

VANESSA CASTRO

**ESTUDO DA SOROPREVALÊNCIA DA LEPTOSPIROSE BOVINA EM FÊMEAS
EM IDADE REPRODUTIVA NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL**

SÃO PAULO
2006

VANESSA CASTRO

**ESTUDO DA SOROPREVALÊNCIA DA LEPTOSPIROSE BOVINA EM FÊMEAS
EM IDADE REPRODUTIVA NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof^ª. Dra. Margareth Elide Genovez

São Paulo
2006

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

EF
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
27/10/06

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1765
FMVZ

Castro, Vanessa

Estudo da soroprevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil / Vanessa Castro. – São Paulo: V. Castro, 2006.
104 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2006.

Programa de Pós-graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Profa. Dra. Margareth Elide Genovez

1. Leptospirose. 2. Bovinos (fêmeas). 3. São Paulo (SP). 4. Fatores de risco. I. Título.

ERRATA

Na página 48, onde se lê:


“3.2.1 Reação de Soroaglutinação Microscópica-SAM

A técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos (FAINE et al., 1999), prova de referência pela Organização Mundial da Saúde-OMS para o diagnóstico da leptospirose, foi empregada para mensuração dos níveis de aglutininas para todas as amostras de soros e realizada no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo, durante os anos de 2003 e 2005.”

lê – se:

“3.2.1 Reação de Soroaglutinação Microscópica-SAM

A técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos (FAINE et al., 1999), prova de referência pela Organização Mundial da Saúde-OMS para o diagnóstico da leptospirose, foi empregada para mensuração dos níveis de aglutininas para todas as amostras de soros e realizada no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo e no Laboratório de Zoonoses do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), durante os anos de 2003 e 2005.”



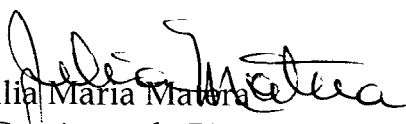
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo do soroprevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil", Protocolo nº503/2004, no qual serão colhidas amostras sorológicas, sob a responsabilidade da Prof^a Dr^a Margareth Elide Genovez, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendun".

(We certify that the Research "Seroprevalence study of leptospirosis in female bovine in reproductive age from São Paulo State, Brazil" protocol number 503/2004, will be utilized sample of bovines, under the responsibility of Prof^a Dr^a Margareth Elide Genovez, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendun", meeting.

São Paulo, 30 de julho de 2004


Prof^a Dr^a Júlia Maria Matos
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome : CASTRO, Vanessa

Título: Estudo da soroprevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às minhas vidas de sempre e hoje: papai, mamãe, Paola e às minhas vidas de hoje e sempre: Matheus e Márcio...

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

- À Dra. Margareth Elide Genovez, minha orientadora “de vida”, por sua paciência, por seu auxílio e por me ensinar a gostar tanto dessa nova carreira e das “nossas leptospiros”.
- Ao Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos por seu apoio, incentivo e compreensão.
- Ao Dr. Sérgio Santos de Azevedo pelo apoio estatístico, imprescindível para a realização deste estudo.
- Às Pesquisadoras do Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico, Dra. Eliana Scarcelli Pinheiro, Dra. Lília Márcia Paulin, Dra. Maristela Vasconcelos Cardoso e Dra. Rosa Maria Piatti, pelos momentos de apoio e compreensão
- Às meninas do LDBR: Solange, Fabíola pelos momentos de descontração necessários.
- À Dra. Lília M. Paulin, Wanessinha e Carol pela compreensão e amizade dentro e fora do Laboratório.
- À minha “comadre-amiga”, Tati, pela força braçal e psicológica por todos estes anos.
- À minha amiga Simone (JB) pela força e paciência na hora dos nossos estudos, desde o início até o fim.
- Às minhas “fiéis escudeiras” e amigas Carol (Chica) e Jéssica
- À Antera e Maria pela ajuda com os materiais e pelo carinho.
- Ao pessoal do Laboratório de Zoonoses do VPS, principalmente à Zenaide que ajudou na realização da enorme sorologia envolvida neste trabalho.
- À minha avó, meus tios, tias e primas pelo carinho.
- À minha irmã, Paola, “Comadre Vai e Volta” pelas dicas e pelo amor de sempre!
- Aos meus pais, por TUDO. Ontem, hoje e sempre!
- Ao meu Márcio pelo ombro nos momentos de desespero e nervosismo.
- Ao meu “Pequeno” por ser o maior motivo de alegria da minha vida.

RESUMO

RESUMO

CASTRO, V. **Estudo da soroprevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil.** [Seroprevalence of bovine leptospirosis among adult cows of reproductive age in State of São Paulo, Brazil]. 2006. 104 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

O presente estudo teve como objetivo identificar a soroprevalência da leptospirose bovina no Estado de São Paulo, estratificado em sete regiões produtoras. Foram utilizados o delineamento estatístico, as amostras sorológicas e as informações contidas nos questionários empregados no Programa Nacional de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) instituído pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2001), levando-se em consideração a utilização de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, excluindo-se os machos, os diferentes tipos de produção, as práticas de manejo, as finalidades de reprodução, o tamanho dos rebanhos e o sistema de comercialização. Realizou-se a Soroaglutinação Microscópica (SAM) em 8.216 amostras sorológicas provenientes de 1021 propriedades. Os resultados da SAM foram confrontados com os possíveis fatores de risco e ocorrência de abortamentos. A infecção por *Leptospira* spp. está presente em todo o Estado de São Paulo, com soroprevalência de 49,4%, distribuída pelas sete regiões em que o estado foi sub-dividido, a prevalência por propriedade foi de 71,3% , a prevalência dos sorovares estabelecida por animal foi Hardjo (46%), associação dos sorovares Hardo e Wolffi (21%) , sorovares Shermani (8,9%), Autumnalis (4,46%) e Grippytyphosa (3,9%), a prevalência dos sorovares estabelecida por propriedade foi Hardjo (55,18%), associação dos sorovares Hardo e Wolffi (20,18%), sorovares Shermani (7,97%), Grippytyphosa (4,41%) e Autumnalis

(3,17%). Denota-se que a distribuição da *Leptospira* sorovar Hardjo é praticamente homogênea em todas as regiões do estado de São Paulo e independente do tipo de exploração, manejo e das práticas de reprodução adotadas nos rebanhos. O tamanho do rebanho, a compra de animais, o compartilhamento de pastagem, a criação de ovinos e suínos e o uso de inseminação artificial foram apontados como fatores de risco em algumas regiões do estado, entretanto os fatores - tamanho de rebanho e uso de inseminação artificial- foram discutidos e devem considerados com cautela. A utilização de piquetes maternidade constituiu-se num fator de proteção contra a leptospirose e não houve correlação entre a ocorrência de abortamentos relacionados à infecção por qualquer sorovar de *Leptospira* spp., com exceção da região 3 onde este fator despontou significativamente.

Palavras-chave: Leptospirose. Bovinos (fêmeas). São Paulo (SP). Fatores de risco.

ABSTRACT

ABSTRACT

CASTRO, V. **Seroprevalence of bovine leptospirosis among adult cows of reproductive age in State of São Paulo, Brazil.** [Estudo da soroprevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil]. 2006. 104 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

The objective of the present study was to determine the seroprevalence of bovine leptospirosis in São Paulo State, stratified in seven cattle production regions. It was based on the statistic delineation, the serological samples and the responses of the survey employed on National Program for Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis established by Ministry of Agriculture (2001). From the herds selected it was serologically analyzed only the cows ≥ 24 months old, excluding the males. It was taking into consideration the herd size, the type of productive exploration, the reproductive handling, bovine practices and the commercialization system. Microscopic Agglutination Test (MAT) was applied on 8,216 serum samples from 1,021 different farms. The MAT results were analyzed against the possible risk factors and reproductive disorders due to leptospire infection. It was evidenced that leptospire infection occurs all over the seven regions of São Paulo, with 49,4% animal seroprevalence and 71,3% herd seroprevalence. Serovar Hardjo (46,4%) was the prevalent considering all the animals examined, followed by Hardjo/Wolfti association (21%), Shermani (8,9%), Autumnalis (4,46%) and Grippotyphosa (3,9%). Herd seroprevalence was Hardjo (55,18%), Hardjo/Wolfti association (20,18%), Shermani (7,97%), Grippotyphosa (4,41 %) and Autumnalis (3,17%). Serovar Hardjo is present in all regions of the State of São Paulo and its occurrence is independent of the handling conditions and reproductive practices adopted in the herds. Herds

with ≥ 24 animals, introduction of new animals, contact or pasture shared with other animal species as ovine and swine and the use of artificial insemination were considered risk factors for leptospirosis infection. The existence of specific calving area in the farm was associated as a preventive measure for leptospirosis. In this study it was not observed correlation of any *Leptospira* spp. sorovars infection and serologic MAT status with the abortion; except in region 3, where it was significant.

Key words: Leptospirosis. Bovine (females). São Paulo (SP). Risk factors.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	microlitro
CATI	Coordenadoria de Assistência Técnica Integral
CDA	Coordenadoria de Defesa Agropecuária
DNA	ácido desoxirribonucléico
EDA	Escritórios de Defesa Agropecuária
EMJH	Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris
et al.	e colaboradores
IA	inseminação artificial
IC	intervalo de confiança
IgG	imunoglobulina G
IgM	imunoglobulina M
<i>L.</i>	<i>Leptospira</i>
LUPA	Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária
MAPA	Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento
° C	graus Celsius
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
pH	potencial hidrogeniônico
PNCEBT	Programa Nacional de Brucelose e Tuberculose
SAM	Soroaglutinação microscópica

LISTA DE QUADROS

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1- Distribuição, por circuito produtor, do número total de propriedades com atividade reprodutiva, do número total de fêmeas bovinas, do número de propriedades amostradas e do número de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses amostradas– São Paulo – 2004.....44
- Quadro 2 - Distribuição dos tipos de exploração nas propriedades, pelas regiões e no Estado de São Paulo – São Paulo – 2004.....47
- Quadro 3 – Distribuição dos tipos de criação nas propriedades, pelas regiões e no Estado de São Paulo – São Paulo – 2004.....47
- Quadro 4 – Distribuição dos tipos de protocolo reprodutivo nas propriedades, pelas regiões e no Estado de São Paulo – São Paulo – 2004.....48
- Quadro 5 - Relação das espécies de Leptospira, sorogrupos e sorovares que serão empregados como antígenos na reação de Soroaglutinação Microscópica realizada sob a forma de microtécnica – São Paulo-2004.....49

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Soroprevalência para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. em fêmeas bovinas em sete regiões do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....57
- Tabela 2 – Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes nas amostras de fêmeas bovinas em relação ao total de animais positivos no Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....58
- Tabela 3 - Frequência de propriedades com pelo menos um animal reagente para *Leptospira* spp. nas sete regiões no Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....59
- Tabela 4 – Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes nas propriedades reagentes em relação ao total de propriedades positivas do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....60
- Tabela 5 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 1 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....61
- Tabela 6 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 2 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....61
- Tabela 7 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 3 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....62

- Tabela 8 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 4 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....62
- Tabela 9 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 5 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....63
- Tabela 10 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 6 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....63
- Tabela 11 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 7 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo, 2006.....64
- Tabela 12 - Ocorrência de animais silvestres nas propriedades segundo as regiões e o Estado de São Paulo - São Paulo-2006.....65
- Tabela 13 - Ocorrência de outros animais domésticos nas propriedades segundo as regiões e o Estado de São Paulo - São Paulo-2006.....65
- Tabela 14 - Fatores de risco para leptospirose em propriedades que apresentavam pelo menos um animal reagente para qualquer sorovar de *Leptospira* spp., segundo as regiões do Estado de São Paulo, no período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo-2006.....67
- Tabela 15 - Fatores de risco para leptospirose em propriedades que apresentaram soroprevalências para o sorovar Hardjo, segundo as regiões do Estado de São Paulo, no período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo-2006.....68

Tabela 16 - Prevalência de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. em fêmeas bovinas com idade \geq a 24 meses com e sem histórico de abortamento no Estado de São Paulo segundo a região do Estado de São Paulo – São Paulo - 2006.....	69
Tabela 17 - Prevalência de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. em propriedades rurais em relação a ocorrência de abortamentos nos 12 meses que antecederam as colheitas de sangue segundo a região do Estado de São Paulo – São Paulo - 2006	70

LISTA DE MAPAS

LISTA DE MAPAS

Mapa 1 – Circuitos produtores de bovinos no Estado de São Paulo segundo o Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária (LUPA). Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 2001.....	44
--	----

LISTA DE ANEXOS

LISTA DE ANEXOS

- Anexo A – Mapa da distribuição do gado de corte no Estado de São Paulo, segundo o LUPA (Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária). Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 1995/1996.....102
- Anexo B – Mapa da distribuição do gado de leite no Estado de São Paulo, segundo o LUPA (Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária). Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 1995/1996.....103
- Anexo C – Mapa da distribuição do rebanho de exploração mista no Estado de São Paulo, segundo o LUPA (Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária). Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 1995/1996.....104

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	29
2	OBJETIVOS	41
3	MATERIAL E MÉTODOS	42
3.1	INFORMAÇÕES DO PNCEBT QUE SERVIRAM DE BASE PARA O ESTUDO DA LEPTOSPIROSE.....	46
3.2	SOROPREVALÊNCIA DA LEPTOSPIROSE NO ESTADO DE SÃO PAULO	48
3.2.1	REAÇÃO DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA – SAM.....	48
3.2.1.1	ANTÍGENOS.....	49
3.2.1.2	AMOSTRAS SOROLÓGICAS.....	50
3.2.1.3	TRIAGEM	51
3.2.1.4	TITULAÇÃO.....	51
3.2.1.5	LEITURA E INTERPRETAÇÃO	51
3.2.3	TRATAMENTO ESTATÍSTICO	52
3.2.3.1	CÁLCULO DA SOROPREVALÊNCIA.....	52
3.2.3.2	PREVALÊNCIA DE ANIMAIS SOROREAGENTES.....	52
3.2.3.3	PREVALÊNCIA DE PROPRIEDADES POSITIVAS.....	53
3.2.3.4	ANÁLISE DE FATORES DE RISCO PARA A LEPTOSPIROSE BOVINA.....	54
3.2.3.5	A LEPTOSPIROSE COMO CAUSA DE ABORTAMENTOS	56
4	RESULTADOS	57
5	DISCUSSÃO	71
6	CONCLUSÃO	88
	REFERÊNCIAS	90

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma infecção causada por espiroquetas do gênero *Leptospira* (NOGUSHI, 1918), zoonose naturalmente transmissível entre animais vertebrados e o homem (CÔRTEZ, 1993). Com vasta distribuição geográfica, é evidenciada em todo o mundo (ACHA; SZYFRES, 2001), sendo particularmente prevalente em países de clima tropical a subtropical, principalmente nos períodos de altos níveis pluviométricos (BLOOD et al., 1983), devido à grande sobrevivência do gênero *Leptospira* em ambientes úmidos, o que aumenta o risco de exposição e contaminação de animais susceptíveis (ACHA; SZYFRES, 1986).

A leptospirose humana atinge normalmente pessoas de baixo nível sócio econômico e o seu controle está diretamente relacionado às melhorias nas condições de saneamento básico (FÁVERO, 2000). Pode assumir caráter ocupacional, como no caso dos plantadores de arroz, cortadores de cana de açúcar, limpadores de esgotos, mineradores pelo contato com o meio ambiente contaminado pela urina de animais doentes ou como com veterinários e magarefes pela lida direta com animais (ACHA; SZYFRES, 1986). Nas zonas rurais a leptospirose humana ocorre pelo contato de trabalhadores com carcaças, fetos abortados e tecidos de animais infectados. (FAINE et al., 1999).

Várias espécies animais, tanto silvestres como domésticas, podem albergar bactérias do gênero *Leptospira* e, assim, contribuir para sua manutenção na natureza (GUIMARÃES, 1983).

Os animais silvestres podem atuar como fonte de disseminação e manutenção das leptospiras no meio ambiente (BOLIN, 1996), pois em alguns

ecossistemas, com grande oferta de alimento, estes animais convivem muito próximos aos animais de produção (DELBEM, 2004).

Nos animais de produção, a leptospirose está principalmente relacionada aos problemas reprodutivos, com queda da produtividade dos rebanhos acometidos, nascimento de produtos debilitados, natimortos, abortamentos e condenação de vísceras à inspeção veterinária (DAVIDSON, 1971; GIORGI et al. 1981a; SANDOVAL et al., 1979; SANTA ROSA et al., 1961; SULLIVAN; CALLAN, 1970).

Nos bovinos, especificamente, as perdas econômicas causadas pela leptospirose estão direta ou indiretamente ligadas às falhas reprodutivas como a infertilidade, o abortamento e à queda da produção de carne e leite, além de custos com despesas de assistência veterinária, vacinas e testes laboratoriais (FAINE et al., 1999; VASCONCELLOS, 1996).

A leptospirose é causada por espiroquetas, bactérias da ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae*, gênero *Leptospira* (NOGUSHI, 1918).

Até 1989 sua classificação era baseada em características antigênicas, dividindo o gênero em duas espécies: *Leptospira interrogans*, compreendendo as estirpes patogênicas e *L. biflexa*, que engloba as cepas saprófitas do meio ambiente (LEVETT, 2001). Esta divisão, com base em critérios relacionados às reações sorológicas específicas, resulta em 23 sorogrupos constituídos por cerca de 250 sorovares de leptospiros patogênicas e saprófitas (FAINE, 1999). Esta classificação é a base do sorodiagnóstico. Em 1987, o pesquisador brasileiro Yasuda propôs nova classificação baseada na hibridização por homologia do DNA e recentemente, então, o gênero *Leptospira* foi reclassificado, segundo características genotípicas, em oito genomoespécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. borgpetersenii*, *L. faine*, *L. inadai*, *L.*

interrogans, *L. kirschneri*, *L. santarosai* e *L. weilii*. As leptospiras saprófitas ou de vida livre estão englobadas em três genomoespécies: *L. biflexa*, *L. meyeri* e *L. wolbachii*, com raros casos de infecção (KMETY; DIKKEN, 1993).

Os vários sorovares de *Leptospira* spp. podem, teoricamente, infectar qualquer espécie animal, sem diferença de sexo, mas na prática existem sorovares endêmicos em uma determinada região ou país e adaptados aos hospedeiros naturais, favorecendo assim, sua preservação no meio ambiente. Os sorovares Wolffi e Grippytyphosa podem estar presentes em alguns roedores silvestres e espécies marsupiais. Roedores sinantrópicos, suínos e cães são, respectivamente, considerados hospedeiros de manutenção dos sorovares Icterohaemorrhagiae, Pomona e Canicola. (ELLIS, 1984; RADOSTITS et al., 2000; FAINE et al., 1999).

Os bovinos são infectados pelos sorovares Hardjo, Pomona, Grippytyphosa e Icterohaemorrhagiae. O sorovar Hardjo têm sido considerado como o mais adaptado à espécie bovina (COSTA et al., 1998; ELLIS, 1994). Uma vez introduzido em um rebanho, este sorovar estabelece níveis variáveis de infecção, podendo persistir por longos períodos (HATHAWAY et al., 1986). A infecção por este sorovar independe de estações chuvosas e sistema de criações (ELLIS, 1994).

Dois genótipos do sorovar Hardjo são encontrados nos ruminantes – Hardjobovis e Hardjoprajitno. Hardjobovis ocorre com maior frequência em Nova Zelândia, Austrália e Holanda (FAINE, 1999), sendo eliminado em maiores quantidades pela urina, enquanto Hardjoprajitno tem sido relatado no Reino Unido, Nigéria, Índia, Malásia, Brasil, México e nos Estados Unidos (AGUIAR, 2004).

A transmissão da leptospirose pode ocorrer pelo contato direto da pele, das mucosas oral e conjuntival, com a urina e órgãos de animais portadores de

leptospiras. As vias transplacentária e mamária podem ser também consideradas na transmissão da leptospirose (GUIMARÃES et.al., 1983).

A via venérea, pela monta natural realizada entre animais infectados é uma das mais importantes condições para a transmissão direta. A possibilidade de transmissão da leptospirose pelo sêmen industrializado é minimizada, desde que os critérios preconizados pela OIE (World Organization for Animal Health) em relação à saúde do touro doador e a manipulação do ejaculado sejam seguidas. Entretanto, no sêmen industrializado proveniente de touro infectado, há a possibilidade de transmissão da leptospirose apesar de acrescido do extensor com antibióticos, sendo dependente da dose infectante e da sensibilidade da estirpe de *Leptospira spp.* ao protocolo antibiótico empregado; uma vez que o glicerol e o armazenamento em nitrogênio líquido permitem a conservação da bactéria (COSTA et al., 1998; RADOSTITS et al., 2000; VASCONCELLOS, 1996).

Nas criações, a disseminação da leptospira é caracterizada pela presença de animais doentes ou portadores assintomáticos que eliminam o agente pela urina e descargas cérvico-vaginais, além dos fetos abortados e placenta, mantendo a doença endêmica na propriedade. As leptospiras que são eliminadas na urina de animais infectados persistem no meio ambiente por tempo variável de acordo com as condições de umidade, temperatura e pH (FAINE et al., 1999).

Cada sorovar de *Leptospira spp.* tende a ser mantido em um hospedeiro específico, por isso bovinos de qualquer região podem ser infectados com estirpes adaptadas ou mantidas pelos próprios bovinos, onde a transmissão direta é de grande importância, como ocorre com o sorovar Hardjo (Hardjobovis ou Hardjoprajtno) que parece ser independente da região e condições climáticas ou

ainda, por estirpes mantidas por outros animais domésticos ou silvestres, o que caracteriza a infecção incidental (comunicação pessoal ¹).

Desta forma, a infecção é determinada por fatores como as espécies animais de contato, os sorovares existentes na região, as condições ambientais e climáticas, além do manejo e das oportunidades de infecção direta ou indireta (ELLIS, 1984; comunicação pessoal ²).

A leptospirose ocorre com a penetração do microrganismo através da pele lesada ou íntegra e das membranas mucosas (BINDER; MERMEL, 1998; FAINE et al., 1999; MYERS, 1985) Sua habilidade de sobrevivência e multiplicação nos tecidos constituem os maiores componentes de virulência das leptospiras (FAINE et al., 1999).

Após a penetração pelas barreiras naturais (pele ou mucosas), as leptospiras percorrem as vias linfáticas e sanguíneas, atingindo o pulmão, fígado e baço, onde se multiplicam por aproximadamente uma semana, fase denominada leptospiremia, ocorrendo o estágio febril. Nos órgãos, há lesão das membranas das células endoteliais de pequenos vasos, principalmente pela ação de toxinas, levando a extravasamento sanguíneo e hemorragia.

A conseqüência imediata é a perda das junções entre as células permitindo que tanto as leptospiras quanto o fluido migrem para os espaços extravasculares, advindo então a isquemia, anoxia e aumento da pressão nos tecidos, resultando na desintegração e morte celular com a perda da estrutura tecidual.

1 Informação fornecida por Genovez em São Paulo, em 2005

2 Informação fornecida por Genovez em São Paulo, em 2005

Outras lesões são devidas à adesão à célula endotelial, através da penetração, dando origem a verdadeiros “buracos” em sua membrana. (FAINE et al., 1999).

Subseqüentemente inicia-se a produção de anticorpos, que promove a eliminação de leptospiras dos tecidos por fagocitose (MYERS, 1985; SULLIVAN, 1974).

A imunidade para a infecção inicial é tipicamente humoral, e diretamente relacionada ao sorovar, que por sua vez está relacionado com o antígeno aglutinante. A imunidade mediada por célula, tida como pouca ou nenhuma importância na leptospirose até recentemente, demonstrou ser significativa nas infecções por *Leptospira* spp. sorovar Hardjo (ELLIS, 1994).

A produção de anticorpos da classe IgM acontece no período de incubação, que pode persistir por sete a quatorze dias, sendo seguida pelos anticorpos de classe IgG que podem persistir por longos períodos (REBHUN, 1995; TURNER, 1968). Os fatores que envolvem a queda da leptospiremia são pouco compreendidos, embora haja estudos demonstrando associação à detecção de imunoglobulinas IgG e IgA na urina (LEONARD et al., 1993).

O efeito tóxico não é imediato; as lesões aparecem em 48-72 horas pós-infecção, com o aparecimento de petéquias hemorrágicas e parece estar relacionado ao número de leptospiras que sobreviveram e se multiplicaram (FAINE et al., 1999).

Em animais que sobrevivem à fase aguda, as leptospiras persistem em sítios imunologicamente protegidos, como os túbulos proximais, câmara anterior do olho e trato genital. Nos rins multiplicam-se ativamente atingindo o pico máximo em 3-4 semanas, sendo excretadas pela urina. Essa fase determina a leptospirúria, que

confere aos animais importante papel na epidemiologia da leptospirose: os portadores assintomáticos renais ou genitais (SULLIVAN, 1974). No caso de bovinos infectados pode haver eliminação do agente pela urina por até um ano (HANSON, 1982; THIERMANN, 1984), com alta excreção de leptospiras nas primeiras quatro semanas.

A duração e intensidade da eliminação variam de animal para animal e dependem do sorovar infectante. (LEONARD et al., 1993).

As leptospiras podem se localizar no útero de vacas vazias ou prenhes, por até 97 e 142 dias respectivamente; no útero gestante origina a infecção fetal com eliminação das leptospiras nas descargas uterinas pós-parto. O abortamento ocorre como seqüela de infecção sistêmica. Durante a fase de leptospiremia, há morte fetal com ou sem degeneração placentária, seguida de eliminação fetal entre 24 a 48 horas após a infecção (RADOSTITS et al., 2000). Fetos bovinos infectados nos estágios tardios da gestação podem desenvolver anticorpos séricos detectáveis (ELLIS, 1994).

Na infecção pelo sorovar Hardjo além dos rins, o trato genital superior, é um importante sítio de persistência. Particularmente, na infecção de bovinos pela genoespécie Hardjoprajitno, a excreção pelo trato urinário tem intensidade baixa, sendo a via venérea a mais importante para a disseminação do agente no rebanho e no ambiente. O isolamento do sorovar Hardjo do trato genital de touros naturalmente infectados sugere tal importância, pois a introdução do microrganismo por via intrauterina estabelece a infecção de fêmeas, que passam a excretá-lo pela urina por até 54 semanas (FAINE et al., 1999). A localização do sorovar Hardjo é demonstrada em glândulas acessórias e testículos de touros, e os sorovares Pomona e

Hebdomadis no sêmen; inclusive, aglutininas anti-*Leptospira* foram demonstradas no plasma seminal (ELLIS, 1994).

Nas fêmeas bovinas, a infecção pelo sorovar Hardjo parece ter efeito direto sobre a fertilização interferindo com a função do corpo lúteo, através da diminuição dos níveis de progesterona. (DHALIWAL et al., 1996). O sorovar Hardjo também têm sido relatado persistindo na glândula mamária de bovinos (THIERMANN, 1984). Essas infecções não são, normalmente, tão severas quanto as causadas por outros sorovares como, por exemplo, Icterohaemorrhagiae, Pomona ou Grippotyphosa, que ocasionam surtos de abortamentos (DHALIWAL et al., 1996, FAINE et al., 1999).

Os sinais clínicos na leptospirose bovina podem ser divididos em duas fases distintas: a primeira, aguda, que coincide com a bacteremia é observada com maior freqüência em rebanhos jovens, enquanto que a segunda fase, crônica, ocorre mais tardiamente e seus efeitos são mais aparentes no trato genital. (ELLIS, 1984). Esta última fase está geralmente associada aos sorovares Hardjo e Pomona, apresentando abortamentos, natimortos, nascimentos de prematuros fracos ou aparentemente normais, mas portadores do agente (GUITIAN et al., 1999).

No gado leiteiro, o aparecimento de mastite flácida (Síndrome da Queda do Leite ou Milk Drop Syndrome) com agalactia e pequena quantidade de sangue no leite também têm sido relatado em alguns países. Há a diminuição na produção do leite que perdura de dois a dez dias, e se apresenta de cor amarelada, com consistência de colostro, grumos grosseiros e elevada contagem somática. Esta condição a diferencia das mastites normais (FAINE et al., 1999). A mastite flácida pode ocorrer numa forma epizootica em rebanho não exposto e envolver cerca da metade dos animais por um período de dois meses ou mais, ou ainda, mais

comumente nos rebanhos endêmicos na 1ª e 2ª lactação. Nestes casos, o retorno ocorre por volta de dez dias, mas geralmente não atingem mais a total potencialidade de produção naquela lactação. Esta síndrome está especialmente ligada ao sorovar Hardjo (ELLIS, 1984).

O controle da leptospirose é necessário para prevenir a doença clínica, as perdas econômicas e minimizar o risco de infecção humana.

Uma das formas de controle da leptospirose depende da diminuição da prevalência da infecção com sorovares mantidos na população e na diminuição do grau de associação ecológica das leptospiras mantidas por animais de vida livre. (HATHAWAY, 1981). Na prática veterinária, baseia-se na vacinação sistemática do rebanho, tratamento de animais doentes com antibioticoterapia, controle dos roedores nas propriedades e eliminação de excesso de água do ambiente (DE NARDI, 2005).

O emprego exclusivo da vacinação tem sido o método de escolha para rebanhos de corte. Muitas vacinas comerciais estão disponíveis no mercado nacional compostas por cinco a dez sorovares, que atendem as soroprevalências da maioria das regiões do país. Por não possuírem papel curativo, seu emprego estaria mais indicado na prevenção da infecção, principalmente de novilhas antes da entrada no serviço reprodutivo (GENOVEZ et al. 2001b; GENOVEZ et al., 2002; LITTLE, 1992; MARSHALL et al., 1979;).

Alguns autores indicam uso de vacinas contra a leptospirose na redução da ocorrência de problemas reprodutivos causados pela variante sorológica Hardjo (BOLIN et al., 1989).

O tratamento da leptospirose é feito com estreptomicina (25 mg/Kg), é eficaz na eliminação dos microrganismos excretados, entretanto, não previne a reinfecção, devendo ser administrada ao mesmo tempo em todo o rebanho assim como nos animais recém adquiridos em quarentena (ELLIS et al., 1985).

O diagnóstico da leptospirose é dificultado pelo grande número de sorovares e a possibilidade de ocorrência de infecção por mais de um sorovar (ACHA; SZYFRES, 1986).

O diagnóstico clínico, por sinais e sintomas é empírico, pois depende do sorovar infectante, havendo a necessidade da sua confirmação laboratorial (FAINE, 1982).

Informações epidemiológicas como a deficiência reprodutiva dos plantéis, a presença de roedores, manejo sanitário de rebanhos e fatores ambientais e climáticos podem orientar para a suspeita de leptospirose.

GENOVEZ et al.(2001a) relatam que os exames laboratoriais diretos, que empregam o cultivo em meios específicos, necessitam da viabilidade das leptospiras nas amostras clínicas, o que nem sempre é possível, interferindo na sensibilidade .

A detecção do DNA bacteriano através da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) e suas variações assegura elevadas sensibilidade e especificidade, a partir de grande variedade de material clínico e com rapidez.

O diagnóstico indireto, com pesquisa de anticorpos em amostras sorológicas é a forma corrente de diagnóstico da leptospirose.

A reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM), utilizando culturas vivas de leptospiras como antígenos, se constitui na prova de referência pela OMS-

Organização Mundial da Saúde - para pesquisa de aglutininas em soros de animais e humanos (VASCONCELLOS, 1979).

A SAM detecta tanto anticorpos do tipo IgM como IgG, sendo sua resposta considerada indicativa do possível sorovar infectante. A caracterização do sorovar infectante só é possível através do isolamento e identificação do agente.(GUIMARÃES et al., 1983).

Existem limitações na prova de Soroaglutinação Microscópica, devido à detecção tardia dos anticorpos e a impossibilidade de revelar os animais portadores renais ou genitais assintomáticos que apareçam como negativos , mas que liberam leptospiras pela urina, sêmen ou secreções cérvico-vaginais (comunicação pessoal³).

O uso da vacinação também é um entrave para o diagnóstico sorológico da leptospirose, já que os anticorpos pós-vacinais podem persistem por até seis meses, dificultando a diferenciação de títulos vacinais de reações oriundas de infecção (FREUDENSTEIN; HEIN, 1991).

Além disso, a sensibilidade e a especificidade da SAM são afetadas por diversos fatores, como a seleção de estirpes utilizadas como antígenos, o tempo de cultivo, a densidade do antígeno e a determinação do ponto final de aglutinação. Esses fatores fazem com que somente laboratórios especializados realizem e interpretem com precisão o diagnóstico (GUIMARÃES et al., 1983).

3 Informação fornecida por Genovez em São Paulo, em 2006

Vários trabalhos realizados no Brasil focaram estudos sorológicos para a leptospirose bovina, entretanto não avaliaram a soroprevalência do Estado de São Paulo, pois a maioria limitou-se a dados ocasionais e regionais; e ainda mais raros foram aqueles que partiram do planejamento estatístico, considerando amostragem sorológica com critérios definidos sobre a população de bovinos, por propriedade e por região produtiva do estado e complementadas com informações geradas em questionário direcionado ao tipo de exploração, criação e tecnificação reprodutiva do rebanho.

2 OBJETIVOS

O presente estudo tem por objetivos:

- determinar a soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas com idade maior ou igual a 24 meses, do Estado de São Paulo
- caracterizar os sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes de acordo com a região do estado de São Paulo;
- relacionar a ocorrência dos sorovares de *Leptospira* spp prevalentes com o tipo de exploração, criação e tecnificação reprodutiva das propriedades rurais do estado de São Paulo;
- identificar fatores de risco associados aos sorovares prevalentes em cada região do Estado de São Paulo;
- correlacionar a soroprevalência da leptospirose bovina com a ocorrência de abortamentos nas propriedades rurais do Estado de São Paulo

3 MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo da soroprevalência da leptospirose no Estado de São Paulo, foram utilizados o delineamento estatístico, as amostras sorológicas e as informações contidas nos questionários empregados no Programa Nacional de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) instituído pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2001).

Resumidamente:

Para o PNCEBT, o Estado de São Paulo foi estratificado em sete circuitos produtores de bovinos, levando-se em consideração os seguintes critérios: a utilização de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, excluindo-se os machos; os diferentes tipos de produção; as práticas de manejo; as finalidades de reprodução; o tamanho dos rebanhos e o sistema de comercialização, conceitos que foram extrapolados do Programa Nacional de Erradicação da Febre Aftosa (MAPA, 2000), baseando-se nas relações entre os sistemas de produção predominantes nas diferentes áreas geográficas e suas interdependências em relação ao comércio de animais e seus produtos e sub-produtos.

A divisão do Estado de São Paulo em sete circuitos produtores também levou em consideração a capacidade operacional e logística da Coordenadoria de Defesa Agropecuária da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo (CDA) quanto à atuação dos quarenta Escritórios de Defesa Agropecuária (EDA) na colheita das amostras sorológicas e na aplicação do questionário epidemiológico.

No PNCEBT, para a brucelose bovina estimou-se, em cada circuito produtor, a prevalência de propriedades infectadas em 20% (erro absoluto de 6% com

intervalo de confiança de 95% - Programa EpilInfo-6.04). Através de um estudo amostral para detectar focos de brucelose, primeiramente foi sorteado aleatoriamente um número pré-estabelecido de propriedades com atividade reprodutiva (unidades primárias de produção) e em seguida, um número pré-estabelecido de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses (unidades secundárias de produção).

O número de animais testados em cada propriedade foi determinado pela sensibilidade e especificidade dos testes empregados para brucelose, respectivamente, 95% para o teste do antígeno acidificado tamponado (AAT) e 99,5% para o teste do 2 – mercaptoetanol (ME).

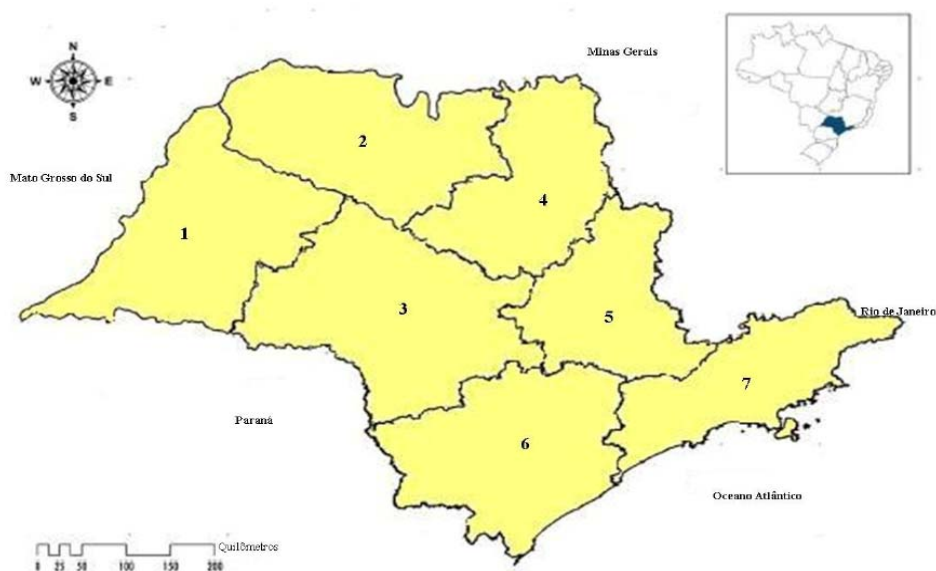
Nas propriedades rurais com atividade reprodutiva, escolheu-se para o inquérito, o rebanho bovino de maior importância econômica (corte, leite ou misto), no qual os animais estavam sob mesmas condições de manejo e, provavelmente sob os mesmos fatores de risco. Propriedades com até 100 fêmeas com idade superior a 24 meses tiveram 10 animais amostrados e as propriedades que possuíam mais de 100 vacas, foram coletadas amostras de 15 animais. Além disso, em propriedades com até 10 fêmeas, colheu-se sangue de todas.

Finalmente foi determinado o tamanho da amostra das unidades primárias, totalizando, no Estado de São Paulo, 1.073 propriedades, com amostragem final de 8.761 soros de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses. (Quadro 1).

Circuito produtor	Propriedades com atividade reprodutiva de bovinos	Fêmeas bovinas com idade maior ou igual a 24 meses	Propriedades amostradas	Fêmeas amostradas
1	29.091	1.333.508	145	1.426
2	35.052	1.071.847	151	1.230
3	29.875	1.220.983	148	1.311
4	14.970	378.485	153	1.200
5	22.551	351.553	179	1.161
6	18.247	351.612	146	1.107
7	10.213	224.226	151	1.311
Estado	159.999	4.932.214	1.073	8.761

Fonte: Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária (LUPA). DIAS, 2004.

Quadro 1- Distribuição, por circuito produtor do Estado de São Paulo, do número total de propriedades com atividade reprodutiva, do número total de fêmeas bovinas, do número de propriedades amostradas e do número de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses amostradas



Mapa 1 – Circuitos produtores de bovinos no Estado de São Paulo segundo o Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária (LUPA). Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 2001

Em cada uma das propriedades visitadas foi preenchido um questionário epidemiológico que continha as informações necessárias para caracterizá-las, como:

- tipo de exploração pecuária (corte, leite ou mista);
- tipo de criação (confinado, semiconfinado e extensivo);
- número de ordenhas por dia;
- tipo de ordenha (manual, mecânica ao pé, mecânica em sala de ordenha);
- produção de leite;
- uso de inseminação artificial e/ou monta natural;
- raça predominante;
- número de bovinos existentes (machos, fêmeas) e suas idades;
- presença de outras espécies animais na propriedade;
- existência de silvestres em vida livre na propriedade;
- abortamento nos últimos 12 meses;
- forma de manejo de materiais de abortamento;
- realização de testes para a brucelose e sua regularidade;
- compra de animais para reprodução;
- venda de animais para a reprodução;
- vacinação contra brucelose;
- local de abate de animais;
- presença de áreas alagadas que o gado tenha acesso;
- aluguel de pasto;
- pastagem em comum com outras propriedades;
- piquete maternidade;
- fornecimento de leite;

- produção de queijo ou manteiga;
- consumo de leite cru;
- assistência veterinária.

As informações obtidas no questionário epidemiológico foram inseridas em um banco de dados elaborado no programa Microsoft Access[®] para verificar a possível presença de práticas e condições que poderiam atuar como fatores de risco para a brucelose.

A colheita das amostras foi realizada por médicos veterinários entre os meses de outubro a dezembro de 2001. As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular com agulha descartável e tubo com vácuo sem coagulante com capacidade de 15mL. Os tubos foram identificados com um código composto por 11 dígitos, sendo os nove primeiros relativos ao código do rebanho e os dois finais, ao número da fêmea amostrada. Após dessoramento, cada amostra sorológica foi transferida para outro frasco, identificada e armazenada em freezer a -20° C.

3.1 INFORMAÇÕES DO PNCEBT QUE SERVIRAM DE BASE PARA O ESTUDO DA LEPTOSPIROSE

Os quadros 2, 3 e 4 abaixo transcritos foram selecionados do PNCEBT (DIAS, 2004) tomando por base as informações consideradas pertinentes para o estudo da leptospirose bovina no Estado de São Paulo.

Região	Corte			Leite			Misto			TOTAL
	N	%	IC 95%(%)	N	%	IC 95%(%)	N	%	IC 95%(%)	
1	43	30,5	[23,0;38,8]	27	19,1	[13,0;26,6]	71	50,4	[41,8;58,9]	141 (100%)
2	21	14,3	[9,1;21,0]	59	40,1	[32,1;48,5]	67	45,6	[37,4;54,0]	147 (100%)
3	47	32,0	[24,5;40,2]	39	26,5	[19,6;34,4]	61	41,5	[33,4;49,9]	147 (100%)
4	24	15,7	[10,3;22,4]	46	30,1	[22,9;38,0]	83	54,2	[46,0;62,3]	153 (100%)
5	40	22,6	[16,7;29,5]	69	39,0	[31,8;46,6]	68	38,4	[31,2;46,0]	177 (100%)
6	18	12,3	[7,5;18,8]	42	28,8	[21,6;36,8]	86	58,9	[50,5;67,0]	146 (100%)
7	16	10,5	[6,1;16,4]	71	46,4	[38,3;54,6]	66	43,1	[35,2;51,4]	153 (100%)
SP	209	21,3	[18,7;24,0]	353	31,8	[28,9;34,7]	502	46,9	[43,7;50,1]	1064 (100%)

Quadro 2 - Distribuição dos tipos de exploração nas propriedades, pelas regiões e no Estado de São Paulo – São Paulo – 2004 (FONTE : DIAS, 2004)

Região	Confinado			Semi-confinado			Extensivo			TOTAL
	N	%	IC 95%(%)	N	%	IC 95%(%)	N	%	IC 95%(%)	
1	2	1,4	[0,2; 5,1]	6	4,3	[1,6; 9,2]	131	94,3	[89,0; 97,5]	139 (100%)
2	1	0,7	[0,0; 3,8]	9	6,2	[2,9; 11,4]	136	93,1	[87,8; 96,7]	146 (100%)
3	0	0,0	[0,0; 2,5]	17	11,6	[6,9; 18,0]	129	88,4	[82,0; 93,1]	146 (100%)
4	3	2,0	[0,4; 5,7]	31	20,5	[14,4; 27,9]	117	77,5	[70,0; 83,9]	151 (100%)
5	3	1,7	[0,4; 4,9]	50	28,2	[21,7; 35,5]	124	70,1	[62,7; 76,7]	177 (100%)
6	0	0,0	[0,0; 2,5]	17	11,7	[7,0; 18,1]	128	88,3	[81,9; 93,0]	145 (100%)
7	1	0,7	[0,0; 3,6]	68	44,7	[36,7; 53,0]	83	54,6	[46,3; 62,7]	152 (100%)
SP	10	0,9	[0,3; 1,4]	198	14,5	[12,5; 16,5]	848	84,6	[82,5; 86,6]	1056 (100%)

Quadro 3 – Distribuição dos tipos de criação nas propriedades, pelas regiões e no Estado de São Paulo – São Paulo – 2004 (FONTE: DIAS, 2004)

Região	Não usa IA			Associada a touro			IA somente			TOTAL
	N	%	IC 95%(%)	N	%	IC 95%(%)	N	%	IC 95%(%)	
1	124	95,4	[90,2; 98,3]	3	2,3	[0,5; 6,6]	3	2,3	[0,5; 6,6]	130 (100%)
2	134	96,4	[91,8; 98,8]	5	3,6	[1,2; 8,2]	0	0,0	[0,0; 2,6]	139 (100%)
3	141	96,6	[92,2; 98,9]	4	2,7	[0,8; 6,9]	1	0,7	[0,0; 3,8]	146 (100%)
4	120	82,8	[75,6; 88,5]	16	11,0	[6,4; 17,3]	9	6,2	[2,9; 11,4]	145 (100%)
5	156	91,2	[85,9; 95,0]	11	6,4	[3,2; 11,2]	4	2,4	[0,6; 5,9]	171 (100%)
6	132	93,0	[87,4; 96,6]	8	5,6	[2,5; 10,8]	2	1,4	[0,2; 5,0]	142 (100%)
7	139	94,6	[89,6; 97,4]	8	5,4	[2,4; 10,4]	0	0,0	[0,0; 2,5]	147 (100%)
SP	946	93,7	[92,2; 95,2]	55	4,7	[3,4; 6,0]	19	1,86	[0,9; 2,4]	1020 (100%)

Quadro 4– Distribuição dos tipos de protocolo reprodutivo nas propriedades, pelas regiões e no Estado de São Paulo – São Paulo – 2004 (FONTE: DIAS, 2004)

3.2 SOROPREVALÊNCIA DA LEPTOSPIROSE NO ESTADO DE SÃO PAULO

3.2.1 Reação de Soroaglutinação Microscópica-SAM

A técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos (FAINE et al., 1999), prova de referência pela Organização Mundial da Saúde-OMS para o diagnóstico da leptospirose, foi empregada para mensuração dos níveis de aglutininas para todas as amostras de soros e realizada no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo, durante os anos de 2003 e 2005.

3.2.1.1 Antígenos

A SAM foi realizada com uma coleção de culturas vivas de *Leptospira* spp., com um representante de cada sorogrupo, totalizando 22 variantes sorológicas, apresentadas no Quadro 5. As culturas de leptospiros foram mantidas em meio líquido de EMJH modificado (ALVES, 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).

Espécie	Sorogrupo	Sorovar
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Castellonis
<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi
<i>L. borgpetersenii</i>	Celledoni	Whitcombi
<i>L. interrogans</i>	Australis	Australis
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis
<i>L. interrogans</i>	Bataviae	Bataviae
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
<i>L. interrogans</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjoprajitno
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Sentot
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes
<i>L. kirschneri</i>	Autumnalis	Butembo
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama
<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani

Quadro 5: Relação das espécies de *Leptospira*, sorogrupos e sorovares que serão empregados como antígenos na reação de Soroaglutinação Microscópica realizada sob a forma de microtécnica – São Paulo-2006.

3.2.1.2 Amostras sorológicas

A metodologia empregada no PNCEBT para a determinação do número de animais colhidos em cada propriedade com base nos valores de sensibilidade e especificidade agregadas das provas sorológicas para brucelose pode ser extrapolada para a leptospirose, uma vez que a SAM como técnica de referência pela OMS possui elevado nível de sensibilidade e especificidade (FAINE et al., 1999).

As amostras sorológicas armazenadas nos EDAs, foram disponibilizadas para o Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo em janeiro de 2001 e mantidas em lotes identificados por propriedades e região e estocadas em freezer (-20° C) até o momento de uso. O estudo da leptospirose ocorreu entre os anos de 2003 a 2005 e, portanto a soroprevalência determinada desta enfermidade no Estado de São Paulo é referente a 2001.

Da amostragem original colhida para o PNCEBT, foram descartadas amostras de 52 propriedades, no total de 545 soros sanguíneos, levando em consideração a má conservação, volume insuficiente e falta de identificação, totalizando para o estudo da leptospirose 8.216 amostras sorológicas provenientes de 1.021 propriedades.

Um total de vinte propriedades identificadas no PNCEBT como pertencente a determinadas regiões, como, por exemplo, o município de São João da Boa Vista, não foram coincidentes com as regiões designadas nos lotes recebidos no Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo, mantendo-se no presente trabalho esta última distribuição.

3.2.1.3 Triagem

Cada amostra de soro foi diluída a 1:50 em solução salina tamponada de Sorënsen (pH 7,4). Desta diluição, 50 µL foram colocados em microplaca de poliestireno de fundo chato com 96 poços (COSTAR), e acrescentados de 50 µL do antígeno, obtendo-se diluição inicial 1:100. Cada amostra sorológica foi colocada frente à bateria antigênica com 22 sorovares. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 ° C por três horas.

3.2.1.4 Titulação

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 acrescentados de 50µL do antígeno que foi detectado como positivo na triagem. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 ° C por três horas.

3.2.1.5 Leitura e interpretação

As leituras foram realizadas em microscópico óptico microscópio Jena Zeiss com condensador de campo escuro seco, com lente objetiva Epiplan 10x/0,20 e de 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 leptospiplas aglutinadas (FAINE et al., 1999).

Os resultados obtidos na SAM foram inseridos em um novo Banco de Dados, elaborado no programa Microsoft Access® , para que fosse possível a utilização das informações epidemiológicas contidas nos questionários das propriedades.

3.2.3 Tratamento Estatístico

3.2.3.1 Cálculo da Soroprevalência

No animal, o provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título. Na ocorrência de empate sorológico para dois ou mais sorovares, o animal foi desconsiderado da análise, com exceção da associação entre os sorovares Hardjo e Wolffi, que em função da reação cruzada entre eles por pertencerem ao mesmo sorogrupo, foram mantidos na análise.

Na propriedade, o provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título e o maior número de reações positivas. Uma propriedade foi considerada positiva quando nela foi encontrado pelo menos um animal soropositivo.

Calculou-se a soroprevalência da leptospirose bovina para qualquer sorovar, considerando reações positivas sobre o total de animais do Estado de São Paulo, sobre o total de animais por região e sobre o total de animais por propriedade. Em seguida, foi calculada a prevalência dos sorovares considerando-os sobre o total de animais reagentes no Estado de São Paulo, total de reagentes por região e o total de reagentes por propriedade. Também foram calculadas as prevalências

estratificadas pelo relato de ocorrência de abortamentos nas propriedades, com o objetivo de verificar possíveis associações com infecção por *Leptospira* spp..

3.2.3.2 Prevalência de Animais Sororeagentes

O delineamento amostral para o cálculo da prevalência de animais soropositivos para a leptospirose bovina no Estado de São Paulo empregou uma amostra de grupo estratificada em dois estágios, e em cada estrato, uma amostra de grupo em dois estágios (THRUSFIELD, 1995), onde cada propriedade foi considerada um grupo. Os parâmetros utilizados foram: (a) condição do animal (soropositivo ou soronegativo); (b) região ao qual pertencia o animal; (c) código do rebanho (para identificar cada grupo); e (d) peso estatístico. O peso estatístico foi calculado com a seguinte fórmula (DEAN, 1994):

$$Peso = \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na região}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses nas propriedades amostradas}} \times \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na propriedade}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses amostradas na propriedade}}$$

3.2.3.3 Prevalência de Propriedades Positivas

Para o cálculo da prevalência de propriedades positivas para leptospirose bovina no Estado de São Paulo, o delineamento amostral empregou a amostra aleatória estratificada (THRUSFIELD, 1995). Os parâmetros necessários foram: (a) condição da propriedade (positiva ou negativa); (b) região a qual pertencia a

propriedade; e (c) peso estatístico. O peso estatístico foi determinado aplicando-se a seguinte fórmula (DEAN, 1994):

$$Peso = \frac{n^{\circ} \text{ de propriedades na região}}{n^{\circ} \text{ de propriedades amostradas na região}}$$

O cálculo da prevalência de leptospirose bovina por região empregou o delineamento amostral de uma amostra aleatória simples, utilizando os parâmetros: (a) número de positivos; e (b) número de propriedades amostradas na região. Todos os cálculos foram realizados com o programa SPSS 13.0 for Windows.

3.2.3.4 Análise de fatores de risco para a leptospirose bovina

Na identificação de possíveis fatores de risco associados à condição de sororeagentes para leptospirose, foi utilizado o procedimento de estudos observacionais de caso-controle (THRUSFIELD, 1995), efetuado com os dados colhidos nos questionários epidemiológicos. As variáveis independentes (possíveis fatores de risco) foram categorizadas e codificadas, deixando-se a categoria de menor risco com o menor código (LATORRE, 2004). Esta categoria de menor risco foi considerada a referência para a comparação com as demais. As variáveis quantitativas (número de fêmeas com idade ≥ 24 meses e tamanho do rebanho) foram categorizadas e codificadas de acordo com o valor mediano. As variáveis estudadas com as respectivas categorias foram:

- ▶ tipo de exploração: corte, leite e mista;
- ▶ tipo de criação: confinada, semi-confinada e extensiva;
- ▶ utilização de inseminação artificial: não e sim (com ou sem uso de touro);
- ▶ número de fêmeas com idade ≥ 24 meses: adotou-se a mediana como ponto de corte;
- ▶ tamanho do rebanho: adotou-se a mediana como ponto de corte;
- ▶ criar ovinos/caprinos, eqüinos, suínos, cães: não e sim;
- ▶ presença, na propriedade, de animais silvestres (qualquer animal silvestre), cervídeos, capivaras e outros: ausência e presença;
- ▶ destino de fetos abortados e placenta: não faz nada, alimenta porco/cão e enterra/joga em fossa/queima;
- ▶ comprar reprodutores de qualquer origem: não compra e compra;
- ▶ comprar reprodutores em exposições: não compra e compra;
- ▶ comprar reprodutores em leilões e feiras: não compra e compra;
- ▶ comprar reprodutores de comerciantes: não compra e compra;
- ▶ comprar reprodutores de outras fazendas: não compra e compra;
- ▶ abate de animais na própria fazenda: não abate e abate;
- ▶ aluguel de pastos: não aluga e aluga;
- ▶ utilização de pastos compartilhados: não utiliza e utiliza;
- ▶ existência de áreas alagadiças acessíveis ao gado: não e sim;
- ▶ utilização de piquetes de parição: não utiliza e utiliza;
- ▶ existência de assistência veterinária: não e sim.

A análise de fatores de risco foi efetuada em duas etapas: análise univariada e análise multivariada. Na análise univariada, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente da condição sanitária da propriedade (livre ou positiva). As variáveis que apresentaram um valor de $p \leq 0,2$ pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quando indicado (ZAR, 1999), foram selecionadas e oferecidas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão logística múltipla (HOSMER; LEMESHOW, 2000), para a definição de um modelo que melhor identificasse os fatores de risco. O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%.

Inicialmente foi feita uma análise considerando as propriedades positivas para qualquer sorovar; em seguida, foi realizada outra análise considerando o sorovar mais freqüente. As análises foram também realizadas por região e no âmbito estadual. Para a realização de todas as análises, foi utilizado o programa SPSS 13.0 for Windows.

3.2.3.5 A leptospirose como causa de abortamentos

Para análise da leptospirose como causa de problemas reprodutivos em animais soropositivos foi realizada uma estratificação pelo histórico de abortamento, empregando-se o teste de qui-quadrado, com nível de significância de 5%. O mesmo foi realizado por propriedade com e sem ocorrência de abortamentos nos últimos doze meses que antecederam a colheita das amostras.

4 RESULTADOS

Das 8.216 amostras sorológicas de fêmeas bovinas, 3.338 (49,4% - IC 95%=44,4 - 54,4) foram reagentes na SAM para qualquer um dos 22 sorovares de sorovar de *Leptospira* spp., com títulos variando entre 100 e 3200. A região 3 apresentou o maior número de animais reagentes e com títulos mais elevados (58% - IC 95% = 51,5 - 64,1), seguida pelas regiões 7, 1, 4, 6, 2 e 5 (Tabela 1).

Tabela 1 - Soroprevalência para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. em fêmeas bovinas em sete regiões no Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo- 2006

Região	Fêmeas amostradas	Fêmeas positivas	Prevalência (%)	IC 95% (%)
1	1383	610	52,1	38,1 - 65,8
2	1332	615	43,0	35,5 - 50,7
3	1401	561	58,0	51,5 - 64,1
4	1209	575	50,9	41,3 - 60,4
5	1110	242	27,7	17,8 - 40,3
6	1022	384	46,0	40,8 - 51,4
7	759	351	53,5	45,5 - 61,4
Estado	8216	3338	49,4	44,4 - 54,4

Segundo os resultados, foram observadas diferenças significativas nas frequências de fêmeas positivas para pelo menos um sorovar entre as seguintes regiões: 1 e 5 ($p < 0,001$), 2 e 3 ($p = 0,001$), 2 e 5 ($p < 0,001$), 3 e 5 ($p < 0,001$), 4 e 5 ($p < 0,001$), 5 e 6 ($p < 0,001$) e 5 e 7 ($p < 0,001$).

O sorovar Hardjo (46%) e sua associação com o sorovar Wolffi (21%) foram prevalentes entre o total de animais sororeagentes; enquanto os sorovares Shermani, Autumnalis e Grippothyphosa apareceram na seqüência, respectivamente com 8,9%, 4,46% e 3,9 %. A associação dos sorovares Hardjo e Wolffi praticamente ocorreu em todas as regiões do estado, freqüentemente com títulos empatados ou com diferença de título correspondente a uma diluição acima ou abaixo. A

freqüência do sorovar Wolffi isoladamente mostrou-se inferior a de Hardjo (Tabela 2).

Tabela 2 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes nas amostras de fêmeas bovinas reagentes em relação ao total de animais positivos do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo- 2006

Sorovar	N	Freqüência (%)
Hardjo	1538/3338	46,0
Associação Hardjo e Wolffi	711/3338	21,0
Shermani	300/3338	8,98
Autumnalis	149/3338	4,46
Grippotyphosa	132/3338	3,95
Bratislava	110/3338	3,29
Icterohaemorrhagiae	63/3338	1,88
Australis	55/3338	1,64
Pomona	46/3338	1,37
Hebdomadis	44/3338	1,31
Castellonis	32/3338	0,958
Canicola	31/3338	0,928
Pyrogenes	25/3338	0,748
Wolffi	23/3338	0,689
Tarassovi	11/3338	0,329
Copenhageni	10/3338	0,299
Butembo	10/3338	0,299
Sentot	7/3338	0,209
Panama	6/3338	0,179
Whitcombi	4/3338	0,119

N= Número de animais positivos para o sorovar sobre o número total de fêmeas positivas para *Leptospira* spp. no Estado de São Paulo

Dentre as 1.021 propriedades investigadas, 718 (71,3% - IC 95%= 68,5 – 74,0) apresentaram pelo menos um animal reagente na SAM para qualquer um dos 22 sorovares de *Leptospira* spp., como mostra a tabela 3. Em seqüência, a maior freqüência de propriedades positivas ocorreu na região 7 (85,4% IC 95% = 76,4 - 91,4) , seguida das regiões 2, 1, 4, 3, 6 e 5.

Tabela 3 - Frequência de propriedades com pelo menos um animal reagente para qualquer sorovar de *Leptospira* spp nas sete regiões no Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo-2006

Região	Propriedades amostradas	Propriedades positivas	Frequência (%)	IC 95% (%)
1	148	120	81,1	73,9 - 86,6
2	166	135	81,3	74,6 - 86,6
3	160	108	67,5	59,8 - 74,3
4	153	117	76,5	69,1 - 82,5
5	171	74	43,3	36,0 - 50,8
6	134	88	65,7	57,2 - 73,2
7	89	76	85,4	76,4 - 91,4
Estado	1021	718	71,3	68,5 - 74,0

Segundo os resultados, foram observadas diferenças significativas nas frequências de propriedades reagentes para pelo menos um sorovar de *Leptospira* spp entre as seguintes regiões: 1 e 3 ($p = 0,009$), 1 e 5 ($p < 0,001$), 1 e 6 ($p = 0,005$), 2 e 3 ($p = 0,006$), 2 e 5 ($p < 0,001$), 2 e 6 ($p = 0,003$), 3 e 5 ($p < 0,001$), 3 e 6 ($p < 0,001$), 3 e 7 ($p = 0,003$), 4 e 5 ($p < 0,001$), 5 e 6 ($p < 0,001$), 5 e 7 ($p < 0,001$) e 6 e 7 ($p = 0,002$).

A tabela 4 mostra os sorovares prevalentes no total de propriedades positivas do Estado de São Paulo, onde se observam o sorovar Hardjo com 55,18% (IC 95% = 51,42 - 58,88), sua associação com o sorovar Wolffi com 20,18% (IC 95% = 17,31 - 23,41), seguidos pelos sorovares Shermani e Grippothyphosa, respectivamente com 7,97% (IC 95% = 6,13 - 10,31) e 4,41% (IC 95% = 3,05 - 6,32).

Tabela 4 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes nas propriedades reagentes em relação ao total de propriedades positivas do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001.-São Paulo- 2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	401/718	55,18	[51,42 - 58,88]
Associação Hardjo/Wolffi	144/718	20,18	[17,31 - 23,41]
Shermani	57/718	7,97	[6,13 - 10,31]
Grippotyphosa	27/718	4,41	[3,05 - 6,32]
Autumnalis	22/718	3,17	[2,06 - 4,85]
Bratislava	16/718	2,22	[1,35 - 3,65]
Australis	9/718	1,39	[0,71 - 2,70]
Pomona	9/718	1,02	[0,51 - 2,04]
Wolffi	6/718	0,99	[0,44 - 2,19]
Canicola	5/718	0,86	[0,36 - 2,07]
Hebdomadis	6/718	0,71	[0,30 - 1,68]
Icterohaemorrhagiae	6/718	0,67	[0,28 - 1,57]
Castellonis	3/718	0,32	[0,10 - 1,03]
Copenhageni	2/718	0,27	[0,06 - 1,20]
Pyrogenes	2/718	0,27	[0,06 - 1,21]
Butembo	1/718	0,15	[0,02 - 1,07]
Whitcombi	1/718	0,13	[0,02 - 0,94]
Sentot	1/718	0,08	[0,01 - 0,57]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas no Estado de São Paulo (N=718)

De acordo com as tabelas 5 a 11, 17 sorovares dos 22 constantes na bateria antigênica utilizada, aparecem distribuídos nas sete regiões. A menor sorovariedade detectada pela SAM ocorreu na região 6 (6 sorovares) e a maior (13 sorovares), na região 5.

Observa-se ainda que, o sorovar Hardjo também desponta como prevalente entre os animais de cada uma das regiões do estado de São Paulo, seguido pela alternância entre os sorovares Shermani e Grippothyphosa em algumas regiões.

Tabela 5 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 1 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001 – São Paulo- 2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	78/120	65,00	[56,01 - 73,03]
Associação Hardjo/Wolffi	16/120	13,33	[8,31 - 20,71]
Shermani	9/120	7,50	[3,93 - 13,84]
Grippotyphosa	4/120	3,33	[1,25 - 8,59]
Autumnalis	3/120	2,50	[0,80 - 7,51]
Bratislava	3/120	2,50	[0,80 - 7,51]
Wolffi	2/120	1,67	[0,41 - 6,47]
Australis	1/120	0,83	[0,12 - 5,74]
Butembo	1/120	0,83	[0,12 - 5,74]
Canicola	1/120	0,83	[0,12 - 5,74]
Castellonis	1/120	0,83	[0,12 - 5,74]
Icterohaemorrhagiae	1/120	0,83	[0,12 - 5,74]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas na região

Tabela 6 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 2 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001. São Paulo- 2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	64/135	54,81	[46,32 - 63,04]
Associação Hardjo/Wolffi	27/135	20,00	[14,06 - 27,64]
Grippotyphosa	16/135	11,85	[7,37 - 18,52]
Shermani	8/135	5,93	[2,98 - 11,44]
Autumnalis	3/135	2,22	[0,71 - 6,70]
Bratislava	2/135	1,48	[0,37 - 5,77]
Wolffi	2/135	1,48	[0,37 - 5,77]
Australis	1/135	0,74	[0,10 - 5,12]
Canicola	1/135	0,74	[0,10 - 5,12]
Pomona	1/135	0,74	[0,10 - 5,12]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas na região

Tabela 7 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 3 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo- 2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	62/108	57,41	[47,87 - 6,43]
Associação Hardjo/Wolffi	24/108	22,22	[15,33 - 31,08]
Shermani	9/108	8,33	[4,37 - 15,30]
Autumnalis	6/108	5,56	[2,50 - 11,87]
Australis	2/108	1,85	[0,46 - 7,16]
Bratislava	2/108	1,85	[0,46 - 22,22]
Canicola	1/108	0,93	[0,13 - 6,35]
Pomona	1/108	0,93	[0,13 - 6,35]
Wolffi	1/108	0,93	[0,13 - 6,35]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas na região

Tabela 8 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 4 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo-2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	71/117	60,68	[51,52 - 69,15]
Associação Hardjo/Wolffi	28/117	23,93	[17,03 - 32,54]
Shermani	8/117	6,84	[3,44 - 13,13]
Australis	2/117	1,71	[0,42 - 6,63]
Icterohaemorrhagiae	2/117	1,71	[0,42 - 6,63]
Autumnalis	1/117	0,85	[0,12 - 5,88]
Bratislava	1/117	0,85	[0,12 - 5,88]
Copenhageni	1/117	0,85	[0,12 - 5,88]
Hebdomadis	1/117	0,85	[0,12 - 5,88]
Pomona	1/117	0,85	[0,12 - 5,88]
Sentot	1/117	0,85	[0,12 - 5,88]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas na região

Tabela 9 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 5 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo-2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	27/74	36,49%	[26,28 - 48,08]
Associação Hardjo/Wolffi	16/74	21,62%	[13,63 - 32,53]
Shermani	10/74	13,51%	[7,39 - 23,43]
Grippotyphosa	5/74	6,76%	[2,82 - 15,33]
Australis	3/74	4,05%	[1,30 - 11,93]
Autumnalis	3/74	4,05%	[1,30 - 11,93]
Canicola	2/74	2,70%	[0,67 - 10,28]
Hebdomadis	2/74	2,70%	[0,67 - 10,28]
Bratislava	1/74	1,35%	[0,19 - 9,11]
Copenhageni	1/74	1,35%	[0,19 - 9,11]
Icterohaemorrhagiae	1/74	1,35%	[0,19 - 9,11]
Pomona	1/74	1,35%	[0,19 - 9,11]
Pyrogenes	1/74	1,35%	[0,19 - 9,11]
Wolffi	1/74	1,35%	[0,19 - 9,11]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas na região

Tabela 10 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 6 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo-2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	52/88	57,95	[47,36 - 67,86]
Associação Hardjo/Wolffi	25/88	28,41	[19,92 - 38,76]
Bratislava	5/88	5,68	[2,37 - 13,01]
Shermani	3/88	3,41	[1,09 - 10,12]
Grippotyphosa	2/88	2,27	[0,56 - 8,72]
Autumnalis	1/88	1,14	[0,16 - 7,73]
Whitcombi	1/88	1,14	[0,16 - 7,73]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas na região

Tabela 11 - Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em fêmeas bovinas originárias de propriedades da região 7 do Estado de São Paulo, durante o período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo-2006

Sorovar	N	Frequência (%)	IC 95% (%)
Hardjo	38/76	50,00	[38,86 - 61,14]
Shermani	10/76	13,16	[7,19 - 22,86]
Associação Hardjo/Wolffi	8/76	10,53	[5,32 - 19,76]
Autumnalis	5/76	6,58	[2,74 - 14,95]
Pomona	5/76	6,58	[2,74 - 14,95]
Hebdomadis	3/76	3,95	[1,27 - 11,63]
Bratislava	2/76	2,63	[0,65 - 10,02]
Castellonis	2/76	2,63	[0,65 - 10,02]
Icterohaemorrhagiae	2/76	2,63	[0,65 - 10,02]
Pyrogenes	1/76	1,32	[0,18 - 8,88]

N= propriedades com pelo menos um animal reagente para o sorovar sobre o número de total de propriedades positivas na região

As tabelas 12 e 13 referem-se aos dados obtidos no questionário aplicado por ocasião da colheita das amostras sanguíneas. A tabela 12 associa a presença de animais silvestres e a sorovariedade de *Leptospira* spp. nas propriedades rurais, observando-se que a capivara foi o animal silvestre mais citado no questionário, sendo particularmente freqüente nas regiões 5 (35,1% IC 95%= 28,3 - 42,6) e 3 (34,4% IC 95%= 27,4 - 42,1), do Estado de São Paulo. Denota-se que também foram referidas em menor número as presenças de cervídeos e outras espécies de silvestres.

Tabela 12 - Ocorrência de animais silvestres nas propriedades segundo as regiões e o Estado de São Paulo.-São Paulo – 2006

Região	Cervídeos			Capivaras			Outros animais silvestres		
	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%
1	4/148	2,7	[1,0 - 7,0]	25/148	16,9	[11,7 - 23,8]	7/148	4,7	[2,3 - 9,6]
2	8/166	4,8	[2,4 - 9,4]	38/166	22,9	[17,1 - 29,9]	8/166	4,8	[2,4 - 9,4]
3	26/160	16,3	[11,3 - 22,8]	55/160	34,4	[27,4 - 42,1]	28/160	17,5	[12,3 - 24,2]
4	35/153	22,9	[16,9 - 30,2]	35/153	22,9	[16,9 - 30,2]	18/153	11,8	[7,5 - 17,9]
5	33/171	19,3	[14,0 - 25,9]	60/171	35,1	[28,3 - 42,6]	22/171	12,9	[8,6 - 18,8]
6	21/134	15,7	[10,4 - 22,9]	28/134	20,9	[14,8 - 28,6]	16/134	11,9	[7,4 - 18,6]
7	8/89	9,0	[4,5 - 17,0]	22/89	24,7	[16,8 - 34,8]	6/89	6,7	[3,0 - 14,3]
SP	135/1021	11,8	[10,0 - 13,9]	263/1021	25,5	[22,9 - 28,4]	105/1021	9,9	[8,2 - 11,9]

Outras espécies domésticas, além dos bovinos, foram apontadas como

presentes nas propriedades. Observa-se praticamente o empate entre o relato de cães com 82,5% (IC 95% =79,9 - 84,8) e eqüinos com 82,9% (IC 95%=80,4 – 85,1), seguidos pela de suínos (48,0% IC 95%= 44,9 - 51,2) e ovinos ou caprinos com 16,8% (IC 95% = 14,5 - 19,3.).

Tabela 13 - Ocorrência de outros animais domésticos nas propriedades segundo as regiões e o Estado de São Paulo.-São Paulo- 2006

R	Ovinos/caprinos			Eqüinos			Suínos			Cães		
	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%
1	30/148	20,3	[14,5 - 27,6]	128/148	86,5	[79,9 - 91,1]	65/148	43,9	[36,1 - 52,0]	119/148	80,4	[73,2 - 86,1]
2	29/166	17,5	[12,4 - 24,0]	141/166	84,9	[78,6 - 89,6]	94/166	56,6	[49,0 - 64,0]	114/166	68,7	[61,2 - 75,3]
3	30/160	18,8	[13,4 - 25,6]	135/160	84,4	[77,9 - 89,2]	90/160	56,3	[48,4 - 63,8]	138/160	86,3	[80,0 - 90,8]
4	27/153	17,6	[12,4 - 24,5]	115/153	75,2	[67,7 - 81,4]	62/153	40,5	[33,0 - 48,5]	130/153	85,0	[78,4 - 89,8]
5	25/171	14,6	[10,1 - 20,8]	130/171	76,0	[69,0 - 81,9]	74/171	43,3	[36,0 - 50,8]	153/171	89,5	[83,9 - 93,3]
6	21/134	15,7	[10,4 - 22,9]	116/134	86,6	[79,6 - 91,4]	54/134	40,3	[32,3 - 48,8]	123/134	91,8	[85,7 - 95,4]
7	4/89	4,5	[1,7 - 11,4]	72/89	80,9	[71,3 - 87,8]	37/89	41,6	[31,8 - 52,1]	79/89	88,8	[80,3 - 93,9]
S P	166/ 1021	16,8	[14,5 - 19,3]	837/ 1021	82,9	[80,4 - 85,1]	476/ 1021	48	[44,9 - 51,2]	856/ 1021	82,5	[79,9 - 84,8]

Legenda: R- região; N- número de animais da espécie sobre o número de propriedades da região

Do total de informações obtidas no questionário, cinco delas compuseram a lista dos prováveis fatores de risco para a ocorrência da leptospirose em bovinos das propriedades rurais do estado de São Paulo (tabelas 14 e 15). Dentre elas destacam-se o tamanho do rebanho, compartilhamento de pastagem, compra de

reprodutores, criação de outras espécies domésticas como suínos, ovinos e caprinos e o uso de inseminação artificial.

A tabela 14 apresenta a relação entre as variáveis selecionadas para o estudo e a positividade para a leptospirose para qualquer um dos sorovares da bateria antigênica em relação à região do estado, onde o tamanho do rebanho aparece como o mais provável fator de risco associado à presença de aglutininas contra leptospirose bovina (OR 3,03). O emprego de inseminação artificial como protocolo reprodutivo (OR 2,50), a compra de reprodutores de outras fazendas (OR 1,78) e o compartilhamento de pastagem (OR 1,80) também apontam contribuir para infecção por leptospiros. Na região 1, destacou-se a presença de suínos 1 (OR 3,89). A utilização de piquete maternidade aparece como fator protetor contra infecção por qualquer sorovar de *Leptospira* spp. nas regiões 1 e 4 (OR 0,28 e 0,34 respectivamente).

Tabela 14- Fatores de risco para leptospirose em propriedades que apresentaram pelo menos um animal reagente para qualquer sorovar de *Leptospira* spp., segundo as regiões do Estado de São Paulo, no período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo – 2006

Região	Fator de risco	propriedades positivas	propriedades negativas	Odds Ratio	IC 95%	p
1	Tamanho do rebanho > 66 animais	66/120	8/28	3,96	1,51 - 10,41	0,005
	Presença de suínos	58/120	7/28	3,89	1,41 - 10,68	0,009
	Existência de piquetes de parição	28/117	13/28	0,28	0,11 - 0,71	0,007
2	Tamanho do rebanho > 35 animais	71/135	8/31	3,15	1,31 – 7,53	0,010
3	Tamanho do rebanho > 33 animais	63/108	16/52	3,35	1,62 – 6,91	0,001
4	Tamanho do rebanho > 43 animais	42/71	32/82	3,31	1,58 – 6,94	0,002
	Existência de piquetes de parição *	18/70	32/81	0,34	0,15 – 0,76	0,008
5	Tamanho do rebanho > 24 animais	48/74	36/97	2,60	1,32 – 5,10	0,006
	Utilizar inseminação artificial	11/72	2/95	5,51	1,11 – 27,3	0,037
	Comprar reprodutores de outras fazendas	27/74	15/97	2,89	1,34 – 6,24	0,007
6	Tamanho do rebanho > 27 animais	57/88	8/46	7,43	3,01 – 18,31	< 0,001
	Comprar reprodutores de outras fazendas	34/88	5/46	3,80	1,27 – 11,37	0,017
7	Tamanho do rebanho > 44 animais	41/76	3/13	4,11	1,004 – 11,82	< 0,049
Total	Tamanho do rebanho > 36 animais	418/718	89/303	3,03	2,22 – 4,11	< 0,001
	Utilizar inseminação artificial	65/687	8/286	2,50	1,16 – 5,41	0,020
	Comprar reprodutores de outras fazendas	231/718	49/303	1,78	1,23 – 2,55	0,002
	Compartilhar pastos	78/710	17/302	1,80	1,01 – 3,21	0,047

* fator de proteção

A Tabela 15 apresenta a relação entre as variáveis selecionadas e a soropositividade para *Leptospira* spp. sorovar Hardjo, onde também o tamanho do rebanho aparece como fator de risco (OR 1,97). Outras características, como a

criação de ovinos e caprinos na região 5 (OR 3,23), a criação de suínos na região 6 (OR 2,12), a compra de reprodutores de outras propriedades nas regiões 5 e 6 (OR 3,13 e 2,63 respectivamente) são imputados como fatores de risco. A utilização de piquete maternidade reaparece como fator protetor contra o sorovar Hardjo na região 4 (OR 0,34).

Tabela 15 - Fatores de risco para leptospirose em propriedades que apresentaram soroprevalência para o sorovar Hardjo, segundo as regiões do Estado de São Paulo, no período de outubro a dezembro de 2001-São Paulo – 2006

Região	Fator de risco	propriedades positivas	propriedades negativas	Odds Ratio	IC 95%	p
1	Tamanho do rebanho > 66 animais	47/70	27/70	2,28	1,17 – 4,45	0,016
3	Tamanho do rebanho > 33 animais	40/62	28/98	4,96	2,46 – 10,01	< 0,001
4	Tamanho do rebanho > 43 animais	42/71	32/82	3,31	1,58 – 6,94	0,002
	Existência de piquetes de parição*	18/70	32/81	0,34	0,15 – 0,76	0,008
5	Criar ovinos/caprinos	9/27	16/144	3,23	1,19 – 8,72	0,021
	Comprar reprodutores de outras fazendas	13/27	29/144	3,13	1,29 – 7,58	0,012
6	Tamanho do rebanho > 27 animais	33/52	32/82	2,19	1,03 – 4,69	0,049
	Criar suínos	27/52	27/82	2,12	1,02 – 4,49	0,048
	Comprar reprodutores de outras fazendas	23/52	16/82	2,63	1,17 – 5,96	0,020
Total	Tamanho do rebanho > 36 animais	241/401	266/620	1,97	1,53 – 2,55	< 0,001

* fator de proteção

A ocorrência de abortamentos relacionada à presença de bovinos reatores para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. não foi observada com significância em todas as regiões do Estado de São Paulo (Tabela 16).

Tabela 16 - Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em fêmeas bovinas com idade \geq a 24 meses em relação a ocorrência de abortamento, segundo a região do Estado de São Paulo – São Paulo – 2006

Região	Sorologia SAM	Histórico de abortamento					
		Sim			Não		
		N	%	IC 95% (%)	N	%	IC 95% (%)
1	Positiva	2/7	22,8	[3,3 – 71,9]	568/1312	52,1	[38,0 – 66,0]
	Negativa	5/7	77,2	[28,1 – 96,7]	744/1312	47,9	[34,0 – 62,0]
2	Positiva	4/17	13,6	[2,7 – 47,5]	604/1308	43,1	[35,6 – 50,9]
	Negativa	13/17	86,4	[52,2 – 97,3]	704/1308	56,9	[49,1 – 64,4]
3	Positiva	8/20	70,9	[38,0 – 90,6]	550/1372	57,8	[51,4 – 64,0]
	Negativa	12/20	29,1	[9,4 – 62,0]	822/1372	42,2	[36,0 – 48,6]
4	Positiva	6/13	46,5	[20,5 – 74,5]	566/1190	50,9	[41,3 – 60,5]
	Negativa	7/13	53,5	[25,5 – 79,5]	624/1190	49,1	[39,5 – 58,7]
5	Positiva	3/18	12,5	[2,3 – 46,5]	239/1058	28,5	[18,4 – 41,1]
	Negativa	15/18	87,5	[53,5 – 97,7]	819/1058	71,5	[58,6 – 81,6]
6	Positiva	24/58	49,1	[33,9 – 64,5]	337/914	45,5	[40,0 – 51,2]
	Negativa	34/58	50,9	[35,5 – 66,1]	577/914	54,5	[48,8 – 60,0]
7	Positiva	16/30	58,9	[35,3 – 79,0]	325/693	54,3	[46,3 – 62,1]
	Negativa	14/30	41,1	[21,0 – 64,7]	368/693	45,7	[37,9 – 53,7]
Estado	Positiva	63/163	42,4	[29,7 – 56,1]	3189/7847	49,5	[44,4 – 54,6]
	Negativa	100/163	57,6	[43,9 – 70,3]	4658/7847	50,5	[45,4 – 55,6]

N= número de animais positivos ou negativos na SAM sobre o número relatado de abortamentos .

Na tabela 17 está expressa a presença de aglutininas contra *Leptospira* spp. em relação à ocorrência de abortamento num prazo pregresso de 12 meses do início do presente inquérito. Estatisticamente significativa, a região três associa a soroprevalência de leptospirose nas propriedades e o relato de abortamentos ($p = 0,008$).

Tabela 17-Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em propriedades rurais em relação a ocorrência de abortamentos nos 12 meses que antecederam as colheitas de sangue, segundo a região do Estado de São Paulo-São Paulo – 2006

Região	Condição sanitária	Ocorrência de abortamentos					
		Sim			Não		
		N	%	IC 95% (%)	N	%	IC 95% (%)
1	Positiva	7/9	77,8	[41,9 – 94,4]	98/120	81,7	[73,7 – 87,6]
	Negativa	2/9	22,2	[5,6 – 58,1]	22/120	18,3	[12,4 – 26,3]
2	Positiva	12/17	70,6	[45,7 – 87,2]	110/134	82,1	[74,6 – 87,7]
	Negativa	5/17	29,4	[2,8 – 54,3]	24/134	17,9	[12,3 – 25,4]
3	Positiva	18/19	94,7*	[70,4 – 99,3]	87/136	64,0	[55,5 – 71,6]
	Negativa	1/19	5,3	[0,7 – 29,6]	49/136	36,0	[28,4 – 44,5]
4	Positiva	18/22	81,8	[60,2 – 93,0]	94/124	75,8	[67,5 – 82,6]
	Negativa	4/22	18,2	[7,0 – 39,8]	30/124	24,2	[17,4 – 32,5]
5	Positiva	15/29	51,7	[34,0 – 69,0]	58/137	42,3	[34,3 – 50,8]
	Negativa	14/29	48,3	[31,0 – 66,0]	79/137	57,7	[49,2 – 65,7]
6	Positiva	14/20	70,0	[47,2 – 85,9]	66/104	63,5	[53,8 – 72,2]
	Negativa	6/20	30,0	[14,1 – 52,8]	38/104	36,5	[27,8 – 46,2]
7	Positiva	21/24	87,5	[67,4 – 95,9]	47/55	85,5	[73,4 – 92,6]
	Negativa	3/24	12,5	[4,1 – 32,6]	8/55	14,5	[7,4 – 26,6]
SP	Positiva	105/140	75,3	[67,2 – 81,8]	560/810	70,3	[67,1 – 73,3]
	Negativa	35/140	24,7	[8,2 – 32,8]	250/810	29,7	[26,7 – 32,9]

N= Condição sanitária do rebanho (positiva ou negativa) na leptospirose, sobre a ocorrência de abortamento na propriedade .

5 DISCUSSÃO

Segundo o IEA – Instituto de Economia Agrícola da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo e o LUPA -Levantamento das Unidades de Produção Agrícola, São Paulo possuía em 2001 o contingente de 13.150 milhões de cabeças de bovinos distribuídas em 304.038 propriedades rurais. De acordo com a Coordenadoria Assistência Técnica Integral (CATI), os rebanhos de corte de criação extensiva estão concentrados nos circuitos 1, parte do 2 e 3; os plantéis de leite nos circuitos 5 e 7 e os rebanhos de dupla aptidão permeiam todo o estado. Como consequência do manejo extensivo de corte, as regiões 1, parte da 2 e 3 concentram o maior número de fêmeas em idade reprodutiva, com idade igual ou superior a 24 meses. A exploração leiteira exige maior tecnificação, os rebanhos são menores e de criação confinada ou semi-confinada, características observadas nas regiões 5 e 7 (anexos A, B e C).

O questionário utilizado no PNCBT foi direcionado para a determinação da prevalência de brucelose bovina no Estado de São Paulo e como tal, as questões elaboradas se ativeram ao reconhecimento de focos desta enfermidade, portanto nem sempre contemplavam as informações importantes para averiguação da infecção por leptospiros. Um exemplo claro deste fato é a negativa em 72,8% das respostas da ocorrência de áreas alagadas nas propriedades investigadas (DIAS, 2004); para o estudo da leptospirose teria sido mais adequado inquirir sobre o acesso dos animais a águas de superfície de qualquer tipo e dimensão.

Ainda com relação à colheita das amostras sorológicas para brucelose, estas foram dirigidas para fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, não

contemplando bezerras e machos, de onde se conclui que esta informação não foi considerada no presente estudo.

Diferentemente das provas sorológicas utilizadas no PNCEBT, capazes de estabelecer o diagnóstico de focos de brucelose, desde que aplicadas após o período de resíduo de anticorpos vacinais, a SAM pode detectar anticorpos vacinais e, portanto resultados falso positivos.

As vacinas disponíveis no mercado são bacterinas inativadas baseadas na proteção dirigida ao antígeno LPS das leptospiras, ressaltando-se sua interferência na SAM por cerca de seis meses após a vacinação (DE NARDI, 2005; REUDENSTEIN; HEIN, 1991), o que poderia em algum momento deste estudo ter sido considerada como resposta sorológica positiva, uma vez que a informação de vacinação contra leptospirose não foi objeto do questionário. Porém, de acordo com o Mercado Nacional de Vacinas, o comércio de vacinas anti-leptospira encontra-se estagnado há algum tempo e em 2005 foram vendidas, 178.000 doses contra a leptospirose (comunicação pessoal¹). Para o contingente de bovinos do Estado de São Paulo, de aproximadamente 14.500.000 de cabeças, significa cobertura de 1,3% de doses, provavelmente de baixo impacto sobre a soroprevalência neste estudo.

1-Informação fornecida por Marchiori em São Paulo, em 2006

A SAM, além de ser uma prova tardia na detecção de anticorpos no início da infecção, necessitando de 7-10 dias pós infecção para que o sinal aglutinante seja observado; não diferencia anticorpos residuais por infecção/doença progressa, necessitando de pelo menos duas tomadas sorológicas com intervalo de cerca de 20 dias para que seja observada a soroconversão ou a quadruplicação de títulos de aglutininas.

A disseminação das leptospiros nas criações é caracterizada pela ocorrência de animais doentes ou portadores assintomáticos, que eliminam pela urina o microrganismo por períodos variáveis, mas raramente apresentam anticorpos detectáveis na SAM e portanto não revelados nos inquéritos sorológicos.

A aplicação da SAM para detecção dos anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 8.216 soros de fêmeas bovinas em idade reprodutiva, provenientes de 1.021 propriedades permitiu a visualização da abrangência e da disseminação da infecção por leptospiros pelo do Estado de São Paulo e, principalmente, as sorovariedades prevalentes (Tabelas 5 a 11). Além disto, diante dos resultados da SAM, pôde se relacionar os fatores de risco para a leptospirose bovina e as conseqüências sobre a reprodução como o abortamento.

Segundo as análises do presente estudo, a infecção por leptospiros está presente em todas as sete regiões em que o Estado de São Paulo foi dividido, em 49,4% das fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses e em 71,3% das propriedades amostradas (Tabelas 1 e 3), o que demonstra seu caráter endêmico. A maior freqüência de propriedades positivas ocorreu na região 7 (85,4% IC 95% = 76,4 - 91,4) , seguida das regiões 2, 1, 4, 3, 6 e 5. A menor sorovariedade detectada pela SAM ocorreu na região 6 (6 sorovares) e a maior (13 sorovares), na região 5.

Cada sorovar tem um ou mais hospedeiros em diferentes graus de adaptação. Com epidemiologia complexa, que envolve diferentes espécies suscetíveis, grande número de soroviedades e a presença de fatores ambientais, a leptospirose deve ser estudada respeitando as diferenças regionais (ELLIS, 1984). Neste inquérito, 19 de 22 sorovares contidos na bateria antigênica foram detectados nas amostras sorológicas das fêmeas analisadas (Tabela 2) e 17 foram evidenciados nas sete regiões, sendo que o menor número de sorovares detectados nas propriedades pela SAM ocorreu na região 6 (6 sorovares) e o maior número (13 sorovares), na região 5. (Tabelas 5 a 10). Neste aspecto, fica clara a importância da abrangência de soroviedades antigênicas utilizadas na SAM, pois somente desta forma podem ser percebidas as mudanças ou flutuações nos perfis sorológicos de uma população, região ou mesmo país e a correta instituição de vacinas protetoras sorovar específicas, até que surjam no mercado, vacinas recombinantes e gênero específicas.

Leptospira spp. sorovar Hardjo foi o mais freqüente (46,0%) no total de 3.338 animais reatores, seguida por sua associação com o sorovar Wolffi (21,0%) e na seqüência pelos sorovares Shermani, Autumnalis e Grippytyphosa, 8,98%, 4,46% e 3,95%, respectivamente (Tabela 2). Similarmente, nas 718 propriedades reagentes, os sorovares: Hardjo (55,18%), sua associação com o sorovar Wolffi (20,18%) e, em seguida, Shermani (7,97%), Grippytyphosa (4,41%) e Autumnalis (3,17%) como se observa na tabela 4.

Uma consideração quanto à nomenclatura aqui utilizada quando da citação da *Leptospira* spp. sorovar Hardjo, sem mencionar a espécie, deve-se a falta de identificação da genoespécie circulante (*Leptospira santarosai* e *Leptospira*

borgpetersenii e as estirpes Hardjobovis e Hardjoprajitno) entre os rebanhos nacionais, uma vez que a única estirpe isolada (genótipo Hardjoprajitno-amostra Norma) deve-se a Moreira, (1994) .

Deve-se ainda salientar que a estirpe Guaricura, isolada pela primeira vez no Brasil em 1967 por Santa Rosa et al. e por Vasconcellos et al. (2001) que, como a Hardjo, pertence ao sorogrupo Sejroe e considerada endêmica no Brasil (comunicação pessoal ²), poderia suscitar respostas sorológicas cruzadas na SAM. Como esta estirpe não constou da bateria antigênica empregada neste estudo, maiores considerações não podem ser inferidas.

No presente estudo, a distribuição praticamente homogênea da *Leptospira* spp. sorovar Hardjo parece ser independente das diferentes condições de cada região, do tipo de exploração do rebanho e das práticas de reprodução, discordante do que citam Prescott et al., (1988) que apontam os rebanhos de exploração de corte como mais suscetíveis ao sorovar Hardjo do que os rebanhos leiteiros, possivelmente relacionadas às diferenças de manejo.

Fávero (2000), Genovez et al. (2004), Langoni et al. (1999), e Vasconcellos et al. (1997), verificaram a ocorrência de *Leptospira* spp. no Estado de São Paulo com a relevante presença do sorovar Hardjo nas reações da SAM. Estes resultados discordam dos obtidos por Langoni et al. (2000), onde houve prevalência do sorovar Wolffi, estando o sorovar Hardjo em segundo lugar.

Nas demais regiões do país, a freqüência de anticorpos anti-*Leptospira* também é assinalada pela significativa presença do sorovar Hardjo em vários estados do Brasil, como analisaram Madruga et al. (1980) no Mato Grosso do Sul, Moreira et al.(1979), Almeida et al. (1988) e Araujo et al., 2005 na região de Minas Gerais, Brod et al.,1994 no Rio Grande do Sul, Fávero et al.(2000), Oliveira et al. (2001) no Estado de Pernambuco, Homem et al. (2001) na Amazônia oriental, Lilembaum e Souza (2003) no Rio de Janeiro.

Causador de infecções entre bovinos de todo o mundo, o sorovar Hardjo é também relatado como prevalente em rebanhos de outros países.

Na Austrália, Holroyd e Smith (1976), relacionaram este sorovar com a queda na produção leiteira e Milner et al. (1980) determinaram o sorovar Hardjo como o prevalente em 24,8% da região metropolitana e 56,3% da região rural. Em Ontário, Prescott et al. (1988), verificaram a relação entre a leptospirose e abortamentos assinalando evidências de infecção pelo sorovar Hardjo em 44,2% dos animais de rebanho de corte e em 8,4% dos animais de rebanho leiteiro. Na Nigéria, Ezeh et al. (1990) analisaram mais de 1500 soros de bovinos e obtiveram 14,4% de animais com anticorpos contra *Leptospira*, tendo o sorovar Hardjo (35,6%) como o prevalente. Recentemente, em 2005, Odontsetseg et al. estudaram a infecção por *Leptospira* spp. sorovar Hardjo em três regiões da Mongólia em animais de dupla aptidão e concordantes com a literatura mundial, concluíram que o sorovar Hardjo apresenta elevada prevalência e que sua transmissão na Mongólia também ocorre entre bovinos. Em contrapartida, na Espanha, Alonso-Andicoberry et al. (2001) verificaram a prevalência da sorovariabilidade Bratislava, mas também seguida pelo sorovar Hardjo.

Por pertencerem ao mesmo sorogrupo e, portanto, possuírem afinidades antigênicas, os sorovares Hardjo e Wolffi podem ocorrer em associação (FAINE, 1982). Esta associação praticamente foi verificada em todas as regiões do Estado (20,18%), embora a ocorrência de Wolffi de forma isolada mostrou-se bastante inferior (0,99%) à de Hardjo (55,18%) (tabela 4). O empate sorológico entre Hardjo e Wolffi não foi desconsiderado da análise com o intuito de se conhecer a frequência de reações cruzadas entre eles e a importância da inclusão dos dois sorovares na bateria antigênica.

Em 1970, Santa Rosa et al, relataram em nove anos de estudo sorológico da leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo, elevada prevalência do sorovar Wolffi em amostras de bovinos e bubalinos oriundas de vários Estados do Brasil. Da mesma forma, reunindo resultados de sete anos de leptospirose neste mesmo instituto, Giorgi et al. (1981b), verificaram a prevalência do sorovar Wolffi em amostras sorológicas de bovinos; contudo, o sorovar Hardjo não constava da bateria antigênica de ambos os trabalhos.

O sorovar Wolffi foi apenas incluído na bateria antigênica para diagnóstico da leptospirose no Brasil a partir do primeiro isolamento de um paciente do Hospital Emílio Ribas por Corrêa et al., (1965) e a partir desta data tem reagido sistematicamente com soros bovinos. Embora não conste o isolamento do sorovar Wolffi de bovinos, um relato de isolamento deste sorovar foi reportado por Genovez et al. (1984) de um camundongo capturado no porto de Santos.

Além da presença do sorovar Hardjo, cuja transmissão usualmente ocorre de bovino a bovino; em alguns rebanhos ou regiões poderia estar ocorrendo infecções incidentais pelos outros sorovares, cuja transmissão indireta está ligada ao contato

com o meio ambiente contaminado por leptospiros de espécies silvestres ou outras espécies domésticas, principalmente em situações edafoclimáticas tropicais.

Cervídeos, capivaras e outras espécies silvestres atuam como reservatórios de *Leptospira* spp. para os rebanhos ao encontrar o habitat satisfatório.

O sorovar, Shermani, que aparece nas regiões 1, 3, 4, 5 e 7 como o segundo mais freqüente vem reforçar a importância da ampla composição da bateria antigênica.

Este sorovar foi isolado pela primeira vez de um roedor (*Proechimys semispinosus*) no Panamá em 1982, segundo Oca² (1986 apud HOMEM, 2000). No Brasil, há relato de isolamento deste sorovar de roedores no Mato Grosso (LINS ; SANTA ROSA, 1976). Em bovinos do Paraná, (GIRALDI ,2003) e em Rondonia (AGUIAR, et al. 2006) evidenciaram na SAM o sorovar Shermani como o terceiro mais freqüente, precedido pelos sorovares Hardjo e Wollfi. Homem et al. (2000) na Amazônia oriental também relataram o sorovar Shermani em bovinos precedido pelos sorvares Hardjo e Bratislava.

Além da espécie bovina, a sorovarietade Shermani também foi descrita em suínos no município de Ibiúna, São Paulo, superada apenas pelo sorovar Hardjo, estirpe Hardjobovis (AZEVEDO et al., 2006).

O sorovar Grippytyphosa surge em três das sete regiões (1, 2 e 5), sendo que na região 2 é prevalente em relação ao sorovar Shermani, em segundo lugar.

2 OCA, O. Z .M.; SANCHEZ-MEJORADA, H. M.; GUERRERO, A. V .M. La rata em la epizootiologia de la leptospirosis em granjas porcinas **Téc. Pecu. México**, v. 52, p. 29-44, 1986.

Guida et al. (1959) relataram que a identificação da *Leptospira* sorovar Grippotyphosa, como agente etiológico da leptospirose no gado bovino, ocorreu na antiga União Soviética em 1946, nomeada primeiramente como *L. bovis*. Babudieri (1958) identificou como reservatório deste sorovar uma espécie de rato do campo (*Microtus arvalis*) e o associou a infecções em ovinos e caprinos.

No Brasil, o isolamento do sorovar Grippotyphosa em silvestres foi descrito por Lins e Lopes, em 1984 (*Dasypus novemcinctus*). Santa Rosa et al. (1975). Santa Rosa et al (1980), isolaram esta sorovarietade das espécies silvestres *Nectomys squamipes*, *Didelphis marsupialis*, *Oryzomys eliuurus*, *Thaptomes nigrita*, *Oryzomys ratticeps*, *Akodon arviculoides* e *Oxytmcterus quaesto*.

De Paula et al. (2001) isolaram o microrganismo do rim de quatro capivaras (*Hydrochoerus hydrocharis*) do Estado de São Paulo, inocularam o isolado em cobaios que foram sacrificados após 21 dias. As amostras sorológicas dos cobaios apresentaram reações positivas para o sorovar Grippotyphosa. Bersano et al, 2001, indicaram a capivara como reservatório de várias enfermidades entre elas a leptospirose, apontando o sorovar Grippotyphosa como soroprevalente.

Na Tabela 2, a frequência do sorovar Autumnalis (4,46%) no total de amostras sorológicas foi superior ao sorovar Grippotyphosa (3,95%) entretanto, na análise por propriedades ou regiões as frequências aparecem invertidas (Tabelas 5 a 11). Isto se deve ao fato de que os títulos sorológicos anti-*Leptospira* spp. sorovar Grippotyphosa foram superiores e considerados o provável infectante das propriedades.

Outros sorovares detectados na SAM foram Bratislava, Icterohaemorrhagiae Australis, Pomona, Hebdomadis, Castellonis, Canicola, Pyrogenes, Wolffii, Tarassovi,

Copenhageni, Butembo, Sentot, Panamá e Whitcombi. Nota-se a ausência de reação positiva para os sorovares Batavie e Cynopteri. Interessante notar que estes sorovares incidentais, não adaptados aos bovinos, e portanto potenciais causadores nesta espécie de surtos de leptospirose com quadro clínico severo, aparecem com frequência baixa, variando de 0,11 a 3,29% do total de fêmeas reagentes (Tabela 2).

Dentre os sorovares incidentais mais freqüentes destacam-se Icterohaemorrhagiae, Pomona e Canicola, pela elevada patogenicidade, causando sintomas clínicos graves como icterícia, hemorragias e morte. Em fêmeas prenhes o abortamento ocorre em grande número de animais do rebanho afetado.

Santa Rosa et al. (1961a) isolaram pela primeira vez no Brasil, o sorovar Icterohaemorrhagiae a partir de bovino, mas em 1947, a ocorrência deste sorovar em ratos havia sido informada por Santos no Rio de Janeiro.

Neste estudo, 1,88% das fêmeas apresentaram anticorpos aglutinantes para Icterohaemorrhagiae e dentre as propriedades positivas, em apenas 0,67% este sorovar foi imputado como infectante, o que concorda com os números do Estado de São Paulo apontados por outros autores.

Em São Paulo, Guida et al, (1959b) e Santa Rosa et al, (1961 b) de um total 763 bovinos, observaram 57 reagentes na SAM, sendo 30 (52%) para o sorovar Icterohaemorrhagiae. Neste último, Santa Rosa relata que os rebanhos apresentavam abortamentos, repetição de cios e infertilidade. Santa Rosa et al. (1969/70) de 15.080 amostras sorológicas de bovinos de São Paulo, 3.561 reagentes sendo 236 (0,06%) para este sorovar.

Teruya et al.(1981) analisando os resultados das 17.643 soroaglutinações microscópicas realizadas no Instituto Biológico em soros bovinos provenientes do Estado de São Paulo entre outros, no período de 1974-1980, observaram 2.736 reagentes, sendo 51 (1,86%) para o sorovar Icterohaemorrhagiae

Langoni et al. (2000) de 2761 amostras sorológicas analisadas de bovinos de várias raças, 1258 foram reagentes, sendo 50 (3,97%) para Icterohaemorrhagiae. Com relação ao sorovar Pomona, este foi pela primeira vez considerado como causa de abortamento no Brasil, especificamente em São Paulo, em bovinos por Freitas et al. (1957), tendo sido isolado de um feto abortado. Neste mesmo estudo, de um total de 150 amostras sorológicas, 18 foram positivas, entre elas 16 (80%) para o sorovar Pomona. Guida et al, (1959b) pesquisando aglutininas em 763 amostras de soro bovino observou 14/57 (0,018%) reagentes para a Pomona. Santa Rosa et al. (1969/70) examinando pela SAM um total de 15.080 soros bovinos de São Paulo, 3.561 mostraram-se reagentes, sendo 583 (15%) para este sorovar. Teruya et al.(1981) analisando um total de 17.643 soroaglutinações microscópicas realizadas no Instituto Biológico em soros bovinos provenientes do Estado de São Paulo entre outros, no período de 1974-1980, observaram 2.736 reagentes, sendo 703 (25 %) para o sorovar Pomona. E ainda Langoni et al. (2001) de 2761 amostras sorológicas analisadas de bovinos de várias raças, 1.258 foram reagentes, sendo 136 (10,8%) para Pomona.

Neste inquérito sorológico, 1,37% das fêmeas apresentaram anticorpos aglutinantes para Pomona e dentre as propriedades positivas, em apenas 1,02% este sorovar foi imputado como infectante, revelando uma mudança no perfil de infecção deste sorovar ao longo dos anos. Santa Rosa et al. (1969/70) relatam que

anteriormente a inclusão do sorovar Wolffi na bateria antigênica da SAM, o sorovar Pomona era o prevalente em bovinos.

O sorovar Canicola foi isolado pela primeira vez no Brasil em 1949 por Guida de um cão e posteriormente de um surto de leptospirose em uma granja suína Guida et al. (1959a). Analisando-se a ocorrência do sorovar Canicola das mesmas publicações acima citadas, tem-se que Guida et al. (1959b) obtiveram 2/57 (0,035%), Santa Rosa et al.(1969/70) 135/3561 (0,037%) e Teruya et al.(1981) 26/2.736 (0,009%) e Langoni et al.(2000) 326/1.258 (25,91%).

Também concordante com a maioria dos resultados anteriores, no presente estudo 0,92% das fêmeas apresentaram anticorpos aglutinantes para o sorovar Canicola e dentre as propriedades positivas, em apenas 0,86%.

Em resumo, os levantamentos sorológicos realizados ao longo dos anos em cidades ou regiões do Estado de São Paulo e publicados por diversos autores evidenciaram a presença da *Leptospira* spp., no entanto, denota-se diferenças nos pontos de corte da SAM adotados e composição da bateria antigênica, os quais podem interferir na comparação dos dados.

O estudo dos sorovares de *Leptospira* spp. em diferentes espécies animais pode sugerir a inter-relação entre eles. A presença de eqüinos foi identificada em todas as sete regiões do estado de São Paulo, sendo mais freqüente nas regiões 1 (86,5%) e 6 (86,6%) (Tabela 13). A utilização desta espécie como animal de serviço em rebanhos de corte explica esta condição na região 1 do Estado. Por existir estreito contato entre os eqüinos de lida e o gado de corte, a infecção por leptospiras pode estar diretamente relacionada ao tipo de criação e de atividade a que são submetidos. Genovez et al.(1995) obtiveram 33,6% de respostas sorológicas

positivas em eqüinos do município de Araçatuba, contemplada na intersecção entre as regiões 1 e 2 , com prevalência do sorovar Grippotyphosa. No presente estudo não houve associação entre a presença de eqüinos e a soropositividade para *Leptospira* spp. sorovar Grippotyphosa.

Na região 5, a criação de ovinos e caprinos parece ser importante na predisposição à infecção pelo sorovar Hardjo (tabela 14). Ovinos são considerados hospedeiros de manutenção de *Leptospira interrogans* (GERRITSEN et al. 1994). Embora os bovinos sejam os principais hospedeiros do sorovar Hardjo, o estreito convívio de ovinos com bovinos propicia a disseminação da leptospirose entre estas espécies. Outra forma de transmissão pode ser a alimentação de cordeiros com leite de vaca, o que se observa freqüentemente em casos de parição múltipla ou morte materna (HERRMANN et al., 2004).

Na região 6, a criação de suínos foi apontada como fator de risco para infecção pelo sorovar Hardjo (Tabela 14). Inquéritos sorológicos e surtos de abortamentos pelo sorovares Pomona, Hyos , Icterohaemorrhagiae e Canicola foram descritos por Guida et al. (1959a); Santa Rosa et al. (1962 a e b) ; Santa Rosa et al. (1969/70), Teruya et al.(1981), Giorgi et al.(1981 b); Vasconcellos et al. (1997) e Favero, (2000). Mesmo com a detecção de aglutininas anti-*Leptospira* spp. sorovares Shermani e Grippotyphosa em alguns rebanhos, não foi constatada associação com a criação de outras espécies domésticas. Somente na região 1 verificou-se haver alguma importância a presença de suínos e o sorovar Shermani. Azevedo (2006), relatou a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. sorovar Shermani em 16,6% das matrizes suínas analisadas, inferior apenas à freqüência do sorovar Hardjo (54,2%).

Teoricamente qualquer sorovar pode infectar qualquer espécie animal, mas na prática depende da presença de fatores de risco, que predispõem a entrada da infecção no rebanho. Usualmente a compra e trânsito de animais, compartilhamento de pasto com outras espécies como ovinos, acesso a rios, riachos, mananciais onde co-habitam outros rebanhos ou outras espécies e ainda a reposição de novilhas constituem-se fonte constante de infecção aos susceptíveis.

Verificando-se as respostas ao questionário observa-se que a questão - tamanho do rebanho – aparece como importante fator de risco para a infecção por leptospiros em qualquer uma das regiões. Mas ao ser analisado qual seria o número crítico de animais para o favorecimento ou predisposição à leptospirose nas propriedades amostradas, depara-se com 24 a 44 animais nas regiões de exploração predominantemente leiteira confinada (5 e 7), 33-66 animais nas regiões onde predominam rebanhos extensivos de corte (1, parte da 2 e 3) e de 27 a 33 nas regiões de gado misto, semi-confinado e geralmente menos tecnificado. Estes resultados apontados na análise estatística mostram que qualquer tamanho de rebanho estaria predisposto à infecção por leptospiros, uma vez que os números críticos de animais são muito reduzidos, e talvez não espelhem a média de rebanho paulista. Ou seja, os números observados na análise estatística indicam não haver diferença no tipo de exploração e manejo.

Portanto, parece que papel do bovino como disseminador do sorovar Hardjo num rebanho independe do tamanho, mas da possibilidade de contato entre os animais, e neste aspecto a densidade de cabeças por área de pastejo seria o facilitador na disseminação da infecção (ELLIS et al. ,1981; GENOVEZ et al., 2006).

Em contraste, a existência de piquetes maternidade em duas das regiões (1 e 4) surge como uma prática de manejo protetora contra a leptospirose (Tabela 14).

Nas regiões 5 e 6 a introdução de animais nas propriedades pela compra de reprodutores foi relevante fator de risco, o qual está de acordo com falhas na sanidade de qualquer rebanho onde as práticas preventivas não são cumpridas (Tabela 14).

O uso de inseminação artificial, que aparece como fator de risco para leptospirose, deve ser encarado com cuidado, pois são conhecidos o melhoramento genético e sobretudo o sanitário que esta tecnologia trouxe a reprodução de bovinos. Certamente, suas vantagens estão diretamente ligadas às condições de saúde do reprodutor e também ao controle de qualidade no manuseio do sêmen durante a industrialização, os quais são regidos por normas sanitárias internacionais determinadas pela OIE- World Organization for Animal Health e nacionais pelo MAPA-Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Interessante notar que no presente estudo a IA aparece como fator de risco na região 5, onde 2,4% dos produtores relatam seu emprego. Por outro lado, a região 4 com 6,2% de IA não foi apontada como fator de risco para leptospirose (Tabela 14).

Entretanto, nota-se coerência quanto às informações sobre o percentual de 1,86% de emprego da IA nos rebanhos bovinos paulistas como apontado no questionário, uma vez que a ASBIAS (Associação Brasileira de Inseminação Artificial) informa que em 2001 foram vendidas 6.870.000 de doses, o que corresponde a 9% de todo o rebanho nacional.

Sobre a possibilidade da ocorrência de abortamentos relacionados à infecção por qualquer sorovar de *Leptospira* spp., não foi observada diferença estatística

entre propriedades com e sem histórico de abortamento (Tabelas 16 e 17). Apenas levando-se em consideração a ocorrência de abortamentos no período de 12 meses anteriores ao inquérito, as fêmeas da região 3 despontaram significativamente ($p = 0,008$) (Tabela 17). Langoni et al., 1999, evidenciaram a relação da leptospirose com casos de abortamento, isolando leptospiras de rins provenientes de fetos abortados, sendo quatro delas identificadas como sendo o sorovar Hardjo, três como sorovar Pomona e oito como sorovar Wolffi.

Entretanto, a etiologia da mortalidade embrionária e fetal é multifatorial, podendo ser de causa infecciosa e não infecciosa. As causas não infecciosas representam a maioria dos casos de morte embrionária devidos a aberrações cromossômicas, deficiências nutricionais, desequilíbrio hormonal materno e fatores externos como estresse térmico e traumas. Enfermidades reprodutivas como brucelose, leptospirose, campilobacteriose genital bovina, tricomoníase, IBR/IPV, BVD, entre outras, ainda são problemas para os rebanhos nacionais. Além destes, muitos agentes de patogenicidade variada têm sido associados à ocorrência de abortamentos na espécie bovina (KIRKBRIDE, 1990; GENOVEZ et al., 2001).

A leptospirose bovina pelo sorovar Hardjo ocorre em todo o mundo, sendo apontada em vários países como causa de infertilidade e falhas reprodutivas. No Brasil se constitui em infecção endêmica, cujo impacto sobre as taxas reprodutivas necessita ainda de estudos principalmente em rebanhos leiteiros. Em rebanhos de corte, Genovez, et al. (2006) mostraram não haver diferença significativa entre taxa de prenhez e parição de fêmeas bovinas Nelore de criação extensiva que eram reagentes na SAM ou se soroconverteram para o sorovar Hardjo em relação àqueles que se mantiveram não reatores, ou seja não infectados durante três anos

de observação experimental. Resultado semelhante foi obtido por MADRUGA et al., 1982, os quais consideraram desnecessário o uso de vacinas contra leptospirose pelo sorovar Hardjo para a melhora do desempenho reprodutivo num rebanho Nelore extensivo.

Assim sendo, o sorovar Hardjo é o mais comumente implicado nos rebanhos bovinos brasileiros à semelhança do que ocorre mundialmente, entretanto, ainda é necessário o empenho dos pesquisadores e veterinários no sentido de obtenção de isolados de bovinos para que sejam investigados os genótipos de estirpes do sorovar Hardjo circulantes nos rebanhos nacionais, enfocando-se a adaptação e interação com o meio ambiente nas condições brasileiras de clima e manejo.

6 CONCLUSÃO

Analisando-se as respostas obtidas pela reação de Soroaglutinação Microscópica aplicada em amostras sorológicas de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses representativas do Estado de São Paulo, conclui-se que :

➤ a infecção por *Leptospira* spp. está presente em todo o Estado de São Paulo, com soroprevalência de 49,4%, distribuída pelas sete regiões em que o Estado foi sub-dividido;

➤ a prevalência por propriedade de infecção por *Leptospira* spp. no Estado de São Paulo foi de 71,3%, confirmando seu caráter endêmico nos rebanhos paulistas;

➤ a prevalência dos sorovares estabelecida por animal foi de Hardjo (46%), associação dos sorovares Hardo e Wolffi (21%) , sorovares Shermani (8,9%), Autumnalis (4,46%) e Grippotyphosa (3,9%);

➤ a prevalência dos sorovares estabelecida por propriedade foi de Hardjo (55,18%), associação dos sorovares Hardo e Wolffi (20,18%), sorovares Shermani (7,97%), Grippotyphosa (4,41%) e Autumnalis (3,17%);

- a distribuição da *Leptospira* sorovar Hardjo é praticamente homogênea em todas as regiões do estado de São Paulo e independente do tipo de exploração, manejo e das práticas de reprodução adotadas nos rebanhos;
- tamanho do rebanho, compra de animais, compartilhamento de pastagem, criação de ovinos e suínos e o uso de inseminação artificial foram apontados como fatores de risco em algumas regiões do estado, entretanto os fatores - tamanho de rebanho e uso de inseminação artificial- devem ser melhor analisados;
- a utilização de piquetes maternidade constituiu-se num fator de proteção contra a leptospirose;
- não houve correlação entre a ocorrência de abortamentos relacionados à infecção por qualquer sorovar de *Leptospira* spp., com exceção da região 3 onde este fator despontou significativamente.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animals**. 2. ed. Washington: OPAS, 1986 p.989.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animals**.. Bacteriosis y micosis. 3. ed. Washington: OPS, 2001.v. 1, 398 p.

AGUIAR, D. M. **Prevalência de anticorpos anti- neospora caninum, anti-brucella abortus e anti- leptospira spp. em bovinos da zona rural do município de monte negro, rondônia: estudo de possíveis fatores de risco**. 2004. 120 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas , Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

AGUIAR, D. M.; GENNARI, S. M.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; VASCONCELLOS, S. A.; RODRIGUES, A. A. R.; MORAES, Z. M.; CAMARGO, L. M. A. Soroprevalence of *Leptospira* spp. in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 102-104, abr/jun 2006.

ALMEIDA, S. C. A.; SILVA, P. L.; BARBOSA, F. C.; GOUVEIA, M. A. V.; OLIVEIRA, P R.; MANEDE, D. O. Levantamento sorológico em dois surtos de leptospirose bovina, em Uberlândia, Triângulo Mineiro. **Arquivos Brasileiros em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 40, n. 6, p. 415-423, 1988.

ALONSO-ANDICOBERRY, C.; GARCIA-PENA, F. J.; PEREIRA-BUENO, J.; COSTAS, E.; ORTEGA-MORA, L. M. Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. Seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, p.109-117, 2001.

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.

ARAUJO, 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. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.430-435, 2005.

ASBIA Associação Brasileira de Inseminação Artificial Disponível em: <<http://www.asbia.org.br/mercado>> Acesso em: set. 2006

AZEVEDO, S. S.; SOTO, R. M.; MORAIS, Z. M.; PINHEIRO, S. R.; VUADEN, E. R.; BATISTA, C. S. A.; SOUZA, G. O.; DELBEM, A. C. B.; GONÇALES, A. P.; VASCONCELLOS, S. A. Frequency of anti-leptospire agglutinins in sows from swine herd in the Ibiúna municipality, State of São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 73, n. 1, p. 97-100, 2006.

BABUDIARI, B. Animal reservoirs of leptospire. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 70, p. 393-413, 1958.

BERSANO, J. G.; VILLALOBOS, E. M. C.; PINHEIRO, E. S.; PAULIN, L. M.; CASTRO, V.; MIYASHIRO, S.; CUNHA, E. M. S.; PITUCO, E. M.; D' STEFANO, E.; OLIVEIRA, S. M.; GENOVEZ, M. E. Estudo sanitário preliminar de um grupo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) capturadas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA) e criadas em cativeiro. In CONGRESSO e X ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SILVESTRES, 5., 2001, São Paulo.

BINDER, W. D.; MERMEL, L. A. Leptospirosis in an urban setting: case report and review of an emerging infectious disease. **The Journal of Emergency Medicine**, v.16, n. 6, p. 851-856, 1998.

BLOOD, D. C.; HENDERSON, J. A.; RODOSTITS, O. M. **Clínica veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 554 p.

BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery. (Small Animal)**, v. 11, n. 3, p.166-171, 1996.

BOLIN, C. A.; THIERMANN, A. B.; HANDSAKER, A. L.; FOLEY, J. W. Effect of vaccination with a pentavalent leptospiral vaccine on *Leptospira interrogans* sorovar hardjo type hardjo-bovis infection of a pregnant cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, n. 1, p. 161-165, 1989.

BROD,C.S.;MARTINS,L.F.S.;NUSSBAUN,J.R.;FEHLBERG,M.F.B.;FURTADO,L.R.I.;ROSADO,R.L.I. Leptospirose bovina na região sul do estado do Rio Grande do Sul. **A hora veterinária**, v.14,p.15-20,1994.

CATI. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Disponível em:
< <http://www.cati.sp.gov.br/novacati>> Acesso em: set. 2006

COSTA, M. C. R.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; MARTINS, N. R. S. Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 1, p. 11-17, 1998.

CÔRTEZ, J. A. **Epidemiologia. Conceitos e princípios fundamentais**. São Paulo: Varela, 1993. 227 p.

DAVIDSON, K. R. *Leptospira hardjo* infection in man associated with outbreak in a dairy herd. **Australian Veterinary Journal**, v. 47, n. 8, p. 408, 1971.

DEAN, A. G. **EpiInfo**: A word-processing, database and statistic program for public health on IBM-compatible microcomputers. Version 6 Atlanta: Center for Diseases Control and prevention, 1994, 601 p.

DELBEM, A. C. B. **Purificação, caracterização e avaliação da capacidade imunogênica do lipopolissacarídeo (LPS) de *Leptospira* spp. Isolada no Brasil associado ao hidróxido de alumínio ou monofosforil lipídeo A como adjuvantes**, 2004. 117 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

DE NARDI, G. **Perfil sorológico de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em búfalas (*Bubalus bubalis*) vacinadas com tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose (Bacterina e Membrana externa)**. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005

DE PAULA, C. D.; MARVULO, M. F. V.; FERREIRA, P. M.; MORAIS, Z. M.; DELBEM, A. C. B.; FÁVERO, A. C. M.; MIRAGLIA, F.; CASTRO, V.; CARBONARI, M.; FERRAZ, K. P. M. B.; VERDADE, L. M.; GENOVEZ, M. E.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA NETO, J.S.; FERREIRA, F. Isolamento de leptospira em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre In CONGRESSO e X ENCONTRO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SILVESTRES, 5., 2001, São Paulo.

DHALIWAL, G. S.; MURRAY, R. D.; DOBSON, H.; MONTGOMERY, J.; ELLIS, W. A. Reduced conception rates in dairy cattle associated with serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo infection . **Veterinary Record**, Ag 3, p. 110-114, 1996.

DIAS, R. A. **Caracterização espacial da brucelose bovina no Estado de São Paulo**, 2004. 112 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

ELLIS, W. A. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine.**, v. 2, p. 411-421, 1984

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, v. 10, p. 463-478, 1994.

ELLIS, W. A.; MONTGOMERY, J.; CASSELLS, J. A. Dihydrostreptomycin treatment of bovine carriers of *Leptospira interrogans* serovar hardjo. **Research Veterinary Science**, v. 39, p. 292, 1985.

ELLIS, W. A.; O'BRIEN, J. J.; CASSELLS, J. Role of cattle in the maintenance of *Leptospira interrogans* serotype hardjo infection in Northern Ireland. **Veterinary Record**, v. 108, p. 555-557, 1981.

EZEH, A. O.; ADDO, P. B.; ADESIYUN, A. A.; BELLO, C. S.; MAKIND, A. A. Serological prevalence of bovine leptospirosis in Plateu State, Nigéria. **Revue d' Elevage de Medecine Veterinaire Pays Tropcauses**. v. 42, n. 4, p.505- 508, 1990.

FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization, 1982 171 p. (WHO off set Publication, 67).

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

FAVERO, A. C. M. **Estudo retrospectivo dos exames sorológicos de leptospirose realizados pelo laboratório de zoonoses bacterianas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no período de 1984 a 1997**. 2000. 115 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

FREITAS, D. C.; LACERDA J. R., P. M. G.; VEIGA, S. J.; LACERDA, J. P. Identificação da leptospirose bovina no Brasil. **Revista de Medicina Veterinária de São Paulo**, v. 6, f.1,1957.

FREUDENSTEIN, H.; HEIN, B. Potency of leptospiral vaccines and protection against chronic infection in golden hamsters. *Comparative Immunology. Microbiology and Infectious Diseases*, v.14, n. 3, p. 229-234, 1991.

GENOVEZ, M. E.; GIORGI, W.; TERUYA, J. M.; SILVA, A S. *Leptospira interrogans* sorotipo *wolffi* isolada de camundongo capturado no Porto de Santos. **O Biológico**, v. 50, n. 12, p. 295-297, 1984.

GENOVEZ, M. E.; CASTRO, V.; GREGORY, L.; DEL FAVA, C.; FERRARI, C.I. L.; LANÇA NETO, P.; SOUZA, M. R.; GOTTI, T.; 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 WORLD BUIATRIC CONGRESS , 24., Nice, França, 2006.

GENOVEZ, M.E.; OLIVEIRA, J.C.; CASTRO, V.; DEL FAVA, C.; FERRARI, C.I.L.; PITUCO, E.M.; SCARCELLI, E.; CARDOSO, M.V.; GRASSO, L.M.P.S.; SANTOS, S. Desempenho reprodutivo de um rebanho Nelore de criação extensiva com leptospirose endêmica: estudos preliminares. **Rev. Bras. Reprod. Animal**, v. 25; n. 2, p. 244-246, 2001.

GENOVEZ, M. E.; SCARCELLI, E.; PIATTI, R. M.; CASTRO, V.; FERRARI, C. I. L.; GRASSO, L. M. P. S.; CARDOSO, M. V. Polymerase Chain Reaction (PCR) as a fundamental tool in the diagnosis of endemic leptospirosis in a cattle herd. In CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 11, Foz do Iguaçu, Brasil, 2001a p.190.

GENOVEZ, M. E.; OLIVEIRA, J. C.; CASTRO, V.; FERRARI, C. I. L.; SACARCELLI, E.; CARDOSO, M. V.; GRASSO, L. M. P. S. Influência da vacinação na taxa de parição em rebanho Nelore com leptospirose endêmica. In CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28, 2001b, Salvador, BA, **Anais...**

GENOVEZ, M. E.; OLIVEIRA, J. C.; CASTRO, V.; FERRARI, C. I. L.; SCARCELLI, E.; CARDOSO, M. V.; GRASSO, L. M. P. S.; LANÇA NETO, P. Serological profile of a nelore herd presenting endemic leptospirosis and submitted to vaccination. In WORLD BUIATRIC CONGRESS, 12., 2002 Hannover, Alemanha , **Anais**

GENOVEZ, M. E.; OLIVEIRA, J. C .F.; CASTRO, V.; FERRARI, C. I. L.; SCARCELLI, E.; CARDOSO, M.V.; PAULIN, L. M.; LANÇA NETO, P. Serological profile of a nelore herd presenting endemic leptospirosis and submitted to vaccination. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.4, p. 411-416, 2004

GERRITSEN, M. J.; KOOPMANS, M. J.; PETERSE, D.; OLYHOEK, T. Sheep as maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar Hardjo subtype Hardjobovis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, p. 1232-1237, 1994.

GIORGI, W.; TERUYA, J. M.; MACRUZ, R.; GENOVEZ, M. E.; SILVA, A. S.; BORGIO, F. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **Revista do Instituto Biológico**, v. 47, n. 2, p. 47-53, 1981a.

GIORGI, W.; TERUYA, J. M.; SILVA, A. S; GENOVEZ, M. E. Leptospirose: resultados das soro-aglutinações realizadas no Instituto Biológico de São Paulo, durante os anos de 1974/1980. **Revista do Instituto Biológico**, v. 47, n. 11, p. 299-309, 1981b.

GIRALDI, N. **Avaliação da infecção por leptospira em fêmeas bovinas enviadas ao abate no Norte do Paraná, através de diferentes técnicas diagnósticas**, 2003. 75 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GUIDA, V. O.; CINTRA, M.L.;SANTA ROSA, C. A.; CALDAS, A .D. CORREA, M.O.; NATALE, V. Leptospirose Suína provocada pela *L. canicola* em São paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 26: p. 49-54, 1959 a.

GUIDA, V. O.; SANTA ROSA, C. A.; D'APICE, M.; CORREA, M. O.; NATALE, V. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira no soro de bovinos do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 26: p. 109-118, 1959 b.

GUIMARÃES, M. C.; CÔRTE, J. A.; VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H. Epidemiologia e controle da leptospirose bovina: papel de portador e seu controle terapêutico. **Revista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 6/7, p. 21-34, 1982.

GUITIAN, J.; THURMOND, M. C.; SHARON, K. H. Infertility and abortion among first-lactation dairy cows seropositive or seronegative for *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. **Journal of the American Medical Association** v. 215, n. 4, p. 515-518, 1999.

HANSON, L. E. Leptospirosis in domestic animals: The public health perspective. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 181, n. 12, p. 1505-1509, 1982.

HATHAWAY, S. C. Leptospirosis in New Zealand: an ecological view. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, p. 109-112, 1981.

HATHAWAY, S. C.; LITTLE, T. W. A.; PRITCHARD, D. G. Problems associated with the serological diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in bovine populations. **Veterinary Record**, v.119, p. 84-86, 1986.

HOLROYD, R. G.; SMITH, P. C. The effect of *Leptospira hardjo* vaccine in a Northern Queensland beef herd. **Australian Veterinary Research**, v. 52, n. 6, p. 258-260, 1976.

HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAES, Z. M.; VIANNA, M. C. B.; SILVA, S. M.; SAKAMOTO, S. M.; PINHEIRO, S. R.; VEIGA, J. B.; LAU, H. D.; QUANZ, D.; TOURRAND, J. F.; FERREIRA, F.; FERREIRANETO, J. S. Leptospirose bovina em Uruará, Município da Amazônia Oriental. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, n. 1, jan/jun. 2000.

HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAES, Z. M.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 2, p. 173-180, 2001.

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

HERRMANN, G. P.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; HADDAD, J. P. A.; RESENDE, J. R.; RODRIGUES, R.O.; LEIE, R. C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 34, n. 2, 2004.

KMETY, E.; DIKKEN, H. Classification of the species of *Leptospira interrogans* and the history of its serovars. A history of the publication of the serovars of leptospire, and a catalogue of their relationships. Groningen, Netherlands University Press Groningen: 1993 .

KIRKBRIDE, C.A. Laboratory Diagnosis of Livestock Abortion. Iowa State University Press, Ames, IA, 1990. 260 p.

LANGONI, H.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; CABRAL, K.G.; SILVA, A. V. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, n. 1, p. 37-41, 2000 .

LANGONI, H.; SOUZA, L. C.; SILVA, A. V.; LUVIZOTTO, M. C.R.; PAES, A. C.; LUCHEIS, S. B. Incidence of leptospiral abortion in Brazilian dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, p. 271-275, 1999.

LATORRE, M. R. D. O. Medidas de risco e regressão logística. In: MASSAD, E.; MENEZES, R. X.; SILVEIRA, P. S. P.; ORTEGA, N. R. S. **Métodos quantitativos em medicina**. Barueri: Manole, 2004. p. 337-350.

LEONARD, F. C.; QUINN, P. J.; ELLIS, W. A. Association between cessation of leptospiruria in cattle and urinary antibody levels. **Research in Veterinary Science**, v. 55, p.195, 1993.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2,p. 296-326, 2001.

LILENBAUM, W.; SOUZA, G. N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 75, p. 249-251, 2003.

LINS, Z. C.; LOPES, M. L. Isolation of *Leptospira* from wild forest animals in Amazonian Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, p.124-126, 1984.

LINS, Z. C.; SANTA ROSA, C. .A. Investigações epidemiológicas preliminares sobre leptospiroses em Humboldt, Aripuanã, Mato Grosso. **Acta Amazônica**, v. 6, n. 4, p. 46-53, 1976.

LITTLE, T. W. A.; HATHAWAY, S. C.; BROUGHTON, E.S.; SEAWRITHT, D. Control of *Leptospira* Hardjo infection in beef cattle by whole – herd vaccination. **Veterinary Record**, v.131, p. 90-92, 1992.

MADRUGA, C. R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. Freqüência de aglutininas anti-*leptospira* em bovinos de corte da região sul de cerrado do Estado do Mato Grosso. **Arquivos Escola Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 32, n. 2, p. 245, 249, 1980.

MADRUGA, C.R.; DIEDERICHSEN, W.; SCHENK, M.A.M. Efeito da infecção natural da *Leptospira interrogans* sobre o desempenho reprodutivo de vacas Nelore. **Com.Técnico**, 15, **Embrapa Gado de Corte**, dez, 1982.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO **Porposal or the enlargement of the food-and-mouth disease free zone, where vaccination is practiced**. Brasília: MAPA, 2000. 156 p.

MAPA: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose**. Brasília: MAPA, 2001. Disponível em: <[http:// www.agricultura.gov.br/sda/dda/inicial.htm](http://www.agricultura.gov.br/sda/dda/inicial.htm)>. Acesso em: 01.jul. 2005

MARSHALL, R. B.; BROUGHTON, E. S.; HELLSTROM, J.S. Protection of cattle against natural challenge with *Leptospira interrogans* serovar Hardjo using a Hardjo Pomona vaccine. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 27, p.114-116, 1979.

MILLER, D. A.; WILSON, M. A.; BERAN, G. W. Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection in mature cattle in the United States. **American Journal Veterinary Research**, v. 52, p.1761-1765, 1991.

MILNER, A. R.; WILKS, C. R.; CALVERT, K. The prevalence of antibodies to members of *Leptospira interrogans* in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v. 56, p. 327-330, 1980.

MOREIRA, E. C.; SILVA, J.A; VIANA, F. C.; SANTOS, W. L. M.; ANSELMO, F. P.; LEITE, R. C. Leptospirose Bovina I: Aglutininas anti-*Leptospira* em soros sanguíneos de bovinos de Minas Gerais, **Arquivos Escola Veterinária**. Universidade Federal de Minas Gerais, v. 31,n. 3, p. 375-388, 1979.

MOREIRA, E.C. **Avaliação de métodos para erradicação de leptospirose em bovinos leiteiros**.1994. 94. p. Tese (Doutorado).Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

MYERS, D. M. **Manual de métodos para eleição diagnostico de laboratório de la leptospirosis**. Martinez: OPAS, Centro Panamericano de Zoonosis, 1985. (Nota Técnica n. 30).

NOGUCHI, H. The survival of *Leptospira* (Spirochaeta) *icterohaemorrhagiae* in nature: Observations concerning microchemical reactions and intermediary hosts. **Journal of Experimental Medicine**, v. 27, p. 609-625, 1918.

ODONTSETSEG, N.; SAKODA, Y.; KIDA, H. Serological evidence of the persistence of infection with *Leptospira interrogans* serovar Hardjo in cattle in Mongólia. **Microbiology e Immunology**, v. 49, n. 9, p. 865-869, 2005.

OLIVEIRA, A. A; MOTA, R. A.; PEREIRA, G. C.; LANGONI, H.; SOUZA, M. I.; NAVEGANTES, W. A.; SA M. E. Soroprevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns municipal district, Pernambuco State, Brazil **Onderstepoort Journal Veterinary Research**., v. 68,n. 4, p. 275-279, 2001.

PRESCOTT, J. F.; MILLER, R. B.; NICHOLSON, V. M.; MARTIN, S. W.; LESNICK, T. Seroprevalence and Association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontário. **Can Journal Veterinary Research**, n. 52 p. 210-215, 1988.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF. K. W. **Veterinary medicine**. 9. ed. W.B. Saunders, 2000 p. 1877.

REBHUN, W. C. **Diseases of dairy cattle**. Baltimore: Willians & Wilkins, 1995. p.472-474.

REIS, R.; RYU, E.; PENA, C. M. Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em bovinos e suínos em Minas Gerais, Brasil. **Arquivos Escola. Veterinária**., v. 25, n.1, p.11-14, 1973.

SANDOVAL, L. A.; ARRUDA, N. M.; TERUYA, J. M.; GIORGI, W.; AMARAL, L. B. S.; MAZANTI, M. T. Pesquisas em bubalinos: prevalência da brucelose e leptospirose no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 45, n. 11-12, p. 209-212, 1979.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. **Revista de Microbiologia, São Paulo**, v. 1, p. 97-109, 1970.

SANTA ROSA, C. A.; PESTANA DE CASTRO, A. F.; TROISE, C. Isolamento de leptospira icterohaemorrhagiae de bovinos em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 28, p.1113-118, 1961 a.

SANTA ROSA, C. A.; PESTANA DE CASTRO, A. F.; TROISE, C. Leptospirose bovina: inquérito sorológico na região de Campinas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 28, p.169 -173, 1961 b.

SANTA ROSA , C. A .; CASTRO,A. F.P.;TROISE,C. Isolamento de *Leptospira pomona* de suíno em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**,v.29,p.165-174,1962 a.

SANTA ROSA , C. A.; CASTRO,A. F.P.; SILVA,A .S.;TERUYA,J.M. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.29/30,p.19-27, 1969/70

SANTA ROSA , C. A.; CASTRO,A. F.P.; CALDAS, A .D. Isolamento de *Leptospira icterohemorrhagiae* e leptospira hyos de suínos abatidos em matadouro em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**,v.29,p.165-174,1962 b.

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; GIORGI, W.; DA SILVA, A. S.; YANAGUITA, R. M.; LOBAO, A. O. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of a new serotype in pyrogenes group. **American Journal of Veterinary Research**, v. 36, p. 1363-1365, 1975.

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; YANAGUITA, R. M.; SILVA A. S. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of serovars canicola, pyrogenes and grippotyphosa. **International Journal of Zoonosis**, v. 7, p. 40-43, 1980.

SANTANA, A. O. B.; OBA, E.; LANGONI, H.; URIBE, L .F. V. Aglutuninas anti-leptospíricas em fêmeas bovinas repetidoras de cio. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 169-172, 1997.

SANTOS,M. A ocorrência de *Leptospira icterohaemorrhagiae* nos ratos do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina**, v.4, p.424-426,1947

SULLIVAN, N. D. Leptospirosis in animals and man. **Australian Veterinary Journal**, v.50, n. 5, p. 216-223, 1974.

SULLIVAN, N. D.; CALLAN, D. P. Isolation of *Leptospira hardjo* from cows with mastitis. **Australian of Veterinary Journal**, v. 46, n. 11, p. 537-539, 1970.

TERUYA, J. M. GIORGI, W.; GENOVEZ, M. E.; SILVA, A. S. LEPTOSPIROSE: Resultados das soroaglutinações realizadas no Instituto Biológico, durante os anos de 1974-1980. **O Biológico**, São Paulo, v. 47, n. 11, p. 299-309, 1981.

THIERMANN, A. B. Leptospirosis: current developments and trends. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumberg, v. 184, n. 6, p. 722-725, 1984.

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

TURNER, L. H. Leptospirosis II Serology. **Trans.R. Trop. Méd. Hyg.**, v. 62, p. 880-899, 1968

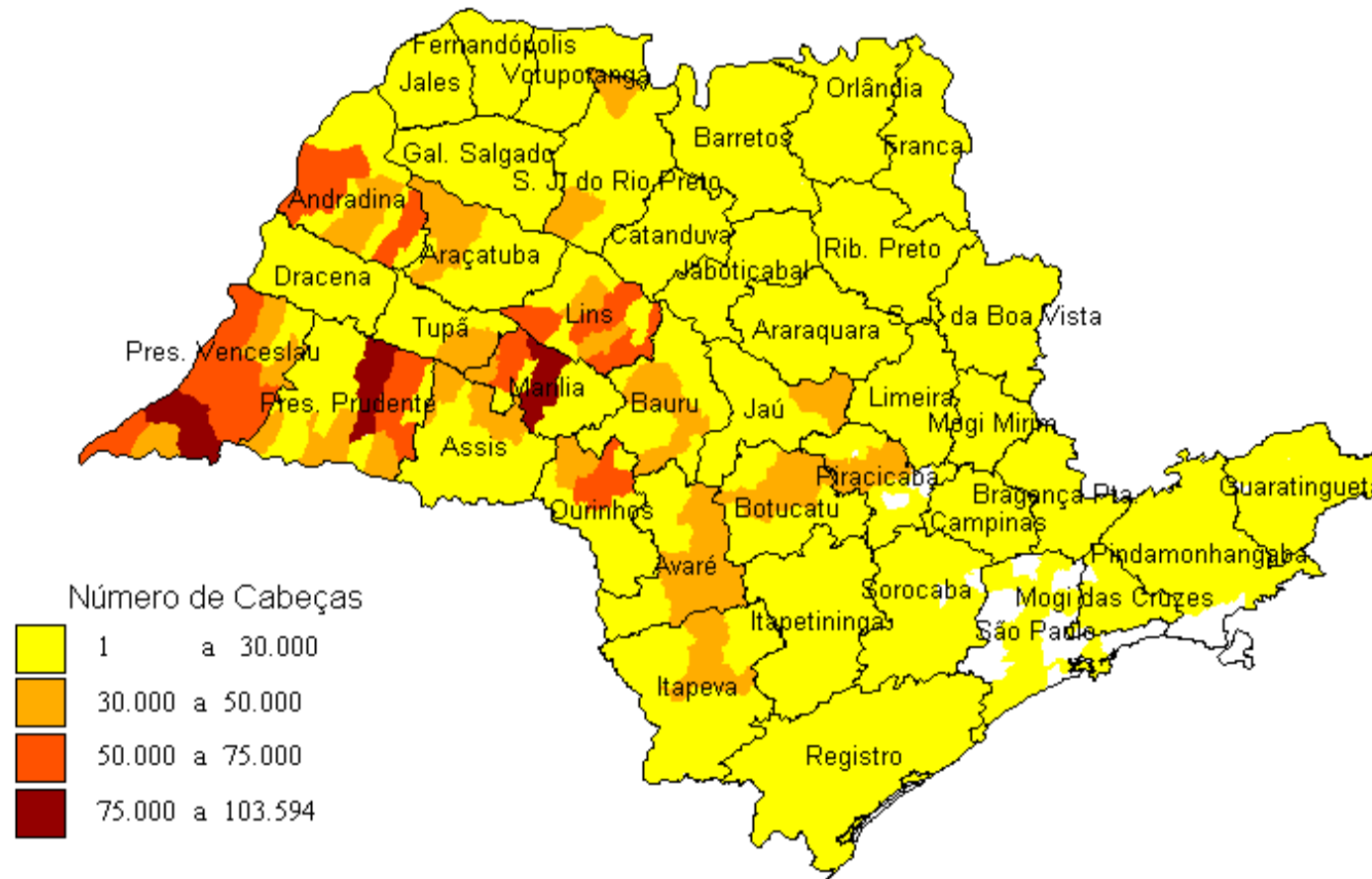
VASCONCELLOS, S. A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. **Comunicação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 3, p.189-195, 1979.

VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose Animal. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 3., 1993, Rio de Janeiro, **Anais.....** Rio de Janeiro: publicado, 1996, p. 62-66.

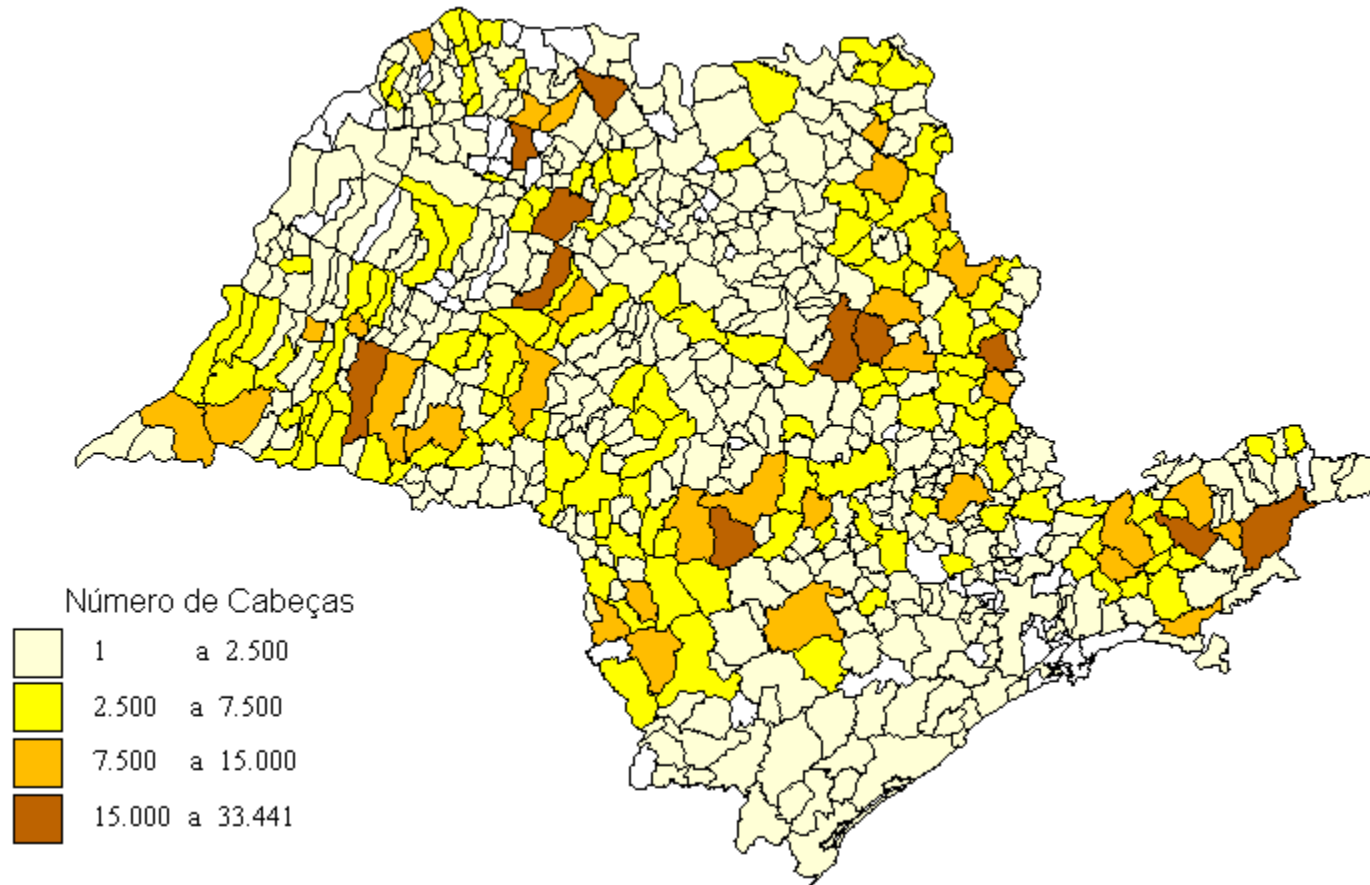
VASCONCELLOS, S. A.; BARBARINI, JR. ,O; UMEHARA, O.; MORAIS, Z. M.; CORTEZ, A.; PINHEIRO, S. R. ; FERREIRA, F.; FAVERO, A .C. M.; FERREIRA NETO ,J. S. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul, período de janeiro a abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 64, n. 2, p. 7-15, 1997.

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 .**Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, p. 298-300, 2001.

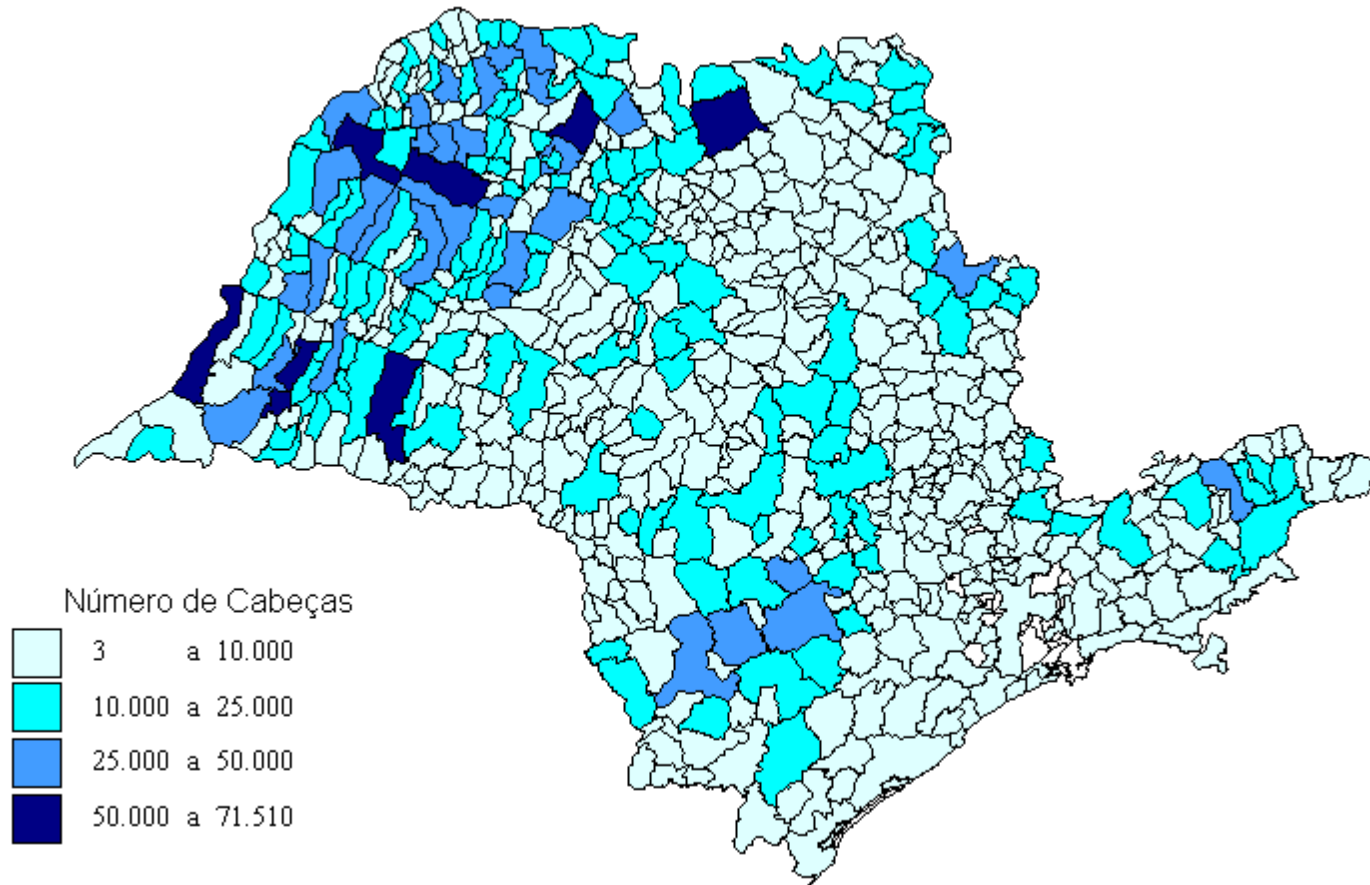
ZAR, J .H. **Biostatistical analysis**. 4. ed.. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663 p.



Mapa da distribuição do gado de corte no Estado de São Paulo, segundo o LUPA (Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária).
 Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 1995/1996



Mapa da distribuição do gado de leite no Estado de São Paulo, segundo o LUPA (Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária). Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 1995/1996



Mapa da distribuição do rebanho de exploração mista no Estado de São Paulo, segundo o LUPA (Levantamento das Unidades de Produção Agropecuária). Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), 1995/1996.