. 101p. 2009.

GENOVEZ, M. E.; DEL FAVA, C.; CASTRO, V.; GREGORY, L.; FERRARI, C. I. L.; LANÇA NETO, P.; SOUZA, M. R.; GOTTI, T. B.; OLIVEIRA, J. C. F.; PITUCO, E. M. **Effect of *Leptospira* spp serovar Hardjo infection on reproduction of two beef Nelore herds with different serological status.** In: XXIV World Buiatrics Congress, Nice – France, October 15-19, 2006.

GREENE, C.E.; SHOTTS, E.B. Leptospirosis. In: GREENE, C.E. (Ed.) **Infectious diseases of the dog and cat.** Philadelphia: W.B. Saunders, p.498-507. 1990.

HAGIWARA, M. K. Leptospirose canina. São Paulo: Pfizer Saúde Animal (Boletim Técnico). 6p. 2003.

HARTMAN, E.G.; VAN HOUTEN, M.; VAN DER DONK, J. A. Determination of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in sera of experimentally infected dogs by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.7, p.43-51, 1984.

HERRMANN, G.P.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Cienc. Rural**, vol.34, no.2, p.443-448, 2004.

HIGINO, S. S.S. et al. **Prevalência de leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido paraibano.** *Pesq. Vet. Bras.* p.: 199-203, 2012.

HIGINO S.S.S., AZEVEDO S.S., ALVES C.J., FIGUEIREDO S.M., SILVA M.L.C.R. & BATISTA C.S.A. Frequência De Leptospirose em Ovinos Abatidos no Município De Patos, Paraíba. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, p. 525-527, 2010.

HOSMER, D.W. & LEMESHOW S. **Applied logistic regression.** John Wiley and Sons, New York. 375p. 2000.

JORDAN, D. Aggregate testing for the evaluation of Johne's disease herd status. **Australian Veterinary Journal**, v. 73, n. 1, p. 16-19, 1996.

LILENBAUM, W. et al. Detection of *Leptospira* spp in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. **Theriogenology**, v.69, n.7, p.837-842, 2008. Disponível em: <[http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6TCM-4S027YN-1-1&_cdi=5174&_user=687355&_orig=browse&_coverDate=04%2F15%2F2008&_sk=999 309992&view=c&wchp=dGLbVzbzSkWb&md5=80433a43c80c9a06f751ed1a411715b7&ie=/sdarticle.pdf](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6TCM-4S027YN-1-1&_cdi=5174&_user=687355&_orig=browse&_coverDate=04%2F15%2F2008&_sk=999%20309992&view=c&wchp=dGLbVzbzSkWb&md5=80433a43c80c9a06f751ed1a411715b7&ie=/sdarticle.pdf)>. Acesso em 10 jan. 2009.

MACEDO, N. A.; MORAIS, Z. M.; CAMARGO, C. R. A.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S.S.NÜRMBERGER JÚNIOR, R.; VASCONCELLOS, S. A. Influência da via de inoculação sobre o estabelecimento e evolução da leptospirose em hamsters (*Mesocricetus auratus*) experimentalmente infectados com *Leptospira interrogans* sorovar Pomona. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, n.2, 2004.

MARTINS, F.S.V.; CASTIÑEIRAS, T.M.P.P. III. Leptospirose. In: SCHECHETER, M.; MARANGONI, D.V. (Eds.). **Doenças infecciosas: conduta diagnóstica e terapêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.145-152. 1998.

OIE – World Organization for Animal Health . Leptospirosis. Paris: OIE; 2006. Disponível em: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00043.htm.. Acessado em 31 de outubro de 2012.

OLIVA, R.; INFANTE, J. F.; GONZALEZ, M.; PEREZ, V.; SIFONTES, S.; MARRERO, O.; VALDES, Y.; FARIÑAS, M.; ESTEVEZ, L.; GONZALEZ, I. Pathologic-clinical characterization of Leptospirosis in a Golden Syrian Hamster Model. *Archives of Medical Research*, v.25, n.2, p.165-170, 1994.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 426p. 2001.

RIZZO, H.; GREGORY, L.; BERARDI, F.; CASTRO, V.; MORAES, Z. M.; VASCONCELLOS, S. A. Análise de fator de risco e avaliação clínica de ovinos com histórico de distúrbios reprodutivos infectados por leptospirosas pertencentes à criatórios do estado de São Paulo. *Vet. e Zootec.* v.18, n.4 , 2011.

SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. **Revista de Microbiologia**, v.1, p.97-109, 1970.

SANTOS, P. J.; LIMA-RIBEIRO, A. M. C.; OLIVEIRA, P. R.; SANTOS, M. P.; UNIOR, A. F.; MEDEIROS, A. A. TAVARES, T. C. F. Seroprevalence and risk factors for

Leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Trop Anim Health Prod.* v.44,p.101–106, 2012.

SILVA, R. C.; COSTA, V. M.; SHIMABUKURO, F. H.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; MENOZZI, B. D.; LANGONI, H. Frequency of *Leptospira* spp. in sheep from Brazilian slaughterhouses and its association with epidemiological variables. **Pesq. Vet. Bras.** v.32, n.3, p.194-198, 2012.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 2 ed. Cambridge: Blackwell Science, 479 p. 1995.

VANASCO, N. B.; Schmeling M. F.; Lottersberger J.; Costa F.; Ko A. I. & Tarabla H. D.. Clinical characteristics and risk factors of human leptospirosis in Argentina (1999–2005), **Acta Tropica**, 107:255–258. 2008.

WOHL, J.S. **Canine leptospirosis**. Compendium of Continuing Education Practicing Veterinarian, v.18, n.11, p.1215-1224, 1996.

ZAMORA J; RIEDEMANN S; TADICH N.A. A serological survey of leptospirosis in sheep in Chile. **Rev Latinoam Microbiol.** V.41, n.2, p.73-76, 1999.

ZAR J.H. **Biostatistical Analysis**. 4th ed. Prentice Hall, Upper Saddle River. 663p. 1999.

ANEXOS

1. Questionário Epidemiológico

Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural / Campus de Patos
Departamento de Medicina Veterinária
Projeto de pesquisa PIBIC

Questionário de diagnóstico de situação

Nome do Proprietário:
Nome da Propriedade:
Área/Região:
Município:
Telefone:

Tipo de Exploração: Intensivo () / Extensivo () / semi-estabulado ()
 Finalidade da Criação: Cria () / Recria Engorda () / Reprodução () / Subsistência ().
 Tipo de Exploração: Corte () / Leite () / Outros: _____
 Criação do Tipo Tecnificada: Sim () / Não ().
 É a Principal Atividade da Propriedade: Sim () / Não () Citar Qual: _____

Espécie	Fx. Etária	População/Animais	
		Machos	Fêmeas
Ovinos	0 - 6 Ms.		
	7 - 12 Ms		
	12 - 24 Ms		
	24 - 36 Ms		
	36 Ms		
	Total		

Contato com outros animais: Sim () / Não (), Quais: _____

Alimentação: pastagem nativa: Sim () / Não ()
 Suplementação: Sim () / Não ()

Comercialização dos animais:

Aquisição de animais (compra e venda) é freqüente: sim () / Não ()

Local de comercialização: _____

Participa de feiras e/ou exposições: Sim () / Não ()

Práticas vacinais: Sim () / Não ()

Citar as doenças para as quais vacina: _____

Vermífuga os animais: Sim () / Não ()

Qual a frequência:

Em relação aos problemas reprodutivos

Número de nascimentos no último ano: _____

Presença de abortos: Sim () / Não () N° de abortos _____

Se sim / início da gestação () ou fim da gestação ()

Nascimento de crias mortas: Sim () / Não () n° _____

Morte de cordeiros nas primeiras 24 horas: Sim () / Não () n° _____

Morte ao desmame: Sim () / Não () n° _____

Quando os carneiros são mantidos juntos na mesma baía observa comportamento homossexual:

Sim () Não ()

Presença de plantas tóxicas na propriedade: Sim () / Não ()

Listar: _____