

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM  
ANIMAIS DE VIDA LIVRE DO PANTANAL DO MATO  
GROSSO DO SUL**

**Talita Ribeiro Silva  
Médica Veterinária**

**2016**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM  
ANIMAIS DE VIDA LIVRE DO PANTANAL DO MATO  
GROSSO DO SUL**

**Talita Ribeiro Silva**

**Orientador: Prof. Dr. Luis Antonio Mathias**

**Coorientadora: Profa. Dra. Raphaela Barbosa Meireles Bartoli**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área: Medicina Veterinária Preventiva.

**2016**

## FICHA CATALOGRÁFICA

S586d Silva, Talita Ribeiro  
Detecção de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais de vida livre do pantanal do Mato Grosso do Sul / Talita Ribeiro Silva. -- Jaboticabal, 2016  
v, 47 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016  
Orientador: Luis Antonio Mathias  
Coorientadora: Raphaella Barbosa Meirelles Bartoli  
Banca examinadora: Luiz Augusto do Amaral, Anna Monteiro Correia Lima  
Bibliografia

1. Leptospirose. 2. Soroaglutinação microscópica. 3. Animais de vida livre. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616.986.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

# CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM ANIMAIS DE VIDA LIVRE DO PANTANAL DO MATO GROSSO DO SUL

**AUTORA:** TALITA RIBEIRO SILVA

**ORIENTADOR:** LUÍS ANTONIO MATHIAS

**COORIENTADORA:** RAPHAELLA BARBOSA MEIRELLES BARTOLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUÍS ANTONIO MATHIAS

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV/UNESP - Jaboticabal

Prof. Dra. ANNA MONTEIRO CORREIA LIMA

Faculdade de Medicina Veterinária / UFU - Uberlândia/MG

Prof. Dr. LUIZ AUGUSTO DO AMARAL

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 25 de fevereiro de 2018.

## DADOS CURRICULARES DA AUTORA

**Talita Ribeiro Silva**, natural do Município Pratápolis/MG, nascida em 28 de fevereiro de 1987, filha de Antonio Galvão da Silva e Nalu Ribeiro Dias Silva. Ingressou em março de 2009 no curso de Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Jaboticabal-SP, concluindo em dezembro de 2013. Realizou iniciação científica sobre “Comparação entre o teste de polarização fluorescente e o teste de fixação de complemento para o diagnóstico da brucelose suína” no laboratório de diagnóstico de brucelose e leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal desta mesma universidade, sob orientação do professor Dr. Luis Antonio Mathias, no período de março 2010 a fevereiro de 2011. Realizou iniciação científica sobre “Alterações bioquímicas hepáticas e renais em animais selvagens de vida livre sororreagentes à *Leptospira* spp. no território brasileiro”, no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP/Jaboticabal-SP, sob orientação do professor Dr. Áureo Evangelista Santana, no período de maio de 2012 a abril de 2013. Cumpriu estágio supervisionado no Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/Unesp – Câmpus de Botucatu, realizando atividades no laboratório de diagnóstico de leishmaniose, neosporose, toxoplasmose, raiva, brucelose e leptospirose, sob supervisão do professor Dr. Hélio Langoni, no período de julho a agosto de 2013, e na Cooperativa Agropecuária do Sudoeste Mineiro Ltda (CASMIL), realizando atividades de clínica, cirurgia, exames de tuberculose e brucelose em bovinos, sob orientação do médico veterinário Ângelo Tavares dos Santos, no período de setembro a novembro de 2013. Em março de 2014 iniciou o curso de mestrado em Medicina Veterinária na área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp”, Câmpus de Jaboticabal.

*Dedico*

*Aos meus avós maternos, Enice e João,  
pelo amor imensurável*

## **AGRADECIMENTOS**

A todos aqueles que participaram, direta e indiretamente, da realização desta pesquisa.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Bioma Pantanal.....	3
2.2. Espécies selvagens e feral.....	4
2.3. Leptospirose.....	7
2.4. Leptospirose em animais selvagens.....	10
2.5. Leptospirose em suínos ferais.....	14
3. OBJETIVOS .....	17
3.1. Objetivo geral .....	17
3.2. Objetivos específicos .....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1. Amostras.....	18
4.2. Exame laboratorial.....	18
4.2.1. Preparo dos antígenos vivos de <i>Leptospira</i> spp.....	18
4.2.2. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM).....	19
4.3. Delineamento do estudo.....	19
5. RESULTADOS.....	20
5.1. Cachorro-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> ).....	20
5.2. Quati ( <i>Nasua nasua</i> ).....	22
5.3. Veado-campeiro ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ).....	23
5.4. Porco-monteiro ( <i>Sus scrofa</i> ).....	25
6. DISCUSSÃO.....	28
7. CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38



## DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Leptospira* spp. EM ANIMAIS DE VIDA LIVRE DO PANTANAL DO MATO GROSSO DO SUL

**RESUMO** – A leptospirose é uma zoonose que causa grandes prejuízos para a saúde pública e para a saúde animal. O objetivo deste trabalho foi estudar a ocorrência de anticorpos contra 20 sorogrupos de *Leptospira* spp. em diferentes espécies de animais de vida livre do Pantanal do Mato Grosso do Sul. Foram utilizadas 224 amostras de soro de animais de vida livre das sub-regiões de Nhecolândia e Paiaguás, no Mato Grosso do Sul, provenientes de um banco de soros da Embrapa Pantanal. As amostras foram submetidas ao teste de soroaglutinação microscópica (SAM), utilizando diluição inicial de 1/50 para os animais selvagens e 1/100 para os suínos ferais. As frequências de reagentes de acordo com o sexo e de acordo com a faixa etária foram comparadas por meio do teste exato de Fisher e os cálculos foram realizados com o auxílio do programa R. Dos 35 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), 37,14% foram considerados reagentes e os sorogrupos mais frequentes foram Pomona, Pyrogenes, Grippytyphosa e Canicola. Entre os quatis (*Nasua nasua*), 22,22% apresentaram reação na SAM, e quanto aos sorogrupos, Pomona foi o mais frequente. Dos 95 veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) avaliados, 31,58% foram reagentes, sendo os sorogrupos mais frequentes o Pomona e o Autumnalis. Para os suínos em estado feral (*Sus scrofa*), 36,84% foram sororreagentes e os sorogrupos mais encontrados foram Pomona e Icterohaemorrhagiae. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as frequências de reagentes em relação às faixas etárias e ao sexo em nenhuma das espécies estudadas. Neste estudo, foram encontradas altas frequências de animais selvagens e de suídeos ferais sororreagentes. Para todas as espécies, a maior proporção de reações foi contra o sorogrupo Pomona.

**PALAVRAS CHAVE:** *Cerdocyon thous*, Leptospirose, *Nasua nasua*, *Ozotoceros bezoarticus*, soroaglutinação microscópica, *Sus scrofa*

## DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST *LEPTOSPIRA* SPP. IN FREE-RANGING ANIMALS IN PANTANAL OF MATO GROSSO DO SUL

**ABSTRACT**– Leptospirosis is a zoonotic disease that causes great damage to public health and animal health. The objective of this investigation was to study the occurrence of antibodies against 20 *Leptospira* spp. serogroups in different species of free-ranging animals of Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. Serum samples of 224 animals from the subregions of Nhecolândia and Paiaguás in Mato Grosso do Sul were collected and tested through the microscopic agglutination test (MAT), at an initial dilution of 1/50 for wild animals and 1/100 for feral swine. The frequencies of reagents according to sex and according to age group were compared using Fisher's exact test, and the calculations were performed with the software R. Of the 35 crab-eating foxes, 37.14% reacted to *Leptospira*, and the most frequent serogroups were Pomona, Pyrogenes and Canicola. For coatis, of the 18 samples examined, only four 22.22% showed reaction in MAT, and Pomona was the most frequent serogroup. Of the 95 deer evaluated, 31.58% were reactors, and the most common serogroups were Pomona and Autumnalis. For feral pigs, of the 76 samples analyzed, 36.84% were reactors and the most frequent serogroups were Pomona and Icterohaemorrhagiae. There was no significant difference between the frequency of male and female reactors, and among the age groups in any of the animal species studied. This study found high frequencies of wild animals and feral swine reactors. For all species, the highest proportion of reactions was observed against serogroup Pomona.

**KEYWORDS:** *Cerdocyon thous*, Leptospirosis, *Nasua nasua*, *Ozotoceros bezoarticus*, microagglutination test, *Sus scrofa*

## LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1.	Nome específico, nome comum e número de amostras de acordo dos animais examinados da região de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	20
Tabela 2.	Número (N) e frequência (%) de cachorros-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> ) sororreagentes a <i>Leptospira</i> spp. no teste de soroaglutinação microscópica, considerando-se o sexo e a faixa etária do animal, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	21
Tabela 3.	Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica a um ou mais dos 20 sorogrupos de <i>Leptospira</i> spp. entre os 13 cachorros-do-mato ( <i>Cerdocyon thous</i> ) sororreagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	22
Tabela 4.	Número (N) e frequência (%) de quatis ( <i>Nasua nasua</i> ) sororreagentes a <i>Leptospira</i> spp. no teste de soroaglutinação microscópica, considerando-se o sexo e a idade do animal, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	23
Tabela 5.	Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica contra um ou mais dos 20 sorogrupos de <i>Leptospira</i> spp. observado em 4 quatis ( <i>Nasua nasua</i> ) sororreagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	23
Tabela 6.	Número (N) e frequência (%) de veados-campeiros ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) sororreagentes a <i>Leptospira</i> spp. no teste de soroaglutinação microscópica, de acordo com o sexo e a faixa etária do animal avaliado, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	24
Tabela 7.	Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica contra um ou mais dos 20 sorogrupos de <i>Leptospira</i> spp. entre os 30 veados-campeiros ( <i>Ozotoceros bezoarticus</i> ) sororreagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	25

Tabela 8.	Número (N) e frequência (%) de sororreagentes contra <i>Leptospira</i> spp. no teste de soroaglutinação, considerando-se o sexo e a faixa etária do animal, em porcos-monteiros ( <i>Sus scrofa</i> ) das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	26
Tabela 9.	Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica, contra um ou mais dos 20 sorogrupos de <i>Leptospira</i> spp., em 28 porcos-monteiros ( <i>Sus scrofa</i> ) sororreagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	26
Tabela 10.	Número e frequência de sororreagentes para cada espécie animal estudada, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	27
Tabela 11.	Número de reações contra os sorovares e os sorogrupos de <i>Leptospira</i> spp. utilizados na SAM, de cada espécie estudada, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.....	27

## 1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma enfermidade causada pela espiroqueta *Leptospira* spp., que apresenta distribuição cosmopolita e causa grandes prejuízos socioeconômicos. Possui um elevado número de sorogrupos, os quais não têm hospedeiros específicos, e frequentemente ocorre nos meios urbano e rural tanto em animais domésticos como em selvagens.

O agente etiológico penetra pela pele e por mucosas íntegras ou lesadas que entram em contato com urina, fluidos placentários, leite, água e alimentos contaminados. Provoca sinais clínicos como febre, insuficiência hepática/renal ou problemas reprodutivos, em alguns casos imperceptíveis.

Condições ambientais propícias são necessárias para a sobrevivência das leptospirosas, tais como umidade, temperatura e pH, essenciais para a manutenção deste microorganismo no ambiente.

O pantanal é uma planície periodicamente inundável que na época das chuvas tem grande parte de seu território alagado. O clima dessa região apresenta temperaturas elevadas, além de ser bastante úmido. Nessa região, as condições ambientais são altamente favoráveis à ocorrência de leptospirose.

O ciclo epidemiológico da leptospirose envolve animais selvagens e domésticos, os quais são importantes mantenedores da bactéria no ambiente e potenciais transmissores do agente etiológico. Pesquisas conservacionistas atuais têm se preocupado com a ocorrência de doenças infecciosas nesses animais, pois o crescimento das fronteiras agropecuárias tem proporcionado crescente contato entre animais domésticos e selvagens, gerando a introdução e transmissão de enfermidades que causam grande impacto nas populações.

Diversos estudos sorológicos realizados em animais selvagens cativos e de vida livre, utilizando a soroaglutinação microscópica (SAM) como meio de diagnóstico, têm revelado a presença variável de sororreagentes a *Leptospira* spp. A exposição ao agente e a titulação sorológica positiva não indicam a doença clínica

nem que os animais soropositivos desenvolverão os sinais clínicos e a doença propriamente dita. No entanto, avaliações frequentes da soroprevalência da leptospirose e de outras doenças infecciosas tornam-se necessárias e importantes nas populações de mamíferos selvagens, para o diagnóstico precoce, a prevenção e o controle dessas enfermidades, além de ser uma ferramenta muito útil para a conservação de espécies.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Bioma Pantanal

É uma imensa planície com uma área de 138.183 Km<sup>2</sup>, que possui um regime intenso de chuvas periódicas que controlam toda a biodiversidade, com influência sobre os ecossistemas, a economia e a atividade humana e animal. O Pantanal brasileiro tem seu território localizado nos Estados Mato Grosso (35,36%) e Mato Grosso do Sul (64,64%). Está dividido em 11 sub-regiões, Cáceres, Poconé, Barão de Melgaço, Paraguai, Paiaguás, Nhecolândia, Abobral, Aquidauana, Miranda, Nabileque e Porto Murtinho, sendo as maiores a Paiaguás (19,6%) e a Nhecolândia (19,48%), situadas no Mato Grosso do Sul (SILVA; ABDON; SILVA, 1995).

O Pantanal é uma região periodicamente inundável, pertencente à Bacia do Alto Paraguai (BAP) (SANTOS et al., 2002). O clima é tropical, com temperatura média anual de 26°C, sendo a temperatura e a umidade mais altas no verão e temperaturas amenas com baixa umidade no inverno (CADAVID GARCIA, 1984; SANTOS et al., 2002). A fertilidade é baixa em 72% dos solos (AMARAL, 1987). A precipitação média anual é de 1.200 mm (GARCIA; CASTRO, 1986), concentrada entre os meses de dezembro e março. O ciclo hidrológico e a dinâmica hídrica da região, representados principalmente pela alternância de períodos de secas e de cheias, são condicionantes ambientais que garantem a alta biodiversidade e mantêm o funcionamento ecológico de toda a região (ANA, 2004), além de serem os principais fatores que regulam a distribuição da vegetação, criando paisagens peculiares a essa região (AMARAL, 1987).

Possui um ecossistema de grande biodiversidade, no qual se encontra uma das maiores concentrações de fauna selvagem do planeta, com 3.500 espécies de plantas, 652 espécies de aves, 177 espécies de répteis, 40 espécies de anfíbios, 102 espécies de mamíferos e 264 espécies de peixes (LOURIVAL; HARRIS; MONTAMBAULT, 2000).

Sua vegetação é um mosaico de florestas baixas, cerradões, cerrados e campos inundáveis. Os ecossistemas que o bioma abriga são extremamente frágeis

e estão sob a ameaça das novas tendências de desenvolvimento econômico e de construção de infraestrutura (IBGE, 2004). Na planície pantaneira, a retirada da vegetação nativa até 2004 representou 17% de sua área total (aproximadamente 25.750 Km<sup>2</sup>). Destes, 11% ocorreram no Pantanal Sul-Mato-Grossense e 6% no Pantanal Mato-Grossense (HARRIS et al., 2006). A remoção da vegetação, principalmente nos planaltos onde se situam as nascentes dos rios que formam o Pantanal, tem acelerado a destruição de habitats, sendo a principal causa do assoreamento dos rios na planície e da intensificação das inundações (MOURÃO et al., 2004).

A economia da região baseia-se na pecuária de corte em sistema extensivo, pois atividades agrícolas são pouco recomendadas, pela baixa fertilidade do solo e pelas inundações periódicas (BRASIL, 1997). Em geral, a pecuária nessa região não apresenta muita tecnificação, ocasionando degradação do solo, principalmente erosão e compactação, além de incêndios, queimadas e desmatamentos para estabelecimento de pastagens (BRASIL, 1997). Além disso, a fiscalização precária, associada ao desconhecimento da legislação e à falta de conscientização sobre a importância ambiental da região, permite que atividades predatórias como a pesca e a caça clandestina sejam uma ameaça, exercendo grande pressão sobre a fauna, principalmente nos períodos reprodutivos (MOURÃO et al., 2004).

Outro fator que ameaça a região são as carvoarias, que têm avançado muito rapidamente no Pantanal do Mato Grosso do Sul. Nos últimos anos, vários empreendimentos de mineração estão se instalando em alguns municípios da BAP (IBGE, 1998), atividade que gera forte impacto visual, causa assoreamento e modifica a trajetória dos corpos d'água, contaminando as bacias com dejetos de diferentes origens e incrementando processos erosivos, com consequente descaracterização da paisagem (DIAS, 1994).

## **2.2 Espécies selvagens e feral estudadas**

O *Cerdocyon thous* ou popularmente cachorro-do-mato é um carnívoro da família Canidae de porte médio, pesando entre 4,5 e 8,5 kg (COURTENAY; MAFFEI, 2004). Esta espécie se restringe à América do Sul e no Brasil se distribui nas regiões



sudeste, sul, nordeste e centro-oeste, ocupando quase todos os biomas. Possui maior atividade no período noturno (MONTGOMERY; LUBIN, 1978). Esses animais são monogâmicos, vivendo em casais ou grupos familiares estendidos (NOWAK, 1991; MACDONALD; COURTENAY, 1996). O forrageio ocorre frequentemente aos pares, porém cada animal é responsável pela captura do seu próprio alimento (COURTENAY; MAFFEI, 2004). Os cachorros-do-mato são onívoros e oportunistas, apresentam uma dieta variada que inclui pequenos mamíferos, principalmente os roedores (JÁCOMO; SILVEIRA; DINIZ-FILHO, 2004), além insetos, crustáceos, aves, répteis, anfíbios, ovos de diversas espécies e frutos, podendo atuar como dispersores de sementes, tanto de frutas nativas como cultivadas (BEISIEGEL, 1999) e também alimentar-se de carcaças de animais domésticos, como bovinos (LEMONS; FACURE; AZEVEDO, 2001). No Brasil, as áreas de uso variam de 100 a 730 ha no Pantanal (ROCHA, 2006). Pode ser encontrado em ambientes abertos, naturais ou alterados (FACURE; GIARETA, 1996; JUAREZ; MARINHO-FILHO, 2002).

O quati (*Nasua nasua*) é um carnívoro pertencente à família Procyonidae, que possui porte médio, pernas curtas e pelagem densa (BEISIEGEL, 2001). São animais de hábitos diurnos, terrestres e arborícolas. Forrageiam extensivamente no chão, utilizando sua habilidade manual para revirar tocos, pedras e explorar buracos. São animais onívoros e oportunistas, e o tamanho das áreas de uso pode ser influenciado pela variação no percentual de carne, frutos e insetos ingeridos (BISBAL, 1986; JUAREZ; MARINHO-FILHO, 2002; GOMPPER, 1995). Os quatis utilizam as árvores para nidificarem, repousarem durante a noite e se refugiarem (BEISIEGEL, 2001; TEIXEIRA; AMBRÓSIO, 2007).

As fêmeas de quatis são matriarcais e vivem com seus filhotes em bandos de até 30 indivíduos; já os machos, quando se tornam adultos, ficam isolados e só se aproximam do grupo na época de acasalamento (GOMPPER, 1995; BEISIEGEL, 2001; TEIXEIRA; AMBRÓSIO, 2007).

Os veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) pertencem à ordem Artiodactyla, família Cervidae, possuem porte médio, com peso aproximado nos

adultos de 30 kg (DUARTE, 2007). No Pantanal, as populações de *O. bezoarticus* estão localizadas principalmente nas sub-regiões centrais de Nhecolândia e de Paiaguás, com densidade de aproximadamente  $2,5 \pm 0,63$  indivíduos/Km<sup>2</sup> (MOURÃO et al., 2000 e TOMÁS et al., 2001). Possui uma estrutura social que se baseia no indivíduo, podendo associar-se ou não a outros indivíduos dependendo dos fatores ambientais como alimento e fase reprodutiva (LACERDA, 2008).

O período de atividade de forrageamento do veado-campeiro pode ser tanto diurno quanto noturno, com variação individual no ritmo de atividade. Eles alimentam-se principalmente de gramíneas, mas também ingerem ervas, arbustos e flores (ZUCCO, 2007). Forrageiam em baías e campos moderadamente cobertos por água, e, no auge da inundação, quando a lâmina d'água atinge seu máximo, os animais se deslocam para as áreas mais altas não inundadas. Com o escoamento gradual das águas, os animais voltam a utilizar as bordas de baías permanentes e temporárias, acompanhando a descida das águas (LACERDA, 2008). As populações dessa espécie estão diminuindo ao longo dos anos devido a vários fatores, tais como a alteração e fragmentação do habitat, a caça predatória e a introdução de animais domésticos e exóticos que competem por recursos, além de transmitirem doenças (ZUCCO, 2007).

As doenças de animais domésticos e as de animais ferais podem encontrar organismos selvagens susceptíveis e pouco resistentes, agravando os riscos da extinção (MERINO et al., 1997). Os cervídeos compartilham de muitas das características biológicas dos bovinos, tendo preferência pelos mesmos habitats (campo aberto e cerrado), possuindo hábitos alimentares similares e sendo acometidos por doenças em comum (DUARTE; MERINO, 1997; DUARTE, 2007). Vários agentes infecciosos já foram encontrados em cervídeos, inclusive *Leptospira* spp. (MATHIAS; GIRIO; DUARTE, 1999; LILENBAUM et al., 2002; MACKINTOSH et al., 2002; GIRIO et al., 2004; VIEIRA et al., 2011; PÉRES et al., 2011)

O porco-monteiro (*Sus scrofa*) é a forma feral do suíno doméstico e encontra-se amplamente distribuído (DESBIEZ; BODMER; TOMAS, 2009). No Pantanal, os suínos ferais adultos podem viajar longas distâncias para satisfazer sua necessidade

de água, beneficiando-se de construções artificiais que retêm água, escavadas para o gado (MURI et al., 2007). Estes animais, devido à ausência de glândulas sudoríparas, usam os acúmulos de água durante os meses quentes para possibilitar a termorregulação (DESBIEZ; BODMER; TOMAS, 2009). Podem frequentar habitats muito diversos como brejos, campos e áreas florestadas e apresentam hábitos diurnos ou noturnos. Levantamentos aéreos feitos no Pantanal brasileiro durante o período da estiagem demonstraram que existem aproximadamente 9.800 grupos de suínos ferais (erro padrão de 1.400) (MOURÃO et al., 2002).

Variações ambientais afetam diretamente a sobrevivência e a reprodução dos porcos-monteiros por meio da diminuição dos recursos disponíveis, como água e frutos, bem como mudanças no habitat e nas condições ambientais da região. São onívoros, com uma dieta variada, podendo inclusive atacar bezerros e cordeiros recém-nascidos (DESBIEZ et al., 2011) ou ainda se alimentar de carcaças de gado (DESBIEZ; BODMER; TOMAS, 2009). O porco em estado feral é uma das espécies de mamíferos invasores mais bem-sucedidas, sendo responsável por causar a redução na biodiversidade, extinções locais de outras espécies e normalmente compete com as espécies selvagens pelos mesmos recursos. Apresentam altas taxas de crescimento populacional, são caracterizados por maturidade prematura e altas taxas de fecundidade. A produção de filhotes ocorre precocemente e depende mais das condições da massa corporal do que da idade dos animais (DESBIEZ; BODMER; TOMAS, 2009).

Além dos impactos econômicos e ambientais, outra preocupação de grande importância é a saúde pública. Justamente pelo fato de o suíno feral representar uma importante fonte de proteína de origem animal para comunidades locais do Pantanal, a manipulação de carcaças contendo agentes zoonóticos como a *Leptospira* spp. representa um risco para a população.

### **2.3 Leptospirose**

A leptospirose é uma doença de caráter zoonótico que acomete a maioria das espécies de mamíferos (THIERMANN, 1984). Sua ocorrência pode se caracterizar

como epidêmica ou endêmica influenciada por fatores ambientais e pelas interações dos diferentes grupos animais (VASCONCELLOS, 1987).

É causada por bactérias da ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae, gênero *Leptospira*. Desde 1989, a classificação fenotípica está sendo substituída pela genotípica, baseada na hibridização por homologia de DNA (LEVETT, 2001). Atualmente são reconhecidas 13 espécies de leptospiros patogênicas (*L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. wiellie*, *L. wolffii*), com mais de 260 sorovares, e seis saprófitas (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthieliie*, *L. wolbachii*), com cerca de 60 sorovares (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

A reclassificação das leptospiros baseada em estudos genéticos ainda taxonomicamente correta, contudo é incompatível com o sistema de sorogrupos amplamente empregado por pesquisadores. Assim, até que métodos de identificação baseados no DNA sejam validados e disponibilizados, a comunidade científica ainda utiliza a classificação sorológica para leptospiros patogênicos (LEVETT, 2001).

Embora alguns sorogrupos de leptospiros estejam associados a um determinado reservatório, todos os animais são susceptíveis à infecção por qualquer variante sorológica (BHARTI et al., 2003). Espécies selvagens são susceptíveis à infecção por grande variedade de sorogrupos (FAINE et al., 1999; ULLMANN et al., 2007; SILVA et al., 2008; LANGONI et al., 2009; ZETUN et al., 2009; FORNAZARI et al., 2011).

As leptospiros são móveis, aeróbias estritas e diferenciam-se das outras espiroquetas por possuírem a célula terminada em gancho e apresentar dois flagelos periplasmáticos (LEVETT, 2001). São sensíveis à luz solar direta, aos desinfetantes comuns e aos antissépticos. Sua sobrevivência depende das condições ambientais, pois demandam um ambiente úmido, com pH variando de neutro a ligeiramente alcalino e uma temperatura favorável (ACHA; SZYFRES, 2001), como as encontrados em regiões tropicais, onde a leptospirose apresenta-se

de forma endêmica (GONZÁLEZ; LEONEL, 1998). Recentemente foi descrita a formação de biofilmes em esgoto, água da chuva estagnada e culturas de arroz, o que contribuiria não apenas para sua sobrevivência, mas também para a transmissão desse agente (VINOD KUMAR et al., 2015).

Pode ser transmitida pelo contato com sangue ou urina de animais infectados, pela água contaminada com urina desses animais (BHARTI et al., 2003), carcaças frescas e órgãos contaminados ou indiretamente pelo contato com solo úmido e lama contaminada (FAINE et al., 1999).

Depois de invadir o organismo, as leptospiros se disseminam, pela circulação sanguínea e linfática, para todos os tecidos (fase de leptospiremia) e se multiplicam no fígado, pulmão e baço, estabelecendo a infecção (FAINE et al., 1999; LEVETT, 2001; PALANIAPPAN; RAMANUJAN; CHANG, 2007). O período de incubação geralmente é de 5 a 14 dias, podendo variar de 2 a 30 dias (FAINE et al., 1999).

Nos animais que sobrevivem à infecção aguda, as leptospiros persistem em sítios imunologicamente protegidos, como túbulos renais proximais, câmara anterior do olho e trato genital. Esses animais podem tornar-se portadores renais ou genitais e importantes fontes de infecção para novos susceptíveis (GENOVEZ, 2007). A localização renal caracteriza a fase de leptospirúria, em que as leptospiros são eliminadas na urina (BHARTI et al., 2003). A eliminação da leptospira pela urina dos portadores ocorre por períodos de tempo que podem variar de poucas semanas a vários meses, entre os animais domésticos, e por toda vida no caso dos roedores (WEBSTER et al., 1995).

A excreção na urina pode ser intermitente ou contínua. As leptospiros não sobrevivem em urina ácida, mas permanecem viáveis em urina alcalina. Consequentemente, herbívoros e animais que produzem urina alcalina são relativamente mais importantes como disseminadores comparados àqueles com urina ácida (FAINE et al., 1999). Diferentes espécies de animais domésticos e selvagens se infectam, tornando-se portadores renais e potenciais disseminadores do agente no ambiente pela urina (SHARMA et al., 2003).

Os sinais clínicos mais observados são espasmos musculares, incoordenação, icterícia, hemoglobinúria, febre, perda de peso, vômitos e transtornos reprodutivos (HORSH, 1999).

O diagnóstico laboratorial da leptospirose pode ser realizado por exames sorológicos, para pesquisa de anticorpos, isolamento do agente ou pesquisa molecular do material genético bacteriano (BRASIL, 1995; AHMAD; SHAH; AHMAD, 2005).

A soroaglutinação microscópica, ou, em inglês, microagglutination test (MAT), é o teste sorológico de referência no diagnóstico laboratorial da leptospirose (WHO, 2003; FAUCHER; ESTAVOYER; ESTAVOYER, 2004). O princípio da técnica se baseia na reação de aglutinação entre os anticorpos presentes no soro dos hospedeiros e o antígeno O dos lipopolissacarídeos (LPS) de membrana das leptospiros. Nesse teste, uma suspensão concentrada dos leptospiros vivos de vários sorogrupos reage com o soro testado. Em seguida, as reações são examinadas microscopicamente para determinação do título da aglutinação, que ocorre devido à presença de anticorpos contra determinado sorovar de *Leptospira* spp. no soro do paciente (WHO, 2003).

#### **2.4 Leptospirose em animais selvagens**

Em geral, animais selvagens comportam-se como portadores são e permanentes de vários sorogrupos de leptospira (SANTA ROSA et al., 1980). Uma espécie selvagem pode atuar como hospedeiro natural para alguns sorogrupos e como hospedeiro acidental para outros (LEVETT, 2001).

No Brasil, estudos epidemiológicos sobre infecção por *Leptospira* spp em espécies selvagens eram pouco frequentes, principalmente nas populações de vida livre (GIRIO et al., 1999), e pouco se sabia sobre a leptospirose na fauna selvagem de vida livre, seu papel na cadeia epidemiológica, bem como o impacto desta enfermidades sobre essas populações. Hoje, os estudos sobre leptospirose na fauna selvagem têm avançado bastante, mas ainda há muitas lacunas a serem preenchidas sobre a epidemiologia dessa doença nas diferentes espécies animais.

Além disso, a degradação dos habitats naturais aumenta a proximidade dos animais selvagens às populações humanas e de animais domésticos, favorecendo a transmissão de doenças que ameaçam a conservação da biodiversidade (CURI, 2005), além de causar prejuízos sérios também à saúde pública (RODRIGUES et al., 2012).

Na América do Norte, alguns levantamentos sorológicos foram realizados em animais selvagens, principalmente carnívoros (CIRONE et al., 1978; DREWEK; NOON; BICKNELL, 1981; KINGSCOTE, 1986; KHAN et al., 1991), encontrando diferentes proporções de reagentes.

No Brasil, Mathias, Girio e Duarte (1999) realizaram um levantamento sorológico de leptospirose em 17 veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) do Pantanal Mato-Grossense, MT, e 24 do Parque Nacional de Emas, GO; 24% das amostras do Pantanal Mato-Grossense foram reagentes, contra os sorogrupos Sejroe e Mini. Nenhuma amostra do Parque Nacional de Emas foi reagente. Girio et al. (2004) testaram 67 bois baguás (*Bos taurus indicus*), 39 porcos-monteiros (*Sus scrofa*), 39 búfalos (*Bubalus bubalis*), nove quatis (*Nasua nasua*), 41 veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*), 10 veados-mateiros (*Mazama americana*) e 110 ovinos (*Ovis aries*), na região pantaneira de Nhecolândia, Corumbá, MS. Sessenta e quatro animais foram reagentes (20,3%), com taxas mais altas para bois (41%) e búfalos (40,3%).

Souza Júnior et al. (2006) fizeram uma pesquisa sorológica com 427 animais de vida livre resgatados do lago da Usina Hidrelétrica Luís Eduardo Magalhães, Tocantins. Foram reagentes ao sorodiagnóstico 46 (16,1%) de 286 macacos-prego (*Cebus apella*), 2/82 (2,4%) bugios (*Allouata caraya*), 4/31 (12,9%) quatis (*Nasua nasua*) e 2/10 (20,0%) cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*). Os títulos variaram de 100 a 1.600 e os sorogrupos mais frequentes foram Fluminense e Javanica em *N. nasua* e Fluminense e Brasiliense em *C. thous*.

Jorge (2008) realizou um estudo sobre a caracterização sanitária em carnívoros selvagens em uma reserva no Pantanal do Mato Grosso com *Cerdocyon thous*, *Chrysocyon brachyurus*, *Procyon cancrivorus*, *Puma concolor*, *Leopardus*

*pardalis* e *Speothos venaticus*, e de 75 animais testados 32 (42,7%) foram reagentes aos sorogrupos Canicola (9), Pyrogenes (8), Autumnalis (8), Pomona (4) e Australis (2).

Num levantamento sorológico de *Leptospira* spp. em 266 animais selvagens da sub-região de Nhecolândia, no Pantanal Sul-Mato-Grossense, foram observados predominantemente reagentes contra os sorogrupos Pomona e Autumnalis em *O. bezoarticus*, Sejroe em *C. thous*, Icterohaemorrhagiae em *L. pardalis* e *T. panchyrus*, e Pomona em *N. nasua*, com a frequência de 10,2% em *T. pachyrus*, 34,21% em *C. thous*, 34,09% em *N. nasua*, 5,9% em *O. bezoarticus* e 14,28% em *L. pardalis* (VIEIRA et al., 2011).

Em outro estudo sorológico com canídeos selvagens de vida livre provenientes de Minas Gerais e Goiás, Rodrigues et al. (2012) obtiveram 8 amostras reagentes na SAM em 19 (42,10%) *C. thous*, 5 em 14 (35,7%) *C. brachyurus*, e 1 em 7 (14,3%) *P. vetulus* aos sorogrupos Autumnalis, Grippotyphosa, Sejroe, Hebdomadis e Icterohaemorrhagiae; os sorogrupos Sejroe, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa ocorreram com maior frequência.

Silva et al. (2015), ao avaliar soros de *C. thous* do Pantanal, observaram um animal reagente ao sorogrupo Australis no Mato Grosso do Sul e três animais sororreagentes ao Australis, um ao Shermani e dois ao Celledoni no Mato Grosso. Esses mesmos autores, ao estudarem dois cachorros-do-mato do bioma Caatinga, observaram títulos de anticorpos contra os sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Autumnalis e ainda isolaram uma estirpe de *Leptospira interrogans*.

Fornazari et al. (2015) avaliaram animais selvagens de vida livre da região de Botucatu; três dos quatro (75%) cachorros-do-mato (*C. thous*) examinados foram positivos ao sorogrupo Australis (2) e Djasiman (1) e 17 dos 56 (30,35%) quatis foram também reagentes contra os sorogrupos Australis (4), Sejroe (4), Icterohaemorrhagiae (3), Djasiman (2), Grippotyphosa (2), Autumnalis (2), Panama (1) e Semaranga (1).



Péres et al. (2011), ao avaliar o soro de 59 veados-campeiros para leptospirose capturados na região da Nhecolândia do Pantanal Sul-Mato-Grossense, obtiveram uma proporção de sororreagentes pela soroaglutinação de 28,81% (17/59), e os sorogrupos Pomona e Autumnalis foram diagnosticados em 64,71% (11/17) e 29,41% (5/17) dos animais reagentes, respectivamente.

Cunha (2012), ao estudar carnívoros selvagens de vida livre e de cativeiro em Pernambuco, obteve dois animais de cativeiro reagentes contra os sorogrupos Panama e Autumnalis entre os 18 cachorros-do-mato avaliados.

Ainda com animais de cativeiro, Lilenbaum et al. (2002) avaliaram amostras de soro de 77 animais pertencentes a 38 espécies e 19 famílias no Zoológico do Rio Janeiro, obtendo uma frequência de 37,7% animais reagentes pertencentes às famílias Canidae (7/9), Procyonidae (5/9) e Myrmecophagidae (5/9). O sorogrupo mais importante foi o Icterohaemorrhagiae. Corrêa et al. (2004), numa pesquisa com animais da Fundação Parque Zoológico de São Paulo, observaram os sorogrupos Autumnalis e Cynopteri. Esteves et al. (2005) realizaram um estudo com animais e funcionários do Zoológico Municipal de Uberaba utilizando a SAM. Entre as duas amostras de *C. thous* avaliadas, uma foi reagente contra o sorogrupo Grippotyphosa, com título 200. Lenharo, Santiago e Lucheis (2012), ao estudarem três *C. thous* provenientes do Parque Zoológico Municipal de Bauru, obtiveram um animal reagente contra os sorogrupos Hebdomadis e Pyrogenes.

Langoni et al.(2009), numa pesquisa com quatis de cativeiro, provenientes de de zoológicos de Sorocaba, Botucatu e São José dos Campos, detectaram anticorpos em 52,9% (9/17) dos animais, com títulos variando de 1/100 até maior que 1/3.200. Foram sororreagentes 61,5% (8/13) das amostras dos animais oriundos de Sorocaba, envolvendo os sorogrupos Icterohaemorrhagiae (2/8), Andamana (1/8), Shermani (2/8) e Sejroe (1/8) e duas coaglutinações, uma de Hebdomadis e Wolffi (1/8) e outra de Hebdomadis, Hardjo e Wolffi (1/8). A única amostra colhida em um animal de São José dos Campos foi reagente ao sorogrupo Pyrogenes e as três de Botucatu não apresentaram aglutininas contra *Leptospira* spp. A presença de anticorpos em quatis de cativeiro, mesmo assintomáticos, reforça a possibilidade de

que animais silvestres cativos possam se infectar e tornarem-se reservatórios. Ressalte-se que uma estirpe de *Leptospira* já foi isolada de um quati de vida livre (LINS; LOPES, 1984).

## 2.5 Leptospirose em suínos ferais

Os suínos podem albergar os sorogrupos Pomona, Tarassovi e Australis, sendo o primeiro mantido por longos períodos e eliminado em grandes quantidades pela urina (LEVETT, 2001). A leptospirose em suínos geralmente é crônica, cursando de maneira assintomática (MIRAGLIA *et al.*, 2008; JORI *et al.*, 2009). Os sinais, quando presentes, estão relacionados a transtornos reprodutivos como abortamentos, infertilidade e nascimento de leitões fracos (RAMOS; SOUZA; LILENBAUM, 2006; JORI *et al.*, 2009).

Os sorogrupos mais frequentes em suínos no Brasil são Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, Australis, Muenchen e Tarassovi (SOBESTIANSKY *et al.*, 1999; RAMOS; SOUZA; LILENBAUM, 2006). Em regiões com clima tropical, onde suínos são criados ao ar livre, com água abundante, variações muito significativas de frequências e sorogrupos têm sido observadas ao longo dos anos (JORI *et al.*, 2009).

Girio *et al.* (2004) examinaram 315 amostras de soro de diferentes espécies de animais que vivem em estado feral ou selvagem na região de Nhecolândia, encontrando 17,9% (7/39) de porcos-monteiros reagentes. Paes *et al.* (2008), numa pesquisa com suínos ferais do Pantanal do Mato Grosso do Sul, encontraram sete (9,3%) porcos-monteiros soropositivos para leptospirose em uma amostra de 75 animais.

Num estudo com 151 porcos-monteiros das regiões de Nhecolândia e de Abobral do Pantanal Sul-Mato-Grossense, utilizando a soroaglutinação, a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e a coloração de *Warthin Starry* como ferramentas diagnósticas, foram encontrados 108 (71,52%) animais reagentes na SAM, com maior frequência para os sorogrupos Icterohaemorrhagiae, Pomona e Autumnalis; nenhum resultado foi positivo na PCR de sangue, e na coloração foi observada a

presença de bactérias com morfologia semelhante à da *Leptospira* spp., no interior de túbulos renais (FONTANA, 2011).

Jori et al. (2009), num levantamento sorológico realizado em 2003 e 2005 com catetos (*Tayassu tajacu*) cativos na Amazônia peruana, encontraram na primeira avaliação frequência e titulações mais altas para o sorogrupo Iquitos (1:1600), e na segunda, para o sorogrupo Icterohaemorrhagiae (1:800). Os autores ainda afirmam que as altas titulações obtidas são um indicativo de infecções recentes e que os animais apresentaram um contato repetido com diferentes sorogrupos no intervalo entre os estudos.

Numa pesquisa com 71 queixadas (*Tayassu pecari*) no Pantanal Sul-Mato-Grossense, no período de dezembro de 2003 a abril de 2005, foram obtidos 70% de animais sororreagentes, com maior frequência para os sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Autumnalis. A alta proporção de aglutininas contra *Leptospira* nessa população de queixadas poderia ser acidental ou poderia indicar que esses animais são mantenedores do agente no Pantanal. Os autores também estudaram a relação entre a presença de títulos e a idade e o sexo dos animais. Houve forte associação entre a soropositividade e a faixa etária dos animais; a proporção de positivos aumentava de acordo com o avanço da idade e chegava a 100% nos animais mais velhos. Observaram também que a composição de sorogrupos variava e os títulos de anticorpos aumentavam, o que sugeria exposições cumulativas ao longo dos anos e a diferentes sorogrupos de *L. interrogans*. No entanto, não foi observada associação entre a proporção de reagentes e o sexo dos suínos. Semelhantemente aos suínos ferais, os queixadas formam grupos grandes e são animais altamente sociáveis, o que facilita a transmissão de doenças na população. Somam-se a isso os fatores sociais, as atividades sexuais e o contato com fontes ambientais, que também podem facilitar a exposição à bactéria (FREITAS et al., 2010).

Marchiori Filho et al. (2002) avaliaram populações de javalis (*Sus scrofa*) semiconfinadas nos estados de São Paulo e do Paraná. Das 203 amostras analisadas, 43 (21,20%) foram reagentes e os sorogrupos mais frequentes foram

Seramanga, Icterohaemorrhagiae e Sejroe. Com relação ao sexo, 10 (21,7%) dos javalis machos e 32 (20,5%) das javalis fêmeas foram sororreagentes. Fornazari et al. (2011) avaliaram 308 amostras de sangue de javalis, obtendo 63 (20,45%) animais reagentes contra os sorogrupos Sejroe (34/63; 53,97%), Icterohaemorrhagiae (13/63; 20,63%), Pomona (8/63; 12,70%), Pyrogenes (4/63; 6,35%) e Autumnalis (3/63; 4,76%). Os pesquisadores ainda afirmaram que os porcos selvagens em cativeiro poderiam representar uma fonte de infecção para os seres humanos e outros animais.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

O objetivo do trabalho foi estudar a ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em diversas espécies de animais de vida livre na região do Pantanal do Mato Grosso do Sul.

#### **3.2 Específicos**

Determinar a frequência de reagentes aos sorogrupos de *Leptospira* spp. em cada espécie animal analisada.

Associar a ocorrência de anticorpos contra os sorogrupos de *Leptospira* spp. no bioma Pantanal e nas espécies estudadas.

Verificar se há associação da infecção por *Leptospira* spp. quanto às faixas etárias e quanto ao sexo dos animais.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras

Todas as amostras de soro dos animais deste estudo foram obtidas de um banco de soros da EMBRAPA Pantanal. O uso dos animais foi autorizado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) SISBIO nº 35296-3, autorização emitida em 24 de abril de 2014, e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMS), que também autorizou o trabalho, protocolos nº 500/2013 e nº 368.

As amostras de soro, devidamente armazenadas e congeladas, foram processadas no Laboratório de Diagnóstico de Brucelose e Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/Unesp).

### 4.2 Exame laboratorial

Foi realizada em todas as amostras de soro a prova de soroprecipitação microscópica (SAM), técnica preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

#### 4.2.1 Preparo dos antígenos vivos de *Leptospira* spp.

Os sorogrupos de *Leptospira* spp. que foram utilizados como antígenos, listadas na Quadro 1, foram provenientes de matrizes repicadas semanalmente em meio de cultura líquido de EMJH (Ellinghausen, MacCullough, Johnson e Harris), tendo como inóculo 10% do volume do meio a semear, e mantidas em estufa bacteriológica BOD a 28°C. Todos os antígenos foram utilizados ao redor do sexto dia de incubação. Foram utilizados apenas antígenos puros. A concentração considerada ideal foi padronizada de forma a corresponder à metade da turvação do tubo número 1 da escala de MacFarland (cerca de 100 a 200 leptospiros por campo microscópico), segundo a técnica de Sulzer e Jones (1980). As culturas eram isentas de contaminação e autoaglutinação.

**Quadro 1.** Sorogrupos de *Leptospira* spp. utilizados na soroaglutinação microscópica do Laboratório de Diagnóstico de Brucelose e Leptospirose, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, SP, 2016.

Icterohaemorrhagiae	Celledoni	Batavie	Shermani
Grippotyphosa	Tarassovi	Ballum	Seramanga
Pomona	Panama	Cynopteri	Djasiman
Canicola	Hebdomadis	Australis	Andamana
Sejroe	Autumnalis	Javanica	Pyrogenes

#### 4.2.2 Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)

A presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. nos soros foi verificada pela SAM, a partir de uma diluição 1/50 para animais selvagens e 1/100 para suínos ferais. Dessa diluição foram colocadas alíquotas de 25 µL em placas de polietileno, com fundo plano, e adicionada igual quantidade do antígeno. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica BOD à temperatura de 28°C por uma hora. A leitura foi realizada em microscopia de campo escuro, diretamente na placa, utilizando objetiva de 10x e ocular de 10x.

O critério adotado para considerar um soro como reagente foi a aglutinação de pelo menos 50% das leptospiras no campo microscópico no aumento de 100x. Os soros reagentes na triagem inicial foram reexaminados em quatro diluições seriadas de razão dois e selecionadas apenas as amostras com titulação mínima de 100 para porcos-monteiros e 50 para animais selvagens (ponto de corte) (SANTA ROSA et al., 1975; SANTA ROSA et al., 1980).

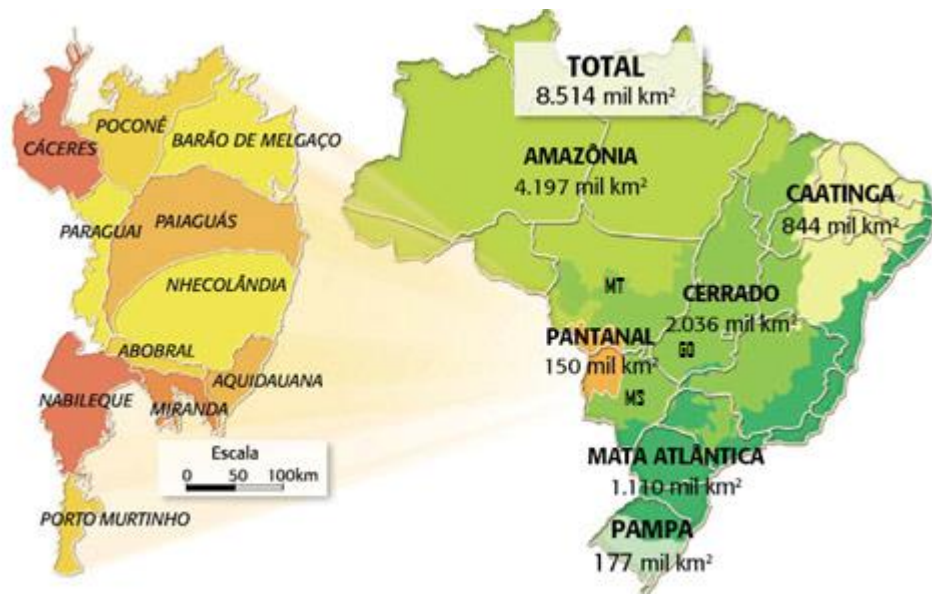
#### 4.3 Delineamento do estudo

Foram colhidas 224 amostras no período entre 2012 e 2014. As espécies e o número de amostras utilizadas neste estudo estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Nome específico, nome comum e número de amostras de acordo dos animais examinados da região de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

<b>Espécie</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Nº de amostras</b>
<i>Cerdocyon thous</i>	Cachorro-do-mato	35
<i>Nasua nasua</i>	Quati	18
<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	Veado-campeiro	95
<i>Sus scrofa</i>	Porco-monteiro	76
<b>Total</b>		<b>224</b>

Na Figura 1, está demonstrada a localização do Pantanal, entre as coordenadas 17° e 22° de latitude sul e 55° e 59° de longitude oeste, bem como suas sub-regiões. Todos os animais foram capturados nas duas sub-regiões centrais do Pantanal do Mato Grosso do Sul, Paiaguás e Nhecolândia.



**Figura 1.** Localização do Pantanal no Brasil e delimitações das sub-regiões pantaneiras. Fonte: [http://www.riosvivos.org.br/arquivos/site\\_noticias\\_410736563.jpg](http://www.riosvivos.org.br/arquivos/site_noticias_410736563.jpg)

A análise dos dados foi baseada no cálculo de frequências de reagentes de acordo com o sexo e de acordo com a faixa etária, comparadas por meio do teste exato de Fisher, e os cálculos foram realizados com o auxílio do programa R.



## 5. RESULTADOS

### 5.1 *Cerdocyon thous* (Cachorro-do-mato)

Foram capturados para este estudo 35 cachorros-do-mato (*C. thous*) nas sub-regiões de Paiaguás e Nhecolândia do Pantanal Sul-Mato-Grossense. Dos 35 animais avaliados, 22 (62,86%) não apresentaram anticorpos contra *Leptospira* spp., enquanto 13 (37,14%) foram considerados reagentes.

Considerando-se o sexo dos animais capturados, 51,43% (18/35) eram machos e 48,57% (17/35) eram fêmeas. Entre os machos observou-se uma frequência de 39,0% de reagentes, ao passo que entre as fêmeas a frequência de reagentes foi de 35,3%, e a diferença entre essas frequências não foi estatisticamente significativa ( $P = 1,0$ ) (Tabela 2).

Avaliando-se a faixa etária dos animais capturados, 8,57% (3/35) possuíam idade abaixo dos 18 meses (subadulta) e 91,43% (32/35) tinham idade acima de 18 meses, ou seja, eram adultos. Dos três subadultos, dois (66,7%) apresentaram títulos de anticorpos, e dos 32 adultos, 11 (34,4%) foram reagentes. Não se observou diferença estatisticamente significativa ( $P = 0,54$ ) entre as frequências de reagentes nas duas faixas etárias (Tabela 2).

**Tabela 2** Número (N) e frequência (%) de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) sororreagentes a *Leptospira* spp. no teste de soroaglutinação microscópica, considerando-se o sexo e a faixa etária do animal, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sexo	Reagentes		Examinados	
	N	%	N	%
Macho	07	39,00	18	100
Fêmea	06	35,30	17	100
<b>Idade</b>				
Subadulta <sup>1</sup>	02	66,70	03	100
Adulta <sup>2</sup>	11	34,40	32	100
<b>Total</b>	13	37,14	35	100

1 – idade inferior a 18 meses

2 – idade superior a 18 meses

Observou-se que dez amostras apresentaram título 50, quatro título 100, cinco título 200 e somente uma apresentou título superior ou igual a 800. Não foram

observadas reações com título 400. Foram observadas reações de 13 amostras contra somente sete das 24 sorogrupos utilizadas na SAM. Os sorogrupos Pomona e Pyrogenes foram os mais frequentes, sendo diagnosticados, cada um, em cinco (38,46%) dos 13 animais reagentes, seguido do Canicola, em quatro (30,77%), do Grippytyphosa em três (23,08%) e do Sejroe em 2 (15,38%) e do Panama em um (7,69%) animal cada (Tabela 3).

**Tabela 3.** Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica a um ou mais dos 20 sorogrupos de *Leptospira* spp. entre os 13 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) sororreagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sorogrupo	Título					TOTAL	
	50	100	200	400	800	N	% <sup>1</sup>
Sejroe	01	01	-	-	-	02	15,38
Canicola	03	01	-	-	-	04	30,77
Pomona	02	-	02	-	01	05	38,46
Grippytyphosa	03	-	-	-	-	03	23,08
Panama	-	-	01	-	-	01	7,69
Pyrogenes	01	02	02	-	-	05	38,46

1 – Porcentagem em relação aos animais sororreagentes (13)

## 5.2 *Nasua nasua* (Quati)

Foram utilizados neste estudo soros de 18 quatis das sub-regiões de Paiaguás e Nhecolândia do Pantanal Sul-Mato-Grossense. Dessas 18 amostras, somente quatro (22,22%) apresentaram reação na SAM.

Dos animais examinados, 12 (66,67%) eram machos e seis (33,33%) eram fêmeas. Entre os machos apenas dois (16,70%) apresentaram título de aglutininas contra *Leptospira* spp., e quanto às fêmeas, duas (33,33%) foram consideradas reagentes. Pelo teste exato de Fisher, não se constatou diferença significativa ( $P = 0,57$ ) entre as frequências de reagentes nos dois sexos (Tabela 9).

Neste estudo não foram capturados animais com idade abaixo dos 24 meses (subadultos). Entre os 18 adultos capturados, quatro (22,22%) eram reagentes, e não foi possível constatar diferença significativa ( $P = 1,0$ ) entre as proporções de animais reagentes por sexo (Tabela 4).

**Tabela 4.** Número (N) e frequência (%) de quatis (*Nasua nasua*) sororreagentes a *Leptospira* spp. no teste de soroaglutinação microscópica, considerando-se o sexo e a idade do animal, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sexo	Reagentes		Examinados	
	N	%	N	%
Macho	02	16,70	12	100
Fêmea	02	33,33	06	100
<b>Idade</b>				
Subadulta	-	-	-	-
Adulta	04	22,22	18	100
<b>Total</b>	04	22,22	18	100

1 - animais abaixo dos 24 meses

2 - animais acima dos 24 meses

Foram observadas sete reações, quatro delas com título 50 e três com título 100. Quanto aos sorogrupos, um animal reagiu ao Sejroe com título 100, um reagiu contra Canicola, Autumnalis e Seramanga, todos com título 50, e dois reagiram contra o sorogrupo Pomona, sendo um deles com título 50 e outro com 100 (Tabela 5).

**Tabela 5.** Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica contra um ou mais dos 20 sorogrupos de *Leptospira* spp. observado em 4 quatis (*Nasua nasua*) sororreagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sorogrupo	Título					Total	
	50	100	200	400	≥800	N	% <sup>1</sup>
Sejroe	-	01	-	-	-	01	25,00
Canicola	01	-	-	-	-	01	25,00
Pomona	01	01	-	-	-	02	50,00
Autumnalis	01	-	-	-	-	01	25,00
Seramanga	01	-	-	-	-	01	25,00

1 – Porcentagem em relação aos animais sororreagentes (04)

### 5.3 *Ozotoceros bezoarticus* (Veado-campeiro)

Foram avaliados soros de 95 veados-campeiros capturados nas regiões de Nhecolândia e Paiaguás do Pantanal Sul-Mato-Grossense. Dessas 95 amostras, 30 (31,58%) foram sororreagentes e 65 (68,42%) foram não sororreagentes. Na tabela 5, são representados os números de reagentes de acordo com o sexo e a faixa etária do animal. Dos 95 animais examinados, 27 (28,42%) eram machos e 68

(71,58%) eram fêmeas. Entre os machos, 25,9% foram reagentes, e entre as fêmeas essa proporção foi de 33,82%. Essas duas frequências não diferiram significativamente ( $P = 0,63$ ) entre si (Tabela 6).

Entre os 95 animais testados, cinco (5,26%) possuíam idade inferior a 12 meses (subadulta) e 90 (97,74%) eram animais adultos, ou seja, com idade acima de 12 meses. Como se pode observar na Tabela 6 entre os subadultos, 20,0% reagiram contra *Leptospira*, e entre os adultos, 32,2%, sendo essa diferença não significativa ( $P = 1,0$ ) (Tabela 6).

**Tabela 6** Número (N) e frequência (%) de veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) sororreagentes a *Leptospira* spp. no teste de soroaglutinação microscópica, de acordo com o sexo e a faixa etária do animal avaliado, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sexo	Reagentes		Examinados	
	N	%	N	%
Macho	07	25,90	27	100
Fêmea	23	33,82	68	100
<b>Idade</b>				
Subadulta <sup>1</sup>	01	20,00	05	100
Adulta <sup>2</sup>	29	32,20	90	100
<b>Total</b>	<b>30</b>	<b>31,58</b>	<b>95</b>	<b>100</b>

1 – idade abaixo dos 12 meses

2 – idade acima dos 12 meses

Foram observadas reações de 30 amostras contra somente sete dos 20 sorogrupos utilizados na soroaglutinação. Entre as amostras sororreagentes, 29 apresentaram título 50, seis título 100, três título 200, duas título 400 e três título  $\geq 800$ . O sorogrupo Pomona foi o mais frequente, sendo diagnosticado em 19 (63,33%) dos 30 animais sororreagentes, seguido do Autumnalis em nove (30,00%), da sorogrupo Icterohaemorrhagiae com 6 (20,00%), Cynopteri em cinco (16,67%), do Grippotyphosa em dois (6,06%) e dos sorogrupos Sejroe e Pyrogenes, cada um em um (3,33%) animal (Tabela 7).

**Tabela 7.** Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica contra um ou mais dos 20 sorogrupos de *Leptospira* spp. entre os 30 veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) reagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sorogrupo	Título					Total	
	50	100	200	400	≥800	N	% <sup>1</sup>
Sejroe	01	-	-	-	-	01	3,33
Icterohaemorrhagiae	05	01	-	-	-	06	20,00
Pomona	08	03	03	02	03	19	63,33
Grippotyphosa	02	-	-	-	-	02	6,06
Autumnalis	08	01	-	-	-	09	30,00
Pyrogenes	-	01	-	-	-	01	3,33
Cynopteri	05	-	-	-	-	05	16,67

1 – Porcentagem em relação ao total de reagentes (30)

#### 5.4 Porco-monteiro (*Sus scrofa*)

Foram testados soros de 76 porcos-monteiros provenientes das regiões de Paiaguás e Nhecolândia do Pantanal Sul-Mato-Grossense. Dessas 76 amostras, 28 (36,84%) apresentaram anticorpos contra *Leptospira* spp., enquanto 48 (63,16%) não reagiram contra essa bactéria. Considerando-se o sexo dos animais, observa-se que das 76 amostras, 49 (64,47%) eram fêmeas, 19 (25,00%) eram machos não castrados e oito (10,53%) eram machos castrados. As proporções de reagentes em machos, machos castrados e fêmeas foram, respectivamente, 31,58%, 12,50% e 42,86%, mas não houve diferença estatisticamente significativa entre elas ( $P = 0,25$ ). Quanto à faixa etária dos animais estudados, o único subadulto capturado não apresentou título de anticorpos contra *Leptospira*, e dos 75 adultos 37,33% apresentaram, não sendo possível ( $P = 1,0$ ) verificar diferença significativa (Tabela 8).

**Tabela 8.** Número (N) e frequência (%) de sororreagentes contra *Leptospira* spp. no teste de soroaglutinação, considerando-se o sexo e a faixa etária do animal, em porcos-monteiros (*Sus scrofa*) das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sexo	Reagentes		Examinados	
	N	%	N	%
Macho	06	31,58	19	100
Castrado	01	12,50	08	100
Fêmea	21	42,86	49	100
<b>Idade</b>				
Subadulta	-	-	01	100
Adulta	28	37,33	75	100
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>36,84</b>	<b>76</b>	<b>100</b>

1 – animais abaixo dos 6 meses de idade

2 – animais acima dos 6 meses

Foram observadas reações de 28 amostras contra 8 das 24 sorogrupos utilizadas no teste de soroaglutinação. O sorogrupo Pomona foi o mais frequente, diagnosticado em 15 (53,57%) dos 28 animais sororreagentes, seguido de Icterohaemorrhagiae, em dez (35,71%), de Seramanga em cinco (17,86%), de Sejroe em três (10,71%), de Australis em dois (7,14%) e de Grippytyphosa em um (3,57%) cada (Tabela 9).

**Tabela 9.** Título de aglutininas pelo teste de soroaglutinação microscópica, contra um ou mais dos 20 sorogrupos de *Leptospira* spp., em 28 porcos-monteiros (*Sus scrofa*) sororreagentes, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

Sorogrupo	Título				Total	
	100	200	400	≥800	N	% <sup>1</sup>
Sejroe	01	01	-	01	03	10,71
Icterohaemorrhagiae	10	-	-	-	10	35,71
Pomona	05	06	04	-	15	53,57
Grippytyphosa	01	-	-	-	01	3,57
Australis	01	-	01	-	02	7,14
Seramanga	04	01	-	-	05	17,86

1 - % em relação ao total de sororreagentes (28)

A Tabela 10 contém o número de amostras e a frequência de animais reagentes de todas as espécies estudadas. A maior frequência de animais reagentes foi observada em cachorro-do-mato (*C. thous*), seguida de porco-monteiro (*Sus scrofa*), veado-campeiro (*O. bezoarticus*) e quati (*N. nasua*).

**Tabela 10.** Número (N) e frequência (%) de sororreagentes para cada espécie animal estudada, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

<b>Espécie</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Nº de amostras</b>	<b>Frequência de reagentes (N/%)</b>
<i>Cerdocyon thous</i>	Cachorro-do-mato	35	13 (37,14%)
<i>Nasua nasua</i>	Quati	18	04 (22,22%)
<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	Veado-campeiro	95	30 (31,58%)
<i>Sus scrofa</i>	Porco-monteiro	76	28 (36,84%)

Na Tabela 11 estão representadas todas as espécies estudadas, assim como o número de amostras reagentes às sorovariedades utilizadas na SAM. Destaca-se que houve maior número de amostras reagentes contra a sorovariedade Pomona (Sorogrupo Pomona) e a Icterohaemorrhagiae (Sorogrupo Icterohaemorrhagiae).

**Tabela 11.** Número de reações contra os sorovares e os sorogrupos de *Leptospira* spp. utilizados na SAM, de cada espécie estudada, das regiões de Nhecolândia e Paiaguás, Pantanal do Mato Grosso do Sul, 2012 a 2014.

<b>Sorogrupo</b>	<b>Sorovares</b>	<b>Cachorro-do-mato</b>	<b>Quati</b>	<b>Veado-campeiro</b>	<b>Porco-monteiro</b>
		<b><i>Cerdocyon thous</i></b>	<b><i>Nasua nasua</i></b>	<b><i>Ozotoceros bezoarticus</i></b>	<b><i>Sus scrofa</i></b>
Sejroe	Wolffi	01	01	-	03
	Hardjo	01	01	01	-
Canicola	Canicola	04	01	-	-
Pomona	Pomona	05	02	19	15
Grippotyphosa	Grippotyphosa	03	-	02	01
Panama	Panama	01	-	-	-
Pyrogenes	Pyrogenes	05	-	01	-
Autumnalis	Autumnalis	-	01	08	-
	Butembo	-	-	01	-
Seramanga	Patoc	-	01	-	05
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	-	-	05	10
	Copenhageni	-	-	01	-
Cynopteri	Cynopteri	-	-	05	-
Australis	Australis	-	-	-	02

## 6. DISCUSSÃO

Algumas amostras de animais selvagens deste estudo apresentaram reação somente na menor diluição (1/50). No entanto, baixos títulos sorológicos em animais selvagens não podem ser conclusivos para se considerar um indivíduo como não infectado, uma vez que o ponto de corte tem variações conforme a espécie e a sua resposta ao agente que está sendo investigado (HERRERA et al., 2008), significando que as frequências encontradas em animais reagentes pode, por vezes, estar sendo subestimada. A maior parte das pesquisas com espécies selvagens utiliza a diluição 1/100 como ponto de corte, mas em animais selvagens ainda não está bem estabelecido esse ponto de corte e para se evitar subestimar reações optou-se pela diluição inicial 1/50.

A detecção de canídeos de vida livre reagentes a *Leptospira* foi observada em vários estudos anteriores (CIRONE et al., 1978; DREWEK; NOON; BICKNELL, 1981; KINGSCOTE, 1986; KHAN et al., 1991; JORGE, 2008), que mostraram número de animais reagentes bem significativos. Neste estudo, a frequência de *C. thous* reagentes foi de 37,14%, semelhante à obtida por Vieira et al. (2011), com 34,21%, por Jorge (2008), com 39,53%, e por Rodrigues et al. (2012), com 42,10%.

A alta frequência aqui encontrada pode ser explicada pelo fator ambiente, pois o clima das sub-regiões de Paiaguás e Nhecolândia é considerado subúmido com temperaturas geralmente elevadas (19 a 28°C) e média pluviométrica de 1.200 mm/ano (GARCIA; CASTRO, 1986), ou seja, esta região oferece condições de umidade e de temperatura propícias para a sobrevivência dessa bactéria.

Outra justificativa seria o fato de esses animais possuírem uma dieta generalista, que consiste de aproximadamente 41% de matéria animal e 59% de vegetais (JÁCOMO; SILVEIRA; DINIZ-FILHO, 2004), que envolve a predação de pequenos mamíferos, principalmente murídeos, e essas presas, quando infectadas, são uma fonte potencial de infecção para os canídeos (REILLY; HANSON; FERRIS, 1970), principalmente considerando que roedores são importantes reservatórios de *Leptospira* spp. e que são frequentemente consumidos pelos carnívoros selvagens (JÁCOMO; SILVEIRA; DINIZ-FILHO, 2004; ROCHA et al., 2008). Por este hábito de



predar roedores seria esperado que os cachorros-do-mato sororreassem ao sorogrupo *Icterohaemorrhagiae*, pois são importantes reservatórios desse sorogrupo, entretanto nenhum animal sororreagiu. Isso pode ser um indício de que os murídeos dessa região sejam reservatórios de outros sorogrupos. Já foi observada, experimentalmente, a infecção via oral de canídeos selvagens pelo sorogrupo *Grippytyphosa* (REILLY; HANSON; FERRIS, 1970) e já foi relatado o isolamento dos sorogrupos *Grippytyphosa* e *Pyrogenes* de roedores (SANTA ROSA et al., 1980). Neste estudo 61,54% dos animais sororreagiram a esses sorogrupos, e isso poderia sugerir a transmissão desse sorogrupo aos carnívoros via alimentação. Esses animais são também oportunistas e acabam ingerindo carcaças de animais domésticos mortos (LEMOS; FACURE; AZEVEDO, 2001), o que também aumenta a chance de eles se infectarem.

Esses animais vivem em pares ou pequenos grupos (NOWAK, 1991), o que permite maior proximidade entre os indivíduos e maior contato entre eles, facilitando a transmissão do agente. Ao observar a distribuição espacial dos animais, nota-se que eles mantêm relativa proximidade, o que aumenta a probabilidade do contato entre os indivíduos e com isso a transmissão de *Leptospira*. Durante a temporada de maior precipitação pluviométrica, esses animais apresentam mais movimentação, pois as inundações os obrigam a se deslocarem, aumentando a possibilidade de interações entre diferentes espécies e com isso a transmissão de enfermidades.

Na região pantaneira é comum observar açudes, construções para reter água das chuvas para que o gado utilize na época de estiagem (TOMAS et al., 2009) e que são também utilizadas por espécies selvagens. Essas coleções de água podem ser contaminadas com urina de animais domésticos e selvagens, permitindo a ocorrência da formação de biofilmes (VINOD KUMAR et al., 2015) e servir como fonte de contaminação para os mamíferos que as utilizam.

A predominância de reações em cachorros-do-mato neste estudo foi contra os sorogrupos *Pomona*, *Pyrogenes*, *Canicola* e *Grippytyphosa*, semelhante ao resultado obtido por Esteves et al. (2005) com animais de cativeiro, sorogrupo *Grippytyphosa*, e por Jorge (2008) com animais de vida livre, sorogrupos

Autumnalis, Canicola, Pyrogenes, Pomona e Australis. Outros estudos com animais cativos obtiveram diferentes sorogrupos: Corrêa et al. (2004), Autumnalis e Cynopteri, Lenharo, Santiago e Lucheis (2012), Hebdomadis e Pyrogenes, e Cunha (2012), que encontraram Panama e Autumnalis. Sorogrupos divergentes em estudos com animais de vida livre foram obtidos por Souza Júnior et al. (2006), Fluminense e Brasiliense, por Vieira et al. (2011), Sejroe, por Fornazari et al. (2015), Australis e Djasiman, e por Silva et al. (2015), Australis, Shermani, Celledoni, Icterohaemorrhagiae e Autumnalis, que ainda isolaram uma estirpe de *Leptospira interrogans*, demonstrando que esta espécie tem a capacidade de albergar essa bactéria em seu organismo.

Em quatis, a frequência foi de 22,22% de animais reagentes, semelhante à obtida por Vieira et al. (2011), com 34,09%, e por Fornazari et al. (2015), com 30,35% de sororreagentes, ambos os estudos com animais de vida livre. Frequências discordantes, em estudos com animais cativos, foram obtidas por Lilenbaum et al. (2002), com 42,86%, e por Langoni et al. (2009), com 52,94% de reagentes. Ainda discordando, mas utilizando animais de vida livre em suas pesquisas, Girio et al. (2004) não encontraram nenhum animal reagente e Souza Júnior et al. (2006) obtiveram 12,9% de animais reagentes.

Não houve diferença nas frequências de reagentes entre machos e fêmeas, no entanto era esperada essa diferença, pois nessa espécie, fêmeas e filhotes formam grupos de até 30 indivíduos e com essa maior proximidade, seria mais fácil a transmissão da doença. Já os machos, solitários, teriam chance de se infectar ao se aproximar dos grupos no período reprodutivo. Outra justificativa para essa frequência é que esses animais têm parte da dieta composta por proteína animal (GOMPPER, 1995), e ao ingerir um animal infectado há maior chance de adquirir uma infecção.

Para os quatis, a maior frequência foi para o sorogrupo Pomona, resultado semelhante foi obtido por Vieira et al. (2011), na mesma região, mostrando que esse sorogrupo tem se mantido em populações dessa espécie no Pantanal com frequências relativamente altas.

Contrariando os resultados aqui obtidos para *N. nasua*, Souza Júnior et al. (2006) observaram a predominância dos sorogrupos Fluminense e Javanica, Rodrigues et al. (2012), do Icterohaemorrhagiae, do Sejroe, do Hebdomadis e do Grippotyphosa, Silva et al. (2015), do Shermani e do Grippotyphosa, e Fornazari et al. (2015), do Australis, do Sejroe e do Icterohaemorrhagiae, todos estudos realizados com animais de vida livre. Resultados divergentes, mas com animais cativos, foram obtidos por Lilenbaum et al. (2002), que encontraram predominância do sorogrupo Icterohaemorrhagiae, e por Langoni et al. (2009), que obtiveram maior frequência para o Icterohaemorrhagiae e o Shermani. As diferenças entre esses resultados em relação a este trabalho podem ser justificadas pelas diferentes regiões estudadas e também porque alguns estudos envolveram animais de cativeiro.

A ocorrência de 31,58% de veados-campeiros reagentes a *Leptospira* spp. no teste de soroaglutinação foi alta, discordando de Rodrigues et al. (2012), com 14,29% de reagentes, de Mathias, Girio e Duarte (1999), com 23,53% de sororreagentes, e de Girio et al. (2004), com 9,76% animais dessa espécie reagentes na SAM, todas essas pesquisas realizadas com animais de vida livre.

Nos cervídeos, os sorogrupos mais frequentes foram Pomona, Icterohaemorrhagiae, Cynopteri e Autumnalis. Também com veados-campeiros de vida livre, Rodrigues et al. (2013) obtiveram cervídeos sororreagentes a Icterohaemorrhagiae, mas para Mathias, Girio e Duarte (1999) e para Girio et al. (2004) o sorogrupo Sejroe foi mais importante nessa espécie.

Péres et al. (2011), ao avaliar o soro de 17 veados-campeiros capturados na região da Nhecolândia do Pantanal Sul-Mato-Grossense, obtiveram 64,71% (11/17) de animais reagentes ao sorogrupo Pomona e 29,41% (5/17) ao sorogrupo Autumnalis, com títulos contra o sorogrupo Pomona variando entre 400 e 6.400. As frequências obtidas por esses pesquisadores estão próximas das encontradas neste estudo, que foram 63,33% (19/30) para Pomona e 30,00% (9/30) para Autumnalis. No entanto, houve discordância em relação aos títulos das reações contra o sorogrupo Pomona, que neste estudo foram baixas, variando de 50 a 400.

Frequentemente são reportados casos da presença dos sorogrupos Sejroe e Pomona em cervídeos. Em pesquisas com cervídeos de cativeiro da Nova Zelândia, verificou-se que infecções pelo sorogrupo Pomona são mais prováveis de causar doença clínica, embora sejam menos comuns, já a ocorrência do sorovar Copenhageni, embora seja rara, tem sido associada com a doença clínica, mas sua patogenicidade em veados não está comprovada (AYANEGUI-ALCERRECA et al., 2007). Em cervídeos, o sorogrupo Pomona tem sido relacionado a casos superagudos de leptospirose, causando febre alta, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia, congestão pulmonar e, ocasionalmente, meningite e morte, podendo causar a “síndrome hemolítica fatal”, principalmente em fêmeas gestantes e em filhotes (MACKINTOSH et al., 2002; UHART et al., 2010). O sorogrupo Pomona possui fosfolipases tóxicas (hemotoxinas) específicas aos fosfolipídeos da membrana plasmática dos eritrócitos dos ruminantes, grupo ao qual pertencem os cervídeos. Essa é uma particularidade determinante na hemólise e nas altas titulações sorológicas (superiores a 1:800) causadas por esse sorogrupo (FAINE et al., 1999).

Sendo o bovino o reservatório natural do sorogrupo Sejroe (LEVETT, 2001), seria esperado que houvesse reações contra esse sorogrupo, uma vez que os cervídeos do Pantanal compartilham com os bovinos as mesmas áreas de forrageamento e fontes de água, no entanto apenas um animal sororreagiu ao Sejroe. Na Nova Zelândia, Ayanegui-Alcerreca et al. (2007) verificaram que os veados pareciam ser hospedeiros de manutenção, incidentais ou acidentais do sorovar Hardjobovis (Sorogrupo Sejroe), acidentais do Copenhageni (Sorogrupo Icterohaemorrhagiae) e, provavelmente, de manutenção do sorovar Pomona (Sorogrupo Pomona), uma vez que algumas infecções persistem por vários meses. O fato de a maior frequência de reações ocorrer contra o sorogrupo Pomona, e na literatura já ter sido citada a possibilidade de cervídeos de outras localidades atuarem na manutenção desse sorogrupo, pode ser um indicativo de que os cervídeos no Pantanal do Mato Grosso do Sul também atuem na manutenção do Pomona nessa região.

Ressalta-se ainda que o sorogrupo Pomona pode persistir até seis meses em solos saturados de umidade (SOBESTIANSKY et al., 1999), ou seja, a região pantaneira além de possuir reservatórios ainda oferece condições para a sobrevivência desse sorogrupo, o que poderia explicar a maior proporção de animais reagentes a ele, não apenas nos veados-campeiros, mas também em todas as espécies estudadas.

Os veados-campeiros realizam o forrageamento em campos parcialmente inundados e próximo a baías, coleções de água, e parte de sua dieta envolve plantas aquáticas (LACERDA, 2008). Esse hábito alimentar associado à possibilidade de formação de biofilmes por bactérias patogênicas (VINOD KUMAR et al., 2015) poderiam justificar também a presença da alta proporção de animais reagentes.

Os *O. bezoarticus* podem viver isoladamente ou formar duplas e pequenos grupos (LACERDA, 2008), e tal característica social aumenta a proximidade entre os indivíduos, o que pode facilitar a transmissão de *Leptospira*.

Entre os 76 porcos-monteiros avaliados, 28 (36,84%) foram reagentes, valor esse bem acima daquele encontrado por Girio et al. (2004), na região de Nhecolândia, com 17,90% de reagentes, por Paes et al. (2008), nas regiões de Rio Negro e Nhecolândia, com 9,30% de sororreagentes, ambos estudos com animais de vida livre. Frequências mais próximas à encontrada neste estudo foram obtidas por Pavlov et al. (1992) e Manson et al. (1998), que relataram 23% e 20% de reagentes, respectivamente, em suínos selvagens. Resultados ainda semelhantes realizados com animais semiconfinados e confinados, foram obtidos por Marchiori Filho et al. (2002) que encontraram uma frequência de 21,20% e por Fornazari et al. (2011), que obtiveram 20,54% de animais com título de aglutininas contra *Leptospira* spp.

Já frequências superiores, em estudos na mesma região, foram obtidas por Fontana (2011), com 71,52% de suínos ferais sororreagentes, e por Freitas et al. (2010), em queixadas (*T. pecari*), com 70% de animais positivos na sorologia.

A alta proporção de porcos-monteiros reagentes pode ser explicada pelo hábito desses animais de vida livre de chafurdarem na lama para sua termorregulação, e como eles eliminam grandes quantidades de leptospira na urina por períodos superiores a um ano (RAMOS; SOUZA; LILENBAUM, 2006; MIRAGLIA et al. 2008), acabam, com esse hábito, urinando em fontes de água e lama, contaminando-as, dispersando com certa facilidade a doença para outros indivíduos. Adicionalmente a isso foi observado, em algumas propriedades, que esses animais se alimentavam de carcaças de outras espécies, fazendo com que esses suínos tenham maiores chances de adquirir infecções. O fato de esses animais serem sociáveis e formarem grupos (DESBIEZ; BODMER; TOMAS, 2009) faz com que esse contato íntimo aumente a probabilidade dos animais de transmitirem e de se infectarem.

Freitas et al. (2010) verificaram em queixadas (*T. pecarí*) que a soropositividade foi fortemente associada à faixa etária dos animais, aumentando de acordo com a idade e chegando a 100% nos animais com mais de oito anos. Além disso, ao aumentar a idade, a composição de sorogrupos sofreu variações, e os títulos de aglutininas aumentaram, sugerindo exposições cumulativas, de longo prazo e a uma variedade maior de sorogrupos de *L. interrogans*. Entretanto, a soropositividade foi independente do sexo. Neste estudo, não se verificou associação da doença nem com a idade nem com o sexo nos suínos estudados, o que pode estar relacionado com o baixo número de animais capturados. Para todas as espécies era esperada diferença entre a frequência de adultos e subadultos reagentes, já que um animal mais velho teria maior probabilidade de se expor ao agente com o passar dos anos, no entanto esta diferença não foi significativa, o que poderia ser justificado pelo baixo número de animais subadultos capturados.

Os sorogrupos mais frequentes neste estudo para a espécie *S. scrofa* foram o Pomona e o Icterohaemorrhagiae. Resultados semelhantes foram obtidos por Pavlov et al. (1992) e Manson et al. (1998), em estudos com suínos selvagens, que encontraram o sorogrupos Pomona. Em estudos com suínos ferais de vida livre, Paes et al. (2008) obtiveram o Icterohaemorrhagiae, o Shermani e o Seramanga, Fontana (2011), o Icterohaemorrhagiae, o Pomona e o Autumnalis, e Girio et al.

(2004), o Icterohaemorrhagiae. Em queixadas (*T. pecari*), Freitas et al. (2010) observaram o Icterohaemorrhagiae e o Autumnalis. Já com animais de cativeiro, Marchiori Filho et al. (2002) verificaram os sorogrupos Icterohaemorrhagiae, Sejroe e Seramanga e Fornazari et al. (2011) encontraram o Sejroe, o Icterohaemorrhagiae e o Pomona como os mais frequentes.

O sorogrupo Pomona está frequentemente associado à leptospirose em suínos em todo o mundo. Levantamentos sorológicos feitos no Brasil também identificaram esse sorogrupo como o mais prevalente em suínos (MIRAGLIA et al., 2008), o que explicaria ter sido encontrado com maior frequência nos suínos deste estudo. Sobestiansky et al. (1999), além do Pomona, ainda citam como os sorogrupos de *Leptospira* mais comuns em suínos o Icterohaemorrhagiae, o Tarassovi, o Canicola, o Grippotyphosa, o Australis e o Muenchen. Acrescente-se que os quatro primeiros já foram isolados de suínos no Brasil. Ramos, Souza e Lilenbaum (2006) citam também os sorogrupos Pomona, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi como sendo os mais comuns em suínos. Pomona, Canicola e Autumnalis são sorogrupos que também foram identificados em carnívoros nativos no norte do Pantanal, porém Icterohaemorrhagiae e Autumnalis foram mais frequentes em cavalos da mesma região (FREITAS et al., 2010). Entre os roedores, considerados os principais reservatórios de leptospirose em áreas rurais e urbanas, o sorogrupo mais frequentemente isolado de *L. interrogans* é o Icterohaemorrhagiae (JORI et al., 2009). Essa convivência interespecífica poderia explicar a ocorrência dos sorogrupos Autumnalis e Pomona nos cervídeos, Pomona nos quatis, Pomona, Grippotyphosa e Canicola em cachorros-do-mato e a alta frequência de Pomona e Icterohaemorrhagiae em porcos-monteiros.

O porco-monteiro apresenta elevada população na região (MOURÃO et al., 2002), e a hipótese já levantada por Vieira et al. (2011), segundo a qual esses suínos possam estar transmitindo o sorovar Pomona (Sorogrupo Pomona) à população de veados-campeiros, fica ainda mais evidente, e os dados desta pesquisa reforçam a hipótese levantada. O suíno feral, por ser uma espécie introduzida na região, pode ter disseminado o sorogrupo Pomona para as espécies

selvagens, principalmente para os cervídeos, e, atualmente, os suínos ferais e os veados atuarem na manutenção desse sorogrupo na região pantaneira.

O sorogrupo Pomona foi o mais frequente em todas as espécies selvagens deste estudo. Por isso, ressalta-se a importância do suíno feral na manutenção desse sorogrupo e também na possível transmissão para outras espécies, não somente aos cervídeos. É necessário que se entenda melhor o papel dos animais de vida livre na epidemiologia da doença no Pantanal do Mato Grosso do Sul e, principalmente, do porco-monteiro uma vez que esta espécie é passível de controle populacional, além de existirem vacinas disponíveis para suínos, evitando-se assim que os porcos-monteiros continuem contribuindo na manutenção do ciclo da leptospirose nessa região.



## 7. CONCLUSÃO

Diferentes sorogrupos de *Leptospira* spp. circulam entre as espécies animais estudadas do Pantanal do Mato Grosso do Sul, tendo em vista as altas frequências de animais selvagens e de suínos ferais sororreagentes, com predominância dos sorogrupos Pomona, Pyrogenes, Canicola e Grippotyphosa em cachorros-do-mato (*C. thous*), Pomona em quatis (*Nasua nasua*), Pomona, Autumnalis, Icterohaemorrhagiae e Cynopteri em veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) e Pomona e Icterohaemorrhagiae em porcos-monteiros (*Sus scrofa*).

## REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales 3. ed. Washington: **Organización Panamericana**, 384 p. 2001.
- ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 149, n 3-4, p. 287-296. 2010.
- AHMAD, S. N.; SHAH, S. e AHMAD, F. M. H. Laboratory diagnosis of leptospirosis. **Journal of Postgraduate Medicine**. v.51, n.3, p.195-200, 2005.
- AMARAL, J. A. M. **Solos do Pantanal**. In: ALLEM, A. C.; VALLS, J. F. M. Recursos forrageiros nativos do Pantanal Mato-Grossense. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, p. 19-22. 1987.
- ANA (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS). Implementação de práticas de gerenciamento integrado de bacia hidrográfica para o Pantanal e a Bacia do Alto Paraguai: programas de ações estratégicas para o gerenciamento integrado do pantanal e Bacia do Alto Paraguai. GEF. Relatório Final. Brasília: Athalaia Gráfica e Editora, 513 p., 2004.
- AYANEGUI-ALCERRECA, M. A.; WILSON, P.R.; MACKINTOSH, C. G.; COLLINS-EMERSON, J. M.; HEUER, C.; MIDWINTER, A. C.; CASTILLO-ALCALA, F. Leptospirosis in farmed deer in New Zealand : a review. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 55, n. 3, p. 102-8, 2007.
- BEISIEGEL, B. M. **Contribuição ao estudo da história natural do cachorro do mato, *Cerdocyon thous* e do cachorro vinagre, *Spethous venaticus***. 1999. 100 f. Tese (Etologia), Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- BEISIEGEL B. M. Notes on the coati, *Nasua nasua* (Carnivora: Procyonidae) in an Atlantic forest area. **Brazilian Journal of Biology**, v. 61, p. 689-692, 2001.
- BHARTI, A. R.; JARLATH, E. N.; RICARDI, J. N.; MATTHIAS, M. A.; DIAZ, M. M.; LOVETT, M. A.; LEVETT, P. N.; GILMAN, R. H.; WILLIG, M. R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J. M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infectious Disease**, v. 3, n. 12, p. 757-771, 2003.
- BISBAL, F. J. 1986. Food habits of some neotropical carnivores in venezuela (Mammalia, Carnivora). **Mammalia**, v. 50, p. 329-339, 1986.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2ª ed. 98 p. 1995.

BRASIL. **Plano de conservação da Bacia do Alto Paraguai – PCBAP: Projeto Pantanal, Programa Nacional do Meio Ambiente - PNMA**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, v. 3. 1997.

CADAVID GARCIA, E. A. **O clima no Pantanal Matogrossense**. Corumbá: Embrapa/ UEPAE de Corumbá. Circular Técnica, n. 14, 42 p., 1984.

CIRONE, S. M.; REIMANN, H. P.; RUPPNER, R.; BEHYMER, D. E.; FRANTI, C. E. Evaluation of the hemagglutination test for epidemiological studies of leptospiral antibodies in wild mammals. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 14, p. 193-202, 1978.

CORRÊA, S. H. R.; VASCONCELLOS, S. A.; TEIXEIRA, A. A.; DIAS, R. A.; GUIMARÃES, M. A. B. V.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Epidemiologia da leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 3, p. 189-193, 2004.

COURTENAY, O.; MAFFEI, L. Crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766). In SILLERO-ZUBIRI, C.; HOFFMANN, M.; MACDONALD, D. W. Eds. **Canids: Foxes, Wolves, Jackals and Dogs**. Status Survey and Conservation Action Plan. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN/SSC Canid Specialist Group. 2004.

CUNHA, R. C. S. C. C. 2012. 28 f. **Ocorrência de anticorpos anti-Leptospira spp., anti-Toxoplasma gondii e anti-Neospora caninum em carnívoros selvagens e domésticos de Unidades de Conservação de Pernambuco**. Dissertação (Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.

CURI, N. H. A. **Avaliação do estado de saúde e do risco de transmissão de doenças entre canídeos (Mammalia, Carnivora) silvestres e domésticos na região da Serra do Cipó, Minas Gerais: Implicações para conservação**. 2005. 100 f. Dissertação (Zoologia de Vertebrados). Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2005.

DESBIEZ, A. L. J.; BODMER, R. E.; TOMAS, W. M. Mammalian densities in a neotropical wetland subject to extreme climatic events. **Biotropica**, v. 42, p. 372-378, 2009.

DESBIEZ, A. L. J.; KEUROGHLIAN, A.; PIOVEZAN, U.; BODMER, R. E. Invasive species and bushmeat hunting contributing to wildlife conservation: the case of feral pigs in a Neotropical wetland. **Fauna & Flora International**, Oryx, v. 45, p.78-83, 2011.

DIAS, B. F. S. A conservação da natureza. In: PINTO, M. N. **Cerrado: Caracterização, Ocupação e Perspectivas**. Editora Universidade de Brasília. Brasília. p. 607-663. 1994.

DREWEK, J; NOON, TH; BICKNELL, EJ. Serologic evidence of leptospirosis in a southern Arizona coyote population. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 17, n. 1, p. 33-37, 1981.

DUARTE, J. M. B.; MERINO, M. L. Taxonomia e Evolução, p. 02-08. In: \_\_\_\_\_ **Biologia e Conservação dos Cervídeos Sul-americanos**. São Paulo, FUNEP, 238p. 1997.

DUARTE J. M. B. *Artiodactyla – Cervidae (Veado-catingueiro, Veado-campeiro, Cervo-do-pantanal)*. In: **Tratado de Animais Selvagens - Medicina Veterinária**. 1ª ed. Roca, São Paulo, p.641-664, 2007.

ESTEVES, F. M.; GUERRA-NETO, G.; GIRIO, R. J. S.; SILVA-VERGARA, M. L.; CARVALHO, A. C. F. B. Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais e funcionários do zoológico municipal de Uberaba, MG. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 283-288, jul./set, 2005.

FACURE, K. G.; GIARETTA, A. A. Food habits of carnivore in a costal Atlantic forest of southeastern Brazil. **Mammalia**, v. 60, p. 499–502, 1996.

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

FAUCHER, J. F.; ESTAVOYER, B. H.; ESTAVOYER, J. M. The management of leptospirosis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 5, n. 4, p. 819-827, 2004.

FORNAZARI, F.; CAMOSSO, L. G.; SILVA, R. C.; GUAZELLI, A.; RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H. Leptospiral antibodies in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 17, n. 1, 2011.

FORNAZARI, F.; MARSON, P. M.; TEIXEIRA, C. R.; SILVA, V. M. C.; LANGONI, H. Epidemiologia da leptospirose em animais silvestres e vida livre da região de Botucatu, SP. **Anais eletrônicos...** 2015. Disponível em <<http://szb.org.br/resumos2015.html#7>>. Acesso em: 12 de janeiro de 2016.

FONTANA, I. **Avaliação do porco monteiro na cadeia epidemiológica da leptospirose em sub-regiões do Pantanal Sul-Mato-Grossense**. 2011. 62 f. Dissertação (Saúde Animal), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de Brasília, Brasília, DF. 2011.

FREITAS, T. P. T.; KEUROGHLIAN, A.; EATON, D. P.; FREITAS, E. B.; FIGUEIREDO, A.; NAKAZATO, L.; OLIVEIRA, J. M.; MIRANDA, F.; PAES, R. C.; MONTEIRO, L. A.; LIMA, J. V.; NETO, A. A.; DUTRA, V.; FREITAS, J. C. Prevalence of *Leptospira interrogans* antibodies in free-ranging *Tayassu pecari* of the Southern Pantanal, Brazil, an ecosystem where wildlife and cattle interact. **Tropical Animal Health Production**, v. 42, p. 1695-703, 2010.

GARCIA, E. A.; CASTRO, L. H. R.; Análise da frequência de chuva no Pantanal Mato-Grossense. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.21, n. 9, p. 909-925, 1986.

GENOVEZ, M. E. **Leptospirose: uma doença além da época das chuvas! n. 8, 2007** Disponível em: < [http://www.biologico.sp.gov.br/artigos\\_ok.php?id\\_artigo=8](http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=8) > Arquivos do Instituto Biológico. Acesso em: 19 de junho de 2014.

GIRIO, R. J. S.; HERRERA, R. C. P.; PEREIRA, F. J. G.; MATHIAS, L. A. Pesquisa de infecção por *Leptospira Interrogans* em animais da região de Nhecolândia, no Pantanal do Mato Grosso do Sul. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 65, p. 87, 1999.

GIRIO, R. J. S.; PEREIRA, F. L. G.; FILHO, M. M.; MATHIAS, L. A.; HERREIRA, R. C. P.; ALESSI, A. C.; GIRIO, T. M. S. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil: utilização da técnica de imunistoquímica para detecção do agente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 165-169, 2004.

GOMPPER, M. E. *Nasua narica*. **Mammalian species**, v. 487, p. 1-10. 1995.

GONZÁLEZ, C.; LEONEL, L. Enfermedades emergentes y reemergentes, catástrofes y cambios climáticos, **Revista del Colegio de Medicos y Cirujanos de Guatemala**, v. 8, n. 3, p. 3-4, 1998.

HARRIS, M. B.; ARCÂNGELO, C.; PINTO, E. C. T.; CAMARGO, G.; NETO, M. B. R.; SILVA, S. M.; Estimativa da perda de cobertura vegetal original na Bacia do Alto Paraguai e Pantanal brasileiro: ameaças e perspectivas. Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, **Natureza & Conservação**, Curitiba-PR. v. 4, nº 2, p. 1-224, 2006.

HERRERA, H. M.; LISBOA, C. V.; PINHO, A. P.; OLIFIERS, N.; BIANCHI, R. C.; ROCHA, F. L.; MOURÃO, G. M.; JANSEN, A. M. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma cruzi* in the Pantanal region, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, vol.102, p. 1133-1139, 2008.

HORSH, F. Leptospirose. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**, São Paulo: Rocca, p. 305-326. 1999.

IBGE **Censo Agropecuário 1995-1996**: número 24. Mato Grosso. Rio de Janeiro: IBGE, 231 p. 1998.

IBGE. **Mapa de Biomas do Brasil; primeira aproximação**. Rio de Janeiro: IBGE. 2004.

JÁCOMO, A. T. A.; SILVEIRA, L. e DINIZ-FILHO, J. A. F. Niche separation between the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), the crab eating fox (*Dusocyon thous*) and the hoary fox (*Dusocyon vetulus*) in central Brazil, **Journal of Zoology (London)**, v. 262, p. 99-106, 2004.

JORGE, R. S. P. 2008. 105 f. **Caracterização do estado sanitário dos carnívoros selvagens da RPPN SESC Pantanal e de animais domésticos da região**. Tese (Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. 2008.

JORI, F.; GALVEZ, H.; MENDOZA, P.; CESPEDES, M.; MAYOR, P. Monitoring of leptospirosis in a colony of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*) from the Peruvian Amazon. **Research in Veterinary Science**, v. 86, p.383-387, 2009.

JUAREZ, K. M.; MARINHO-FILHO, J. Diet, habitat use and home ranges of sympatric canids in Central Brazil. **Journal of Mammalian**, v. 83, n. 4, p. 925-933, 2002.

KHAN, M. A.; GOYAL, S. M.; DIESCH, S. L.; MECH, L. D.; FRITTS, S. H. Seroepidemiology of leptospirosis in Minnesota wolves. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 27, p. 248-253, 1991.

KINGSCOTE, B. F. Leptospirosis in red foxes in Ontário. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 22, p. 475-478, 1986.

LACERDA, A. C. R. **Ecologia e estrutura social do veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) no Pantanal**. 2008. 194 f. Tese (Biologia Animal), Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LANGONI, H.; KAWAGUCHI, M. F.; OSHIKA, J. C.; SILVA, R. C.; TEIXEIRA, C. R. *Leptospira* spp. antibodies in captive coatis (*Nasua nasua*, Storr, 1780) (Carnivora: Procyonidae). **The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. 762-767, 2009.

LEMOS, F. G.; FACURE, K. G.; AZEVEDO, F. C. A first approach to the comparative ecology of the hoary fox and the crab-eating fox in a fragmented human altered landscape in the Cerrado biome at Central Brazil. In: ROSALINO, L. M. e GHELER-COSTA, C. (eds.). **Middle-sized carnivores in agricultural landscapes**. Nova Science Publishers, New York, p. 143-160, 2001.

LENHARO, D. K.; SANTIAGO, M. E. B.; LUCHEIS, S. B. Avaliação sorológica para leptospirose em mamíferos silvestres procedentes do Parque Zoológico Municipal de Bauru, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 3, p. 333-341, jul./set., 2012.

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

LILENBAUM, W.; MONTEIRO, R. V.; RISTOW, P.; FRAGUAS, S.; CARDOSO, V. S.; FEDULLO, L. P. L. Leptospirosis antibodies in mammals from Rio de Janeiro Zoo, **Brazilian Research in Veterinary Science** (Short communication), vol. 73, p. 319–321, 2002.

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**, vol.78, p. 124–126, 1984.

LOURIVAL, R. M.; HARRIS, J. R.; MONTAMBAULT, J. R. Introdução ao Pantanal, MS, Brasil, In P. W. WILLINK, B. CHERNOFF, L. E. ALONSO, J. R. MONTAMBAULT; R. LOURIVAL .Eds. A biological assessment of the aquatic ecosystems of the Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rap bulletin of biological assessment**. Washington:Conservation International, p.146-151., 2000.

MACDONALD, D. W.; COURTENAY, O. Enduring social relationships in a population of crab-eating zorros, *Cerdocyon thous*, in Amazonian Brazil (Carnivora, Canidae). **Journal of Zoology**, v. 239, p. 329-355, 1996.

MACKINTOSH, C.; HAIGH, J. C.; GRIFFIN, F. Bacterial diseases of farmed deer and bison. **International Office Epizootics**, v. 21, n. 2, p. 249-263, 2002.

MASON, R. J.; FLEMING, P. J. S.; SMYTHE, L. D.; DOHNT, M. F.; NORRIS, M. A.; SYMONDS, M. L. *Leptospira interrogans* antibodies in feral pigs from New South Wales. **Journal of Wildlife Disease**, v.34, n. 4, p.738-43, 1998.

MARCHIORI FILHO, M.; GIRIO, R. J. S.; LUI, J. F.; MATHIAS, L. A.; BRASIL, A. T. R. Estudo sorológico para leptospirose em populações de diferentes grupos genéticos de javalis (*Sus scrofa scrofa*, LINNAEUS, 1758) dos Estados de São Paulo e Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 3, 2002.

MATHIAS, L. A.; GIRIO, R. J. S.; DUARTE, J. M. B. Serosurvey for antibodies against *Brucella abortus* and *Leptospira interrogans* in pampas deer from Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, n. 1, p.112-114, 1999.

MERINO, M. L.; GONZALES, S.; LEEUWENBERG, F.; RODRIGUES, F. H. G.; PINDER, L. E.; TOMAS, W. M. 1997. Veado Campeiro (*Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758). Distribuição, História Natural, Ecologia e Conservação, p. 42-58. In: DUARTE, J. M. B. **Biologia e Conservação de Cervídeos Sul-americanos: Blastocerus, Ozotoceros e Mazama**. Jaboticabal: FUNEP, 238p., 1997.

MIRAGLIA, F.; MORENO, A. M.; GOMES, C. R.; PAIXÃO, R.; LIUSON, E.; MORAIS, Z. M.; MAIORKA, P.; SEIXAS, F. K.; DELLAGOSTIN, O. A.; VASCONCELLOS, S. A. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* from pigs slaughtered in São Paulo state, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 501-507, 2008.

MONTGOMERY, G. G.; LUBIN, Y. D. Social structure and food habits of crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in venezuelan llanos. **Acta Científica Venezuelana**, v. 29, p. 382-383, 1978.

MOURÃO, G.; COUTINHO, M.; MAURO, R.; CAMPOS, Z.; TOMAS, W.; MAGNUSSON, W. Aerial surveys of caiman, marsh deer and pampas deer in the Pantanal Wetland of Brazil. **Biology Conservation**, v. 92, p. 175-183, 2000.

MOURÃO, G. M.; COUTINHO, M. E.; MAURO, R. A.; TOMÁS, W. M.; MAGNUSSON, W. Levantamentos aéreos de espécies introduzidas no Pantanal: porcos ferais (porco-monteiro), gado bovino e búfalo. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 28, Corumbá, MS, 21 p., 2002.

MOURÃO, G; OLIVEIRA, M. D.; CALHEIROS, D. F.; PADOVANI, C. R.; MARQUES, E. J.; UETANABARO, M. **O Pantanal Matogrossense**: Site 2. Projetos Ecológicos de Longa Duração – PELD, Manaus, AM. 2004.

MURI, A. F.; PIOVEZAN, U.; LIMA, T. N.; RIBEIRO, D. B.; MARTINS, F. I.; ORTIZ-MARTINÉZ, T. Piletas: água para o gado e para a fauna no Pantanal da Nhecolândia. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, Comunicado Técnico 59, 5 p., 2007.

NOWAK, R. M. Order Carnivora. In: \_\_\_\_\_. **Walker's Mammals of the World**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press., v. II, p. 1045-1083, 1991.

PAES, R. C. S.; RIBEIRO, O. C.; CARNEIRO MONTEIRO, L. A. R.; FIGUEIREDO, A. O.; NETO, A. A. C.; OLIVEIRA, J. M.; DA ROSA, G. O.; KEUROGLIAN, A.; PIOVEZAN, U.; HERRERA, H. M. Enfermidades de ocorrência no porco monteiro (*Sus scrofa*) no Pantanal sul-mato-grossense, Brasil. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35, 2008, Gramado. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0865-.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2016.

PALANIAPPAN, R. U. M.; RAMANUJAN, S.; CHANG, Y. F. Leptospirosis: pathogenesis, immunity and diagnosis. **Current opinion in infection diseases**, v. 20, p. 284-292, 2007.

PAVLOV, P. M.; CROME, F. H. J.; MOORE, L. E. Feral pigs, rainforest conservation and exotic disease in north Queensland. *Wildlife Research*, v. 19, p. 179-193, 1992.

PÉRES, I. A. H. F. S.; VASCONCELLOS, S. M.; MORAIS, Z. M.; OLIVEIRA, C. E.; ROSINHA, G. M. S.; SOARES, C. O.; TOMAS, W. M.; PELLEGRIN, A. O. Variáveis de risco associadas à ocorrência da leptospirose e às taxas reprodutivas em veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) na região da Nhecolândia, Corumbá, MS, Brasil. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 9, n. 3, 2011.



RAMOS, A. C. F.; SOUZA, G. N.; LILENBAUM, W. Influence of leptospirosis on reproductive performance of sows in Brazil. **Theriogenology**, v. 66, p.1021- 1025, 2006.

REILLY, J.R.; HANSON, L.E.; FERRIS, D.H. Experimental induced predator-food chain transmission of *Leptospira grippotyphosa* from rodents to wild marsupialia and carnivore. **American Journal of Veterinary Research**, 31, p. 1443-1448, 1970.

ROCHA, F. L. **Áreas de uso e seleção de habitats de três espécies de carnívoros de médio porte na Fazenda Nhumirim e arredores, Pantanal da Nhecolândia, MS**. 2006. 92 f. Dissertação (Ecologia), Universidade Federal de Mato Grosso do sul, Campo Grande. 2006.

ROCHA, V. J.; AGUIAR, L. M.; SILVA-PEREIRA, J. E.; MORO-RIOS, R. F.; PASSO, F. C. Feeding habits of the crab-eating fox, *Cerdocyon thous* (Carnivora: Canidae), in a mosaic area with native and exotic vegetation in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 25, p. 594-600, 2008.

RODRIGUES, T. C. S.; SANTOS, A. L. Q.; LIMA-RIBEIRO, A. M. C.; GOMES, D. O.; TAVARES, T. C.; AZEVEDO, F. C.; LEMOS, F. G.; ARRAIS, R. C. Ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em canídeos selvagens de vida livre no cerrado brasileiro. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 18. n. 2, p. 51-56, jul-dez. 2012.

RODRIGUES, T. C. S.; SANTOS, A. L. Q.; LIMA-RIBEIRO, A. M. C.; GOMES, D. O.; TAVARES, T. C. F. Inquérito sorológico para leptospirose em veados-campeiros de Uberlândia. **Ars veterinária**, v. 29, n. 4, 2013

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; GIORGI, W.; SILVA, A. S.; YANAGUITA, R. M.; LOBÃO, A. O. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of a new serotype in Pyrogenes group. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, 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**, Taipei, v. 7, p. 40-43, 1980.

SANTOS, S. A.; COSTA, C.; CRISPIM, S. M. A.; PELLEGRIN, L. A.; RAVAGLIA, E. Estimativa da capacidade de suporte das pastagens nativas do Pantanal, sub-região da Nhecolândia. Corumbá: Embrapa Pantanal, 31 p. 2002.

SHARMA, S.; VIJAYACHARI, P.; SUGUNAN, A. P.; SEHGAL, S. C. Leptospiral carrier state and seroprevalence among animal population – a cross-sectional sample survey in Andamana and Nicobar Islands. **Epidemiology and Infection**, v. 131, p. 985-989, 2003.

SILVA, J. S. V.; ABDON, M. M.; SILVA, M. P. Delimitação do Pantanal Brasileiro e suas sub-regiões. **Encontro sobre sensoriamento remoto aplicado a estudos no Pantanal**. Livro de resumos, Corumbá. São José dos Campos, INPE, p. 9-10. 1995.

SILVA, R. C.; ZETUN, C. B.; BOSCO, S. M. G.; BAGAGLI, E.; ROSA, P. S.; LANGONI, H. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. **Veterinary Parasitology**, n. 157, p. 291-293, 2008.

SILVA, F. J.; SANTOS, C. E. P.; SILVA, T. R.; SILVA, G. C. P.; LOFFLER, S. G.; BRIHUEGA, B.; ALARCON, M. F. F.; CURCI, V. C. M.; MATHIAS, L. A. Pesquisa de leptospirosas e de anticorpos contra leptospirosas em animais e humanos de propriedades rurais nos biomas brasileiros Pantanal e Caatinga **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 52, n. 3, p. 234-248, 2015.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.; MORES, N.; CARVALHO, L. F.; OLIVEIRA, S. **Clínica e patologia suína**. 2.ed. Goiânia:Universidade Federal de Goiás, 464p., 1999.

SOUZA JUNIOR, M. F.; LOBATO, Z. I. P.; LOBATO, F. C. F.; MOREIRA, E. C.; OLIVEIRA, R. R.; LEITE, G. G.; FREITAS, T. D.; ASSIS, R. A. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do Estado do Tocantins, 2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 3, p. 292-294, 2006.

SULZER, C. R.; JONES, W. L. **Leptospirosis: method in laboratory diagnosis**. Atlanta: Center for Diseases Control. 1980.

TEIXEIRA, R. H. F.; AMBRÓSIO, S. R. Carnívora - Procyonidae (quati, mão-pelada, jupará). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens**. Roca. São Paulo, p. 1376, 2007.

THIERMANN, A. B. Leptospirosis: Current development and trends. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 184, p. 722- 725, 1984.

TOMAS, W. M.; MCSHEA, W.; MIRANDA, G. H. B.; MOREIRA, J. R.; MOURÃO, G.; LIMA BORGES, P. A.. A survey of a pampas deer, *Ozotoceros bezoarticus leucogaster* (Arctiodactyla: Cervidae) population in the Pantanal wetland, Brazil, using the distance sampling technique. **Animal Biodiversity & Conservation**, v. 24, p.101-106, 2001.

TOMAS, W. M.; MOURÃO, G. M.; CAMPOS, Z. M. S.; SALIS, S. M.; SANTOS, S. A. **Intervenções humanas na paisagem e nos habitats do Pantanal**. Dados eletrônicos. Corumbá: Embrapa Pantanal, 58 p. 2009.

UHART, M.; MANGINE, P.; GAUVEZ, C.; CORTI, P.; MILANO, F.; JORGE, M.; GIRIO, R.; MATHIAS, L.; SCHETTINO, A.; CATENA, M.; TERRAGNO, R.; APRILE G. Bacterial Diseases. In: **Neotropical Cervidology Biology and Medicine of Latin American Deer**.FUNEP/IUCN:São Paulo, p.342-362. 2010.

ULLMANN, L. S.; HOFFMANN, J.; MORES, W.; CUBAS, Z. S.; SANTOS, L. C.; SILVA, R. C.; CAMOSSI, L. G.; MOREIRA, N.; GUIMARAES, A. M. S.; MONTAÑO,

P.; LANGONI, H.; BIONDO, A. W. **Prevalence of *Leptospira interrogans* antibodies in captive wildcats of Southwestern Brazil.** In: XXXI Congresso da Sociedade de Zoológicos do Brasil, XIV Congresso da Associação Latinoamericana de Parques Zoológicos e Aquários e do XVI Encontro da Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens, São Paulo, 2007.

VASCONCELLOS, S. A. O papel dos reservatórios na manutenção da leptospirose na natureza. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 11, p. 17-24, 1987.

VIEIRA, A.; ROSINHA, G. M. S.; OLIVEIRA, C. E. O.; VASCONCELLOS, S. A.; LIMA-BORGES, P. A.; TOMÁS, W. M.; MOURÃO, G. M.; LACERDA, A. C. R.; SOARES, C. O.; ARAÚJO, F. R.; PIOVEZAN, U.; ZUCCO, C. A.; PELLEGRIN, A. O. Survey of *Leptospira* spp. in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus*) in the Pantanal wetlands of the state of Mato Grosso do Sul, Brazil by serology and polymerase chain reaction. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.106, n.6, p 763-768, 2011.

VINOD KUMAR, K.; LALL, C.; VIMAL RAJ, R.; VEDHAGIRI, K.; VIJAYACHARI, P. Molecular detection of pathogenic leptospiral protein encoding gene (lipL32) in environmental aquatic biofilms. **Letters in Applied Microbiology**, v. 62, p. 311-315, 2016.

WEBSTER, J. P.; ELLIS, W. A.; MACDONALD, D. W. Prevalence of *Leptospira* spp. in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. **Epidemiology and Infection**, v. 114, n. 1, p. 195-201, 1995.

WHO. World Health Organization. **Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control.** Geneva, Switzerland, 109 p. 2003.

ZETUN, C. B.; HOFFMANN, J. L.; SILVA, R. C.; LANGONI, H. *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in vampire bats (*Desmodus rotundus*) in Botucatu region, SP, Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, 2009.

ZUCCO, C. A. **Desenvolvimento de alternativa de baixo custo para monitoramento da atividade de veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*) com tecnologia GPS no Pantanal Central do Brasil.** 2007. 62 f. Dissertação (Ecologia), Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Corumbá, Brasil. 2007.