

FLÁVIA CAROLINA SOUZA DE OLIVEIRA

**Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência,  
sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco**

São Paulo

2008

FLÁVIA CAROLINA SOUZA DE OLIVEIRA

**Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência,  
sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco**

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

**Departamento:**

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

**Área de concentração:**

Epidemiologia Experimental e Aplicada às  
Zoonoses

**Orientador:**

Prof. Dr. Sílvio Arruda Vasconcellos

São Paulo

2008

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

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

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

T.2039 FMVZ	Oliveira, Flávia Carolina Souza de Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência, sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco / Flávia Carolina Souza de Oliveira. – São Paulo : F. C. S. Oliveira, 2008. 123 f. : il.
	Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2008.
	Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses. Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.
	Orientador: Prof. Dr. Sílvio Arruda Vasconcellos.
	1. Leptospirose. 2. Bovinos (fêmeas). 3. Prevalência. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

*Comissão Bioética*

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência, sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco", protocolado sob o nº1136/2007, não utilizando animais, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 22/08/07.

(We certify that the Research "Bovine leptospirosis in the State of Bahia, Brazil. Prevalence, predominant serovars, spatial distribution and risk factors", protocol number 1136/2007, not utilizing animals, under the responsibility Prof. Dr. Silvio Arruda Vasconcellos, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 08/22/2007.

São Paulo, 22 de agosto de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: OLIVEIRA, Flávia Carolina Souza de

Título: Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência, sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco.

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

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Banca Examinadora:

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIAS**

---

## DEDICATÓRIAS

***“Eu andarei vestido e armado com as armas de São Jorge para que meus inimigos, tendo pés não me alcancem, tendo mãos não me peguem, tendo olhos não me vejam, e nem em pensamentos eles possam me fazer mal.***

***Armas de fogo o meu corpo não alcançarão, facas e lanças se quebrem sem o meu corpo tocar, cordas e correntes se arrebentem sem o meu corpo amarrar.***

***Jesus Cristo, me proteja e me defenda com o poder de sua santa e divina graça, Virgem de Nazaré, me cubra com o seu manto sagrado e divino, protegendo-me em todas as minhas dores e aflições, e Deus, com sua divina misericórdia e grande poder, seja meu defensor contra as maldades e perseguições dos meus inimigos.***

***Glorioso São Jorge, em nome de Deus, estenda-me o seu escudo e as suas poderosas armas, defendendo-me com a sua força e com a sua grandeza, e que debaixo das patas de seu fiel ginete meus inimigos fiquem humildes e submissos a vós. Assim seja com o poder de Deus, de Jesus e da falange do Divino Espírito Santo.***

***São Jorge Rogai por nós.***

Dedico a Deus, a Nossa Senhora, meus pais (Antônio e Rosalva), meu irmão (Marcus Vinícius), aos meus avôs (Solange e Rosalvo), a minha professora (Simone) e a minha família por todo apoio, amor e dedicação em todos os momentos.

A todos meus animais que sempre estiveram comigo e aqueles que sempre serão lembrados por toda eternidade. Sou-lhes muito grata!

In memoriam: meus cachorros: Miquey, Suzy; meu hamster: Loly e Lily; meu porquinho: petruquio, coruja: Luíza e ao meu atual animal que tanto me faz feliz: Ming Duques dog.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

---

## AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*“Quando nascemos, dão-nos o livro da vida, mas estas páginas estão em branco, e cabe a nós preenchê-las. Não é obrigatório seguir as indicações alheias.*

*Quando somos pequenos, os pais e a sociedade escrevem por nós os primeiros capítulos, e pode acontecer que não gostemos muito deles.*

*Mas nada nos obriga a continuar a história no estilo em que foi começada.*

*Por isso, viremos hoje uma nova página, agarremos a caneta e comecemos a escrever a nossa história. Afinal de contas, só se vive uma vez.”*

*Lucien Auger*

Ao Prof. Dr. **Sílvio Arruda Vasconcellos** por ter aceitado ser o meu orientador, pela oportunidade, por todo carinho, dedicação, paciência, compreensão, ensinamentos, apoio em todos os momentos, pela confiança e papel fundamental na minha formação acadêmica;

In memoriam: ao prof. Dr. **Edgar de Aquino Viegas** por ter sido um grande homem e que sem saber ajudou-me a concluir essa obra, o meu muito obrigado;

A Prof.<sup>a</sup> Dr. **Sônia Regina Pinheiro** por todo carinho, dedicação e muita força em todos os momentos desta caminhada;

Prof. Dr. **José Antonio Jerez** por todo apoio;

Ao Prof. Dr. **Nilson Roberti Benites** pela orientação;

Ao Prof. Dr. **Maria Emilia Bavia** que acreditou na minha capacidade, confiou e incentivou-me a fazer pós-graduação;

A Prof.<sup>a</sup> **Simone de Aquino Viegas**, pelo estímulo, paciência, confiança e por ser uma das pessoas que me faz sentir orgulho de ter escolhido a profissão de Médico Veterinário. Obrigado por ter se tornado minha mentora. “Você realmente é uma pessoa primavera”;

Ao Prof. Dr. **Eulógio Moreira Caldas** pelo incentivo;

Ao Prof. Dr. **Paulo Eduardo Brandão** pela ajuda e compreensão nos momentos difíceis;

Aos professores Doutores **Lúcio Leopoldo, João Vieira, Magnavita** e a prof **Maria Helena** pelo apoio;

Aos Professores Doutores **José Soarez, Ricardo Dias, Fernando Ferreira** pela ajuda prestada, o meu muito obrigado;

Ao Prof. **Roberto Paixão** da Universidade Estadual de Ilhéus UESC pela colaboração;

A **Zenáide Maria de Moraes** que me tratou como uma filha se preocupando sempre com a minha saúde, por não ter me deixado desistir, pelos ensinamentos e pela grande amizade;

A **Gisele Oliveira de Souza** pela paciência, por ter me emprestado seu ombro amigo as diversas horas de tristeza e por suas palavras de fé;

A Universidade de São Paulo, a **FMVZ** e em especial ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, na figura de seus docentes e funcionários, pelos ensinamentos e experiências vitais, para a boa formação do profissional e pessoa;

Ao Prof. Dr. **Sérgio Santos de Azevedo** por ter me ajudado na parte estatística deste trabalho;

A **Carolina de Souza Américo Batista** por ter me ajudado em diferentes momentos dessa caminhada, por ter se tornado uma amiga irmã, dedicando seu apoio incondicional;

**Lilian Almeida Cavalcanti** pela companhia nas horas de trabalho e de angústia;

Agradeço a **Ítalo Ramos Conceição** e a sua família pela ajuda e a minha mais nova alegria Giulia;

Agradeço a **Cidele** que acabou se tornando uma grande amiga neste curto intervalo de tempo;

A minha grande amiga **Andréia Belfort Nelo** que durante todo esse meu percurso esteve ao meu lado oferecendo-me palavras de incentivo e não deixando nunca que eu desisti-se dos meus sonhos;

As amigas **Daniela Oliveira e Mariana Terra** pela ajuda e compreensão em muitos momentos difíceis;

As amigas **Clarisse Coutinho e Paula Gonzales** por terem me apoiado em todos os momentos sem reclamar da minha falta de paciência, por pegarem na minha mão e rezarem junto comigo em vários momentos difíceis;

Agradeço muito a minha amiga de Pós-graduação **Amane P. Gonçalves** pela grande ajuda neste trabalho;

A **Vanessa Castro** pelas orientações dadas.

Aos amigos do Laboratório de Medicina Preventiva e Zoonoses da UFBA **Gisele e Sheila** pela ajuda na coleta dos soros;

Ao Diretor geral da ADAB: **Luciano Figueiredo**; ao Diretor da Defesa Sanitária Animal: **Iran da Silva Ferrão** e a Coordenadora Estadual do PNCEBT: **Luciana Bahiense da Costa** o meu muito obrigado;

Ao Diretor atual da ADAB Geral **Altair Santana de Oliveira** e ao Diretor da Defesa Sanitária Animal **Valentim Fidalgo** o meu muito obrigado;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**), pela concessão da bolsa de Mestrado (Processo nº 06/58211-3).

*“Amigo é coisa para se guardar  
debaixo de sete chaves, dentro do coração  
assim falava à canção que na América ouvi  
Mas quem cantava chorou, ao ver seu amigo partir*

*Mas quem ficou no pensamento voou  
Com seu canto que o outro lembrou  
e quem voou, no pensamento ficou  
com a lembrança que o outro cantou.*

*Amigo é coisa para se guardar  
no lado esquerdo do peito  
mesmo que o tempo e a distância  
dêem não, mesmo esquecendo a canção  
o que importa é ouvir a voz que vem do coração*

*Pois seja o que vier, venha o que vier  
qualquer dia amigo eu volto a te encontrar  
qualquer dia amigo a gente vai se encontrar”*

*Milton Nascimento*

**A todos os amigos da pós-graduação que passaram por todos os momentos de angústia, luta, perseverança e companheirismo: Cidele, Ana Catarina, Lesli, Helena, Sibebe, Daniela Ribeiro, Cristiane, Carol, Fernanda, Vanessa, Helena, Patricia, Leandra.**

**Aos pós-graduandos e estagiários do Laboratório de Zoonoses Bacterianas: Marianna, Flávia, Carlos, Amane, Ricardo, Pilar, Vivianne, Carol, Kacia, Will e César.**

**Aos funcionários do Departamento de Medicina Veterinária e Preventiva e Saúde Animal da FMVZ-USP, em especial a Virgínia, Danival, Carol, Sandra, Antonio, Pedrinho, Jucelia e Cristina.**

**A toda equipe da biblioteca da FMVZ-USP, por toda ajuda prestada em especial a Elza pela sua atenção dispensada a min. Às secretarias da pós – graduação da FMVZ – USP: Dayse, Claudia e Joana.**

**MUITO OBRIGADA!**

**RESUMO**

---

## RESUMO

OLIVEIRA, F. C. S. **Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência, sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco.** [Bovine leptospirose in the State of the Brazil Bahia. Prevalence, sorovares predominant, space distribution and factors of risk]. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

O objetivo do presente trabalho foi determinar a soroprevalência da leptospirose bovina no Estado da Bahia, bem como identificar fatores de risco associados à infecção. A amostragem foi delineada para a determinação da prevalência de propriedades positivas (focos) e de animais soropositivos para a leptospirose. O Estado foi dividido em quatro circuitos produtores, nos quais foram amostradas 10.823 fêmeas bovinas com idade  $\geq 24$  meses distribuídas em 1.414 propriedades. Na ocasião da colheita de sangue, foi aplicado um questionário epidemiológico por propriedade e as coordenadas geográficas foram obtidas com um aparelho de GPS. A reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM), empregando 24 sorovares de *Leptospira* spp. como antígenos, foi utilizada como teste diagnóstico. O rebanho foi considerado foco quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. As prevalências de foco e de animais soropositivos no Estado foram de 77,93% [75,73% – 79,99%] e 45,42% [42,00% – 48,88%], respectivamente. O sorovar mais freqüente foi o Hardjoprajitno, com 34,49% [31,93% – 37,14%] de propriedades positivas e 14,95% [12,59% - 17,67%] de animais soropositivos. Nos circuitos produtores 1, 2, 3 e 4, as prevalências de focos foram de 62,40% [57,43% – 67,13%], 88,10% [84,16% – 91,15%], 77,47% [72,88% – 81,49%] e 78,25% [73,47% – 82,37%], e as prevalências de animais soropositivos foram de 42,52% [35,82% – 49,51%], 48,60% [43,68% – 53,56%], 47,72% [40,36% – 55,18%] e 44,18% [38,13% – 50,41%], respectivamente. A compra de reprodutores, presença de animais silvestres, utilização de pasto compartilhado, presença de eqüinos, cães e suínos, presença de cervídeos, abate de reprodutores nas fazendas, existência de áreas alagadiças, exploração de corte, aluguel de pasto e predominância de raças

especializadas foram os principais fatores de risco identificados. A presença de gatos foi um fator de proteção contra a leptospirose.

Palavras-chave: Leptospirose. Bovinos (fêmeas). Prevalência.

## **ABSTRACT**

---

## ABSTRACT

OLIVEIRA, F. C. S. **Bovine leptospirose in the State of the Brazil Bahia. Prevalence, sorovares predominant, space distribution and factors of risk.** [Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência, sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco]. 2008. 123 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

The aim of this work was to determine the seroprevalence of bovine leptospirosis in Bahia State, Northeastern Brazil, as well as to identify risk factors associated to infection. The sampling was delineated for the determination of the prevalence of positive herds and seropositive animals for bovine leptospiroses. The State was divided into four productive circuits in which 10,823 bovine females aged  $\geq 24$  months allocated in 1,414 herds were sampled. On the occasion of the blood collection, an epidemiological questionnaire was applied in each herd and the geographical coordinates were obtained with a GPS. The Microscopic Agglutination Teste (MAT), using 24 *Leptospira* spp. serovars as antigens, was employed as diagnostic test. The herd was considered positive if at least one animal was seropositive. The prevalences of positive herds and seropositive animals in State were 77.93% [75.73% – 79.99%] and 45.42% [42.00% – 48.88%], respectively. Serovar Hardjoprajitno was the most frequent, with 34.49% [31.93% – 37.14%] of positive herds and 14.95% [12.59% - 17.67%] of seropositive animals. In the productive circuits 1, 2, 3 and 4, the prevalences of positive herds were 62.40% [57.43% – 67.13%], 88.10% [84.16% – 91.15%], 77.47% [72.88% – 81.49%] and 78.25% [73.47% – 82.37%], and the prevalences of seropositive animals were 42.52% [35.82% – 49.51%], 48.60% [43.68% – 53.56%], 47.72% [40.36% – 55.18%] and 44.18% [38.13% – 50.41%], respectively. Purchase of reproducers, presence of wild animals, utilization of shared pasturage, presence of equine, dogs and swine, presence of cervides, slaughter of reproducers in the farms, existence of flooded areas, meat farm enterprise, rent of pasturage and predominance of specialized breeds were the main identified risk factors. Presence of cats was a protective factor against leptospirosis.

Keywords: Leptospirosis. Bovine (females). Prevalence.

## **LISTA DE FIGURAS**

---

## LISTA DE FIGURA

- Figura 1 - Mapa do Estado da Bahia-Brasil demonstrando sua subdivisão em quatro regiões.....63
- Figura 2 – Localização geográfica das propriedades rurais visitadas no Estado da Bahia segundo as condições de positiva e negativa para a leptospirose bovina. ....96
- Figura 3 – Mapa temático do Estado da Bahia, apresenta a distribuição espacial dos sorovares de *Leptospira* spp., predominantes nas propriedades de acordo com a região produtora. Detalhe destacando a localização do Estado da Bahia.....97

## **LISTA DE QUADRO**

---

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Distribuição por circuito produtor do Estado da Bahia, do número total de propriedades c/ atividades reprodutivas, total de fêmeas bovinas, de propriedades amostradas e do número de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses amostradas.....61
- Quadro 2 - Antígenos empregados na microtécnica de Soroaglutinação Microscópica aplicada a leptospirose segundo código de identificação do laboratório, sorogrupo, sorovar e estirpe– São Paulo- 2008.....69

## **LISTA DE TABELAS**

---

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Fêmeas bovinas de rebanhos do estado da Bahia, Brasil, submetidas ao diagnóstico laboratorial de leptospirose, pela soroaglutinação microscópica com uma coleção de 24 sorovares distintos segundo a região do Estado, e a natureza do resultado obtido. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004-São Paulo 2008.....78
- Tabela 2 - Proporção de fêmeas bovinas do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para leptospirose, na prova de soroaglutinação microscópica segundo o sorovar reator, e o respectivo intervalo de confiança. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004-São Paulo 2008.....79
- Tabela 3 - Proporção de fêmeas bovinas da região 1, sul do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....80
- Tabela 4 - Proporção de fêmeas bovinas da região 2, norte do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....81
- Tabela 5 - Proporção de fêmeas bovinas da região 3, nordeste do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....82
- Tabela 6 - Proporção de fêmeas bovinas da região 4, centro-oeste do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....83
- Tabela 7 - Proporção de propriedades rurais do Estado da Bahia, Brasil onde houve pelo menos um bovino reator no teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo a região. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004-São Paulo-2008.....84
- Tabela 8 - Proporção de propriedades rurais do Estado da Bahia onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a

leptospirose segundo o sorovar reator e respectivas prevalências e intervalos de confiança. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....	85
Tabela 9 - Proporção de propriedades rurais da região 1, sul do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....	87
Tabela 10 - Proporção de propriedades rurais da região 2, norte do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....	88
Tabela 11 - Proporção de propriedades rurais da região 3, nordeste do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....	89
Tabela 12 - Proporção de propriedades rurais da região 4, centro-oeste do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004- São Paulo- 2008.....	90
Tabela 13- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de <i>Leptospira</i> spp. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	91
Tabela 14- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de <i>Leptospira</i> spp., na região 1. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	92
Tabela 15- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de <i>Leptospira</i> spp., na região 2. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	92
Tabela 16- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que	

apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de <i>Leptospira</i> spp., na região 3. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	92
Tabela 17- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de <i>Leptospira</i> spp., na região 4. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	93
Tabela 18- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno). Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	93
Tabela 19- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) na região 1. Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	93
Tabela 20- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) na região 2. Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	93
Tabela 21- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) na região 3. Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	94
Tabela 22- Fatores de risco para a leptospirose em bovina em propriedades que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) na região 4 do Estado da Bahia, estimados por regressão logística múltipla. São Paulo, 2008.....	94
Tabela 23 - Associação entre abortamento nos últimos 12 meses que antecederam a colheita de sangue e a reatividade para <i>Leptospira</i> spp., em bovinos de propriedades rurais do Estado da Bahia, Brasil. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004. São Paulo, 2008.....	95

## **LISTA DE GRÁFICOS**

---

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....79
- Gráfico 2- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 1. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....81
- Gráfico 3- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 2. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....82
- Gráfico 4- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 3. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....83
- Gráfico 5- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 4. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....84
- Gráfico 6- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....86
- Gráfico 7- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 1. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....87
- Gráfico 8- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 2. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....88
- Gráfico 9- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 3. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....89
- Gráfico 10- Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 1. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.....90

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

---

## LISTA DE ABREVIATURA

ADAB	Agência de Defesa Agropecuária da Bahia
BA	Bahia
BVD	Diarréia viral dos bovinos
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EMJH	Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GPS	Global Position System
IBR	Rinotraqueite infecciosa bovina
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
IgG	Imunoglobulina da classe G
IGM	Imunoglobulina da classe M
L. interrogans	Leptospira interrogans
L. santarosai	Leptospira santarosai
L. noguchii	Leptospira noguchii
L. borgpetersenii	Leptospira borgpetersenii
LPS	Lipopolissacarídeo
MAPA	Ministério de agricultura, Pecuária e Abastecimento
OIE	Organização Internacional de Epizootiazes
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	Razão de chances, do inglês odds ratio
P	Probabilidade de ocorrência ao acaso
P	Prevalência
PCR	Reação em cadeia de polimerase
	Programa Nacional de Controle e Erradicação da
PNCEBT	Brucelose e Tuberculose
SAM	Soro Aglutinação Microscópica

SIG	Sistema de Informação Geográfica
TSB	Tryptic soy Broth Bacto
USP	Universidade de São Paulo
Z $\alpha$	Valor da distribuição normal para o nível de confiança de 95%

## **LISTA DE SÍMBOLOS**

---

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
X	Vezes
μl	Micrôlitro
mL	Mililitro
≥	Maior ou Igual
mm	Milimetro

## SUMÁRIO

---

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>37</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>40</b>
2.1	CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA.....	41
2.2	ETIOLOGIA.....	42
2.3	PATOGENIA.....	45
2.4	DIAGNÓSTICO.....	47
2.4.1	<b>Epidemiológico</b> .....	48
2.4.2	<b>Clínico</b> .....	48
2.4.3	<b>Laboratorial</b> .....	48
2.4	CADEIAS DE TRSMISSÃO.....	50
2.5.1	<b>Fonte de infecção</b> .....	50
2.5.2	<b>Via de Eliminação</b> .....	51
2.5.3	<b>Via de Transmissão</b> .....	51
2.5.4	<b>Portas de Entrada</b> .....	52
2.5.5	<b>Susceptíveis</b> .....	52
2.6	CONTROLE E PREVENÇÃO.....	53
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>55</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>57</b>
4.1	DELINEAMENTO AMOSTRAL.....	58
4.2	ANIMAIS.....	61
4.3	FORMULÁRIO.....	62
4.4	ESTRATIFICAÇÃO DA POPULAÇÃO NO ESPAÇO AMOSTRAL.....	62

4.5	SORODIAGNÓSTICO .....	66
4.5.1	ANTÍGENOS.....	68
4.5.2	Triagem.....	69
4.5.3	Titulação.....	70
4.5.4	Leitura e interpretação.....	70
4.6	TRATAMENTO ESTATÍSTICO.....	71
4.6.1	Cálculo de soroprevalência.....	71
4.6.2	Prevalência de animais sororeagentes.....	72
4.6.3	Prevalência de propriedades positivas.....	73
4.6.4	Análise de fatores de risco para a leptospirose bovina.....	74
4.6.5	A leptospirose como causa de abortamentos.....	75
5	GEOPROCESSAMENTO.....	76
6	RESULTADOS.....	88
7	DISCUSSÃO.....	98
8	CONCLUSÕES.....	105
	REFERÊNCIAS .....	108
	ANEXOS.....	122

## **INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA**

---

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A América do Sul possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, com um total de 279,5 milhões de animais desta espécie. O Brasil apresenta grande potencialidade para o desenvolvimento da exploração pecuária, no entanto, os valores médios de produção e produtividade dos rebanhos nacionais situam-se entre os mais baixos do mundo. Essa ineficiência na produção de carne e leite é altamente influenciada pela baixa fertilidade dos rebanhos nacionais. O Brasil concentra 204.513 mil cabeças. A distribuição do rebanho bovino brasileiro mostra que a população está concentrada na região Centro-Oeste, onde se encontra cerca de um terço do rebanho nacional. Da população bovina do Brasil, 3,88% está na Região Norte, 5,12% no Nordeste, 6,73% no Sudeste, 7,17% no Sul e 56,23% no Centro Oeste.

Vários fatores podem interferir nas taxas de reprodução dos rebanhos de bovinos, destacando-se aqueles relacionados à fisiopatologia, à genética, à nutrição e ao manejo zootécnico-sanitário dos rebanhos. Neste particular as doenças infecciosas e parasitárias que direta ou indiretamente comprometem o trato reprodutivo da fêmea e do macho e também o embrião e o feto assumem papel de destaque.

Os distúrbios da reprodução de origem infecciosa em bovinos são multietiológicos. Diferentes microrganismos como bactérias, vírus, protozoários, que atuam de forma isolada, ou mais freqüentemente em associações, podem ser responsáveis pela sobreposição de sinais clínicos fazendo com que o diagnóstico seja de difícil realização.

Dentre as diversas doenças da esfera reprodutiva que podem comprometer a fertilidade de rebanhos bovinos destacam-se: vibriose, brucelose, leptospirose, diarreia viral dos bovinos (BVD) e a rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), tem sido registradas em diversos países.

A leptospirose, endêmica no Brasil, caracteriza-se por ser uma doença bacteriana infecto-contagiosa, de curso agudo ou crônico, de caráter zoonótico que acomete o homem e os animais domésticos e silvestres, com implicações em saúde animal e saúde pública veterinária. A sua distribuição geográfica é cosmopolita, no entanto, na América Latina, África e Ásia, os níveis de ocorrência são elevados, pois

as condições ambientais de ordem físico-química e sócio-econômico-culturais favorecem a persistência e a disseminação do agente etiológico.

As variantes sorológicas de leptospiras já isoladas de bovinos no Brasil foram: Pomona, Hardjo, Geórgia, Icterohaemorrhagiae, Guaicurus e Goiano. Contudo os sorovares prevalentes em inquéritos sorológicos tem sido Hardjo e Wolffi.

Até o momento, o combate à leptospirose dos bovinos tem sido executado de forma isolada sem que haja uma diretriz apoiada no conhecimento científico disponível. Predominam assim medidas de controle que não almejam a erradicação da doença e a manutenção de propriedades ou áreas livres de sorovariedades e de leptospiras.

A vacinação tem-se revelado uma medida prática e eficiente no controle de focos de leptospiras. Em rebanhos fechados, recomenda-se vacinar todos os animais anualmente. Nos rebanhos abertos, a vacinação deve ser feita a cada seis meses, contudo a vacina utilizada deverá conter e ser elaborada, se possível, com as sorovariedades mais prevalentes na região.

Considerando-se que 40% da população bovina no Nordeste (10.466.163 animais) está no Estado da Bahia, é importante o conhecimento da ocorrência e distribuição espacial das doenças transmissíveis que acometem a eficiência reprodutiva dos rebanhos bovinos do Estado. Em 2003, foi efetuado um inquérito sorológico para brucelose sob a coordenação da Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) que disponibilizou amostras aleatórias que compõem um banco de soros que possibilita a realização de inquéritos sorológicos de prevalência de outras doenças transmissíveis, entre as quais está incluída a leptospirose. De fato com a obtenção da informação das variantes sorológicas presentes e da sua distribuição espacial, será possível o direcionamento de um programa de controle regionalizado e dirigido para as respectivas sorovariedades predominantes.

Deste modo o presente trabalho foi delineado para apoiar os serviços de vigilância epidemiológica do rebanho bovino do Estado da Bahia com a racionalização de condutas destinadas ao controle da leptospirose.

# **REVISÃO DE LITERATURA**

---

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CARACTERÍSTICAS DA DOENÇA

A leptospirose é uma doença ou infecção naturalmente transmissível entre os animais vertebrados e o homem (CÔRTEZ, 1993; COLEMEN, 2000), de curso agudo a crônico que afeta diversas espécies de animais domésticos, silvestres e os seres humanos, que assume considerável importância como problema econômico e de saúde pública (FAINE et al., 1999).

A leptospirose foi descrita pela primeira vez em 1880, no Cairo, por Larrey, no entanto foi em 1886 que Weil descreveu minuciosamente, quatro casos clínicos em humanos (CALDAS, 1987; BRASIL, 1995).

A leptospirose está mundialmente distribuída, mas sua ocorrência é maior em países de clima tropical e subtropical devido principalmente à maior sobrevivência das leptospiras em ambientes quentes e úmidos. A doença é sazonal, com picos epidêmicos no verão ou outono em regiões de clima temperado ou durante as estações de chuva nas regiões quentes. Em alguns países como o Brasil a infecção ocorre sob a forma de surtos em seres humanos e animais associados a períodos de alta pluviosidade, presença de roedores e mamíferos silvestres e domésticos bem como águas represadas com altas concentrações de animais (PLANK; DEAN, 2000; BRASIL, 2007).

A atenção para a leptospirose foi ampliada a partir da primeira guerra mundial devido à forte incidência entre os beligerantes. Hoje, pode-se dizer que a leptospirose está espalhada por toda a parte, acometendo bovinos, ovinos, caprinos, solípedes, suínos, cães, gatos, coelhos e animais selvagens. Nos EUA, já foi considerada como a quarta doença dos bovinos, na escala de importância, causando, anualmente prejuízos superiores a 200 milhões de dólares em mortalidade, perdas de carne, de leite e de crias (FERREIRA, 1976).

A leptospirose apresenta-se usualmente sob a forma endêmica e sua morbidade é bastante alta em todos os países em que tem sido estudada, porém, os

sorovares variam de região para região. A manutenção do agente na natureza está assegurada pelos portadores domésticos e silvestres (CORREA; CORREA, 1991). Os fatores climáticos, incluindo índice pluviométrico, temperatura e umidade relativa do ar, influem de maneira decisiva sobre a ocorrência da doença (BRASIL, 1995).

Investigações epidemiológicas têm indicado que as leptospirosas persistem em nichos naturais, circulando em hospedeiros primários, usualmente roedores selvagens, a partir dos quais alcançam outras populações de animais sinantrópicos e ou domésticos, estes são os hospedeiros secundários, que ao invadirem o ambiente silvestre entram em contato com espécies silvestres e inclusive o próprio homem. Neste sentido, a concentração de grandes efetivos de animais domésticos, associada a modificações introduzidas no ecossistema, pode ter como consequência à criação de amplas cadeias infecciosas que contribuem para a dispersão da leptospirosas no ambiente (CÔRTEZ, 1993).

O primeiro relato de leptospirose em bovinos foi efetuado na Rússia, por Mikhin e Azhinov (1935), quando isolaram leptospirosas de bezerros com hemoglobinúria infecciosa aguda. A partir de então, pesquisadores de diferentes países começaram a investigar a ocorrência da leptospirose nesta espécie animal (YANAGAWA et al., 1955).

No Brasil, os primeiros trabalhos sobre leptospirose foram publicados no Rio de Janeiro, em 1917, por Aragão, sobre “A presença do *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* nos ratos do rio de janeiro”, Revista Brasil Médico; por Bentes, “Da leptospirose de Inada ou *Icterus haemorrhagiae*” tese apresentada na Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro e, por Mc Dowell, “Do *icterus epidemicus*”, publicado no Arquivo Brasileiro de Medicina (BRASIL, 1995).

Na Bahia, os primeiros estudos sobre a leptospirose foram efetuados por Torres (1924), com o isolamento da *Leptospira icteróides* (CALDAS, 1986).

## 2.2 ETIOLOGIA

O agente etiológico da leptospirose é uma bactéria pertencente à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae*, gênero *Leptospira* (NOGUSHI, 1918).

As leptospiros são microrganismos helicoidais, muito finos (0,1µL de diâmetro) com comprimento variável de 6 a 20 mm, aeróbios estritos, que apresentam uma ou ambas as extremidades encurvadas ou em forma de gancho, dotados de grande motilidade conferida por um axóstilo. Crescem muito bem em temperaturas de 28 a 30°C, possuem multiplicação e crescimento lentos e são exigentes no que se refere a meios nutritivos (HANSON, 1982), o seu tempo de geração está situado em torno de sete a 12 horas, a visualização de leptospiros em preparação a fresco só é possível por microscopia de campo escuro e de contraste de fase, apresenta afinidade tintorial pelos corantes argênticos (BRASIL, 1995; BEER, 1999; FAINE et al., 1999).

A organização estrutural e a composição química das leptospiros são semelhantes às de outras bactérias Gram-negativas: membrana externa que envolve toda a célula, os filamentos axiais denominados de flagelos periplasmáticos e os cilindros protoplasmáticos, que incluem a membrana celular e a capa de peptidoglicano da parede celular (FAINE, 1982).

O período de sobrevivência das leptospiros patogênicas na água varia segundo a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição. Todas as leptospiros são sensíveis ao pH ácido de 6,8 ou menos, porém sua multiplicação é ótima em pH levemente alcalino compreendido entre 7.2 e 7.4. Experimentalmente já foi constatada a persistência de leptospiros viáveis em água por até 180 dias (BRASIL, 1995).

A classificação sorológica das leptospiros adota critérios relacionados a reações sorológicas relativamente específicas que fornecem os sorogrupos e sorovares de leptospiros patogênicas e saprófitas (QUINN et al., 1994). Na atualidade estima-se a existência de aproximadamente 300 sorovares de *L. interrogans* divididas em 25 sorogrupos (AHMED et al., 2006).

O polissacarídeo "O" do lipopolissacarídeo (LPS), considerado um importante determinante antigênico, é utilizado para a classificação sorológica (FAINE, 1994). Cada sorovar é representado por uma estirpe de referência, os quais são determinados por testes de aglutinação cruzada e teste de absorção de aglutininas. Foi definido, em 1987, pelo Subcomitê de Taxonomia de leptospirose que duas estirpes pertencem a um mesmo sorovar se menos de 10% dos anticorpos homólogos permanecerem em ambos os soros após a absorção. Deste modo, duas

estirpes pertencem a sorovares diferentes quando 10% ou mais dos anticorpos homólogos persistirem em pelo menos um dos dois antisoros após a absorção. Os sorovares que apresentarem alguma semelhança sorológica, mas com diferenças antigênicas individuais, são reunidos em sorogrupos (FAINE et al., 1999).

A classificação sorológica tem sido substituída pela genotípica, onde espécies incluem todos os sorovares de *L. interrogans sensulato* e *L. biflexa sensulato*. Em 1987 a heterogeneidade genética das leptospiros foi demonstrada em por Yasuda, Steigerwalt e Sulzer (1987) e estudos de hibridização de DNA, conduziram à definição de 16 espécies (genomospecies) de *Leptospira*. Já foram aceitas 17 genomoespécies: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. inadai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. kirshneri*, *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *Tumeria parva*, *Leptonema ilíni*, L. genomoespécies 1, L. genomoespécies 2, L. genomoespécies 3, L. genomoespécies 4, L. genomoespécies 5 (LEPTOSPIRA MOLECULAR BIOLOGY HOME PAGE, 2007). A hibridização veio confirmar o status taxonômico do gênero monoespecífico *Leptonema* (RAMADAS et al., 1992; LEVET, 2001). Anterior à definição das 16 genomoespécies, o Subcomitê de Taxonomia, havia proposto uma nova classificação baseada na diferenciação molecular entre os diversos sorovares, dividindo o gênero leptospira em seis espécies patogênicas: *L. borgpetersenii*, *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii* e *L. kirschneri*; inclusas nas genomoespécies (QUINN et al., 1994).

A reclassificação das leptospiros por genotipagem é taxonomicamente correta e fornece um bom fundamento para uma nova classificação. No entanto, a classificação molecular é problemática para o microbiologista clínico, porque é incompatível com o sistema de sorogrupos utilizados por muitos anos pelos clínicos e epidemiologistas (LEVET, 2001).

No Brasil, o primeiro isolamento de leptospiros em bovinos foi efetuado por Freitas et al. (1957), sendo classificado como Pomona. Em 1961, Santa Rosa; Castro; Troise em 1961, isolaram uma estirpe do sorovar Icterohaemorrhagiae. YANAGUITA (1972) examinando 500 bovinos por ocasião do abate em matadouro do Estado de São Paulo isolou duas estirpes de leptospiros, classificadas como dois novos sorovares do sorogrupo Hebdomadis: Guaicurus e Goiano. Atualmente o sorovar Goiano permanece incluído no sorogrupo Hebdomadis, no entanto o

Guaicurus foi incluído no sorogrupo Sejroe (UNIVERSITY OF BELGRADE, 1997). Moreira (1994) investigando um surto de leptospirose em bovinos leiteiros no Estado de Minas Gerais isolou duas estirpes de leptospiras cuja, identificação final foi para os sorovares Hardjo (Hardjoprajitno) e Mini.

### 2.3 PATOGENIA

A patogenia da leptospira inclui a penetração ativa dos microrganismos pelas mucosas, pele escarificada e mesmo integra. Vencidas as barreiras da porta de entrada, as leptospiras multiplicam-se no espaço intersticial e nos humores orgânicos (sangue, linfa e liquor), caracterizando um quadro agudo septicêmico denominado de leptospiremia (MYERS, 1985). As lesões primárias são atribuídas à ação mecânica do microrganismo nas células endoteliais de revestimento vascular. A conseqüência direta das lesões dos pequenos vasos é o derrame sanguíneo para os tecidos (hemorragias), a formação de trombos e o bloqueio do aporte sanguíneo nas áreas acometidas na fase aguda da infecção (BRASIL, 1995).

A fase da leptospiremia cessa quando anticorpos opsonizantes surgem na circulação, aproximadamente dez dias após o início da infecção, promovendo a eliminação de leptospiras da corrente sanguínea e da maioria dos órgãos acometidos. Entretanto, leptospiras localizadas em locais protegidos do sistema imune, como rim e trato genital, podem persistir por períodos prolongados. A persistência de leptospiras no rim pode ocasionar desde pequenos infiltrados inflamatórios focais a extensas lesões, caracterizadas por necrose celular, atrofia tubular e hemorragia renal, seguida de cicatrização e localização de leptospiras na superfície luminal das células tubulares (FAINE, 1982). A ausência de fagócitos na urina permite a multiplicação destes microrganismos nos túbulos contornados renais formando microcolônias. Desta localização as leptospiras passam a ser eliminadas na urina (leptospirúria) por períodos variáveis entre dias a anos. Tal fato explica a existência de portadores renais, fator primordial na epidemiologia da leptospirose, onde a transmissão ocorre pela exposição à urina de animais infectados ou

ambientes contaminados pela mesma (PLANK; DEAN, 2000; ACHA; SZYFRES, 2003).

Os achados anátomo e histopatológicos renais dos bovinos mais freqüentes são: pontos brancos acinzentados dispersos na superfície, atingindo a córtex e junção cortico-medular; densa infiltração celular intersticial, predominantemente do tipo linfocítica, com dilatação e hipertrofia dos túbulos nesta área; degeneração e necrose das células tubulares com aparecimento de alguns pontos de calcificação no córtex ou na medula dos rins (KIKTENKO e GORSHANOVA, 1974)

O sorovar de leptospiras mais freqüentemente encontrado infectando bovinos é o Hardjo. Bovinos parecem ser hospedeiros primários de manutenção deste sorovar. Outra causa comum de leptospirose em bovinos são os sorovares Pomona e Grippotyphosa. Dois tipos de sorovar Hardjo sorologicamente indistintos, mas geneticamente distintos foram identificados: *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) e *Leptospira borgpetersenii* sorovar Hardjo (Hardjobovis). O sorovar Hardjo estirpe hardjobovis é comum em populações de bovinos no mundo todo; a estirpe Hardjoprajitno foi isolada primeiramente de bovinos no Reino Unido (GROOMS, 2006).

Leptospiras do sorovar Hardjo podem colonizar diferentes estruturas do aparelho genital das fêmeas bovinas (útero, ovário, oviduto e vagina) e dos machos (testículos, epidídimo e vesícula seminal), comprometendo o desempenho reprodutivo destes animais (ELLIS, 1994; FAINE et al., 1999).

A excreção urinária das leptospiras passa a ser intermitente, podendo persistir por períodos de tempo de longa duração, variáveis com as espécies animais e a variante sorológica da leptospira envolvida; nos roedores, a presença de leptospiras na urina pode ser permanente. Devido à uretra constituir-se na via comum para a eliminação de urina e sêmen, é possível que este último também venha a ser contaminado, o que torna possível a transmissão venérea tanto pela monta natural como pela inseminação artificial (BRASIL, 1995).

Os animais infectados por leptospiras podem deixar de comer, perder peso e desenvolver uma pelagem grossa e seca. Os bezerros nascidos de vacas infectadas são freqüentemente desnutridos por causa da diminuição na produção de leite,

associada à doença. Em vacas prenhes, algumas estirpes de leptospiras provocam o abortamento que ocorre usualmente várias semanas após os sinais leves e iniciais da doença terem passado (BASTOS, 2006).

Os sinais clínicos da leptospirose em bovinos são muito variados, incluindo febre, diarreia, anemia, icterícia e hemoglobinúria. As infecções agudas, algumas vezes, resultam em infertilidade, abortamentos, natimortalidade, nascimento de bezerros fracos e mastite (WILLIAMS et al. 1975; ELLIS, 1994). Ellis et al. (1985) relataram que vacas infectadas podem requerer até seis coberturas para conceberem. Abortamentos subseqüentes podem ocorrer devido à persistência do agente no trato genital (ELLIS et al. 1985).

Em vacas com aptidão leiteira, pode haver a infecção da glândula mamária e o quadro clínico é a mastite atípica, com sensível diminuição da secreção láctea em até 80% ou mais do volume, retornando a produção normal em 10 a 15 dias, úbere flácido e o leite manchado por coágulos de sangue (BRASIL, 1995).

A localização de leptospiras no útero gravídico pode resultar em leptospiremia fetal, ocasionando quadros de abortamento, natimortalidade, nascimento de bezerros debilitados e mumificação fetal (ELLIS, 1986).

Em rebanhos de bovinos infectados por leptospiras a letalidade neonatal de bezerros situa-se na faixa de 15% (THADEI, 2006).

Em bovinos, *L. interrogans* sorovar Hardjo está associada à infertilidade, abortamento a partir do quarto mês de gestação e nascimento de bezerros fracos. Comumente a percentagem de abortamentos é inferior a 10%. Geralmente o abortamento por *L. interrogans* sorovar Pomona ocorre nos últimos três meses de gestação, com percentagem de até 50%. Os sintomas clínicos nos bovinos podem ser icterícia, hemoglobinúria, anemia, agalaxia e febre. As vacas usualmente abortam sem doença clínica. Bezerros mortos ou fracos podem ser paridos a termo (FAINE et al., 1999).

## 2.4 DIAGNÓSTICO

Os diagnósticos epidemiológico, clínico e laboratorial estão descritos abaixo.

### **2.4.1 Epidemiológico**

Informações de caráter epidemiológico, tais como a baixa eficiência reprodutiva dos planteis, existência de elevada infestação de roedores, associação de casos suspeitos com as estações de maior índice pluviométrico aliado a manifestações clínicas sugestivas, poderão orientar o diagnóstico presuntivo de leptospirose (GUIMARÃES et al., 1982/1983).

### **2.4.2 Clínico**

O quadro clínico da leptospirose bovina é comum a outras doenças infecciosas da esfera reprodutiva, assim o diagnóstico da infecção deve relacionar os sinais clínicos, as evidências epidemiológicas e os resultados de exames laboratoriais (FAINE, 1982; ELLIS, 1984)

### **2.4.3 Laboratorial**

O diagnóstico da leptospirose pode ser confirmado por diferentes métodos laboratoriais baseados na detecção de anticorpos, na detecção direta ou indireta do agente ou do material genético da bactéria na urina ou nos tecidos (SANTA ROSA, 1970; FAINE et al. 1999).

A visualização direta de leptospiras em microscópio de campo escuro tem sido utilizada principalmente em amostras de urina durante a fase de leptospirúria, pode ser utilizado também em tecidos ou conteúdo gástrico de fetos abortados. Este exame, quando realizado imediatamente após a colheita da urina aumenta as chances de um resultado positivo, uma vez que o diagnóstico é baseado na morfologia e motilidade das leptospiras. Este teste apresenta como principais limitações, baixa sensibilidade, necessidade de observador experiente para diferenciar leptospiras de artefatos presentes nas amostras e a eliminação intermitente de leptospiras pela urina (SANTA ROSA, 1970; THIERMANN, 1980; FAINE, 1982).

O isolamento de leptospiras permite o diagnóstico definitivo da leptospirose e a identificação do sorovar infectante, dado este importante para orientar ações destinadas ao controle e profilaxia da doença (VASCONCELLOS, 1987/1997; FAINE et al. 1999). As leptospiras têm sido isoladas principalmente em amostras de urina, rim, útero e produtos de abortamento de bovinos (ELLIS et al. 1982). As técnicas de isolamento são demoradas e laboriosas, sendo restritas a poucos laboratórios que tenham infectórios adequados para manutenção de animais que poderão passar a eliminar leptospiras patogênicas na urina. O rápido processamento das amostras, a utilização de meios de transporte e de meios de cultura que atendam as exigências nutricionais das leptospiras, o uso de antibióticos seletivos para controle de bactérias contaminantes e a técnica de diluições seriadas aumentam as chances de isolamento em cultivos (THIERMANN, 1984).

Entre as técnicas de diagnóstico baseadas na detecção de anticorpos, a prova de soroaglutinação microscópica (SAM) é o método de referência preconizado pela Organização Mundial de Saúde (SANTA ROSA, 1970; FAINE et al. 1999). Para a sua realização é necessária uma infra-estrutura mínima e pessoal qualificado (SMITH et al., 1994). Esse teste é baseado principalmente na reação entre antígenos de natureza lipopolissacarídica, encontrados na superfície das leptospiras e os respectivos anticorpos (BALDWIN et al. 1987). O levantamento sorológico deve ser planejado respectivamente para que os intervalos entre a vacinação e a colheita de amostras de sangue, respeitem 90 dias para suínos e 120 para bovinos (VASCONCELLOS, 2004).

As coleções de antígenos devem conter pelo menos um representante por sorogrupo e, se possível, estirpes locais (FAINE et al., 1999), pois os títulos obtidos com as estirpes locais são geralmente mais elevados que os observados com os sorovares de referência do mesmo sorogrupo (LEVETT, 2001; OLIVEIRA, 2003). A SAM é um teste sorogrupo específico e a sua interpretação é complexa devido às reações cruzadas que acontecem entre sorogrupos distintos, principalmente na fase aguda da doença (FAINE, 1994; RENTKO, 1992). A especificidade da SAM é alta, entretanto este teste pode apresentar algumas limitações: a sensibilidade declina à medida que aumenta o tempo decorrido da infecção, não diferencia títulos de animais vacinados e não vacinados, há variabilidade interlaboratorial, podem ocorrer

reações cruzadas entre sorovares e algumas infecções latentes podem não ser identificadas (WILLIAN e BANARD, 1995).

A soroaglutinação macroscópica em placa pode ser utilizada como triagem inicial por ser de rápida e de fácil execução, pois utiliza suspensões de leptospiras formolizadas. Entretanto, a técnica baseia-se na detecção de Imunoglobulina M(IgM) e não da Imunoglobulina G(IgG) predominantes em bovinos com infecção crônica, apresentando assim resultados insatisfatórios (SANTA ROSA, 1970; FAINE, 1982).

O diagnóstico sorológico pelo teste de ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática) também tem sido utilizado, apresentando como vantagens a utilização apenas de frações bacterianas, não necessitando do antígeno vivo e a possibilidade de detectar especificamente anticorpos da classe IgM ou IgG podendo assim correlacionar os resultados com o tempo de infecção (YAN et al., 1999).

As leptospiras podem ser detectadas na urina e órgãos por provas que utilizam a interação entre antígenos e anticorpos marcados como a imunofluorescência e a imunoperoxidase (BASKERVILE, 1986).

Entre as técnicas de diagnóstico baseadas na detecção do DNA das leptospiras, a reação em cadeia de polimerase (PCR) vem sendo utilizada de forma crescente para o diagnóstico da leptospirose em fluidos orgânicos e órgãos de várias espécies animais (HEINEMANN et al. 1999).

## 2.5 CADEIA DE TRASMISSÃO

A cadeia de transmissão da doença esta descrita nos sub- itens abaixo.

### 2.5.1 Fonte de infecção

Os reservatórios das leptospiras são os animais domésticos, silvestres e sinantrópicos. Os mais importantes reservatórios domésticos são os bovinos, suínos, eqüinos, caninos, ovinos e caprinos. No entanto em ecossistemas rurais e urbanos, o principal reservatório da leptospira é constituído pelos roedores sinantrópicos entre os quais o *Rattus norvegicus* (ratazana) ocupa, no mundo todo, uma posição de

destaque, pois possuem facilidade de deslocamento, não revelam sinais da infecção, comportando-se como portadores sadios, albergam as leptospiras nos rins, e as eliminam no meio ambiente contaminando assim a água, solo e alimentos. As fontes de infecções são constituídas pelos reservatórios e portadores (sadios e convalescentes) (BRASIL, 1995).

### **2.5.2 Via de Eliminação**

A principal via de eliminação das leptospiras é a urina infectada, entretanto nos bovinos a eliminação do agente também pode ocorrer por descargas uterinas pós- abortamento, feto ou placenta infectada, corrimentos vaginais e sêmen (ELLIS, 1994). Estas vias de eliminação provavelmente são tão importantes quanto à via urinária na disseminação e manutenção de leptospiras nos rebanhos bovinos (ELLIS; MICHINA, 1977).

### **2.5.3 Vias de Transmissão**

A leptospirose é transmitida de animal a animal e de animal ao homem; a transmissão homem a homem, porém, é rara. A transmissão ao homem ocorre por contato com urina, sangue, tecidos ou órgãos de animais infectados; ou indiretamente, pelo contato com água e/ou solo úmido ou vegetação contaminados pela urina de animais infectados. A transmissão acidental em laboratórios e a ingestão de alimentos contaminados já foram descritas. Nos animais em lactação, as leptospiras podem ser encontradas no leite, durante a fase sistêmica aguda da doença. No leite natural podem sobreviver por algumas horas e no leite diluído, por alguns dias (BRASIL, 1995).

O período de transmissibilidade da leptospirose dura enquanto as leptospiras estiverem presentes na urina (leptospiúria), geralmente da segunda a

quinta semana da doença. Os animais convalescentes podem eliminar o agente na urina durante meses e até anos (BRASIL, 1995).

#### **2.5.4 Porta de Entrada**

As portas de entrada para as leptospiras invadirem o organismo dos hospedeiros vertebrados são a pele lesada e as membranas mucosas intactas: orofaríngea, nasal, ocular e genital (nos animais). No caso dos ruminantes, devido à barreira químico-mecânica representada pelo rúmen, na via digestiva só seriam receptíveis a sua parte anterior, representada pela boca e faringe (CORREA; CORREA, 1991), as leptospiras também podem penetrar a pele íntegra em condições especiais que favoreçam a dilatação dos poros como ocorre quando da permanência por tempo prolongado em coleções de água contaminada (BRASIL, 1995). A consequência da infecção depende da infectividade do sorovar e da resposta imunológica do hospedeiro (WILLIAN; BENARD, 1995).

#### **2.5.5 Susceptíveis**

A leptospirose é uma antropozoonose e, portanto os animais são hospedeiros primários, essenciais para a persistência dos focos da infecção. Os seres humanos são hospedeiros acidentais, terminais, pouco eficientes na perpetuação da infecção (BRASIL, 1995).

A ocorrência da leptospirose manifesta-se usualmente sob forma endêmica e eventualmente, na forma epidêmica, por exposição da população a uma fonte comum de infecção (SECRETÁRIA DO ESTADO DA SAÚDE, 1983).

A leptospirose em humanos é vista como uma doença ocupacional que afeta cortadores de cana-de-açúcar, limpadores de esgotos, plantadores de arroz, magarefes, mineiros, veterinários e fazendeiros. Sendo assim, em área urbana, os grupos populacionais mais expostos são aqueles que trabalham ou vivem em locais sujeitos a enchentes, em precárias condições de moradia e/ou sem saneamento, em

contato com água ou lama e/ou esgotos contaminados pela urina de roedores infectados. Pelo convívio com os animais e por se expor ao meio ambiente, o habitante da área rural também está sujeito a contrair a leptospirose (BRASIL, 1995).

Apesar das leptospirosas não possuírem hospedeiros específicos para as diversas variantes sorológicas de *L. interrogans*, observa-se a existência de hospedeiros preferenciais, que se comportam como reservatórios, sendo estes, os principais responsáveis pela persistência da infecção em diferentes ecossistemas (VASCONCELLOS, 1987; LEVET, 1999). No Brasil as associações mais frequentes tem sido: suínos: variantes sorológicas Pomona e Icterohaemorrhagiae; bovinos: variantes sorológicas Hebdomadis, Hardjo e Wolffi; eqüinos: variantes sorológicas: Icterohaemorrhagiae, Canicola e Pomona; cães: variantes sorológicas Canicola e Icterohaemorrhagiae; ovinos e caprinos: variantes sorológicas Icterohaemorrhagiae (BRASIL, 1995).

## 2.6 CONTROLE E PREVENÇÃO

O controle da leptospirose animal deve assentar-se na integração de medidas profiláticas instituídas simultaneamente nos três níveis da cadeia de transmissão: fontes de infecção (vertebrados infectados), vias de transmissão (água, solo e fômites contaminados) e susceptíveis (vertebrados não infectados e não imunizados) (GUIMARÃES et al., 1982, 1983 FAINE et al., 1999 ).

Em relação às fontes de infecção, representadas pelos hospedeiros sinantrópicos (roedores), todos os esforços devem ser desencadeados com a aplicação de medidas de saneamento do meio que incluem: destino adequado do lixo, armazenagem correta dos alimentos de uso humano e animal em instalações construídas a prova dos roedores; evitar ao máximo a armazenagem de entulhos ou qualquer tipo de objeto em desuso que possa fornecer abrigo para tais animais e finalmente a aplicação dos métodos ofensivos, representados pelo uso racional dos diversos tipos de rodenticidas. Quanto às fontes de infecção constituídas pelos

animais domésticos, as medidas preventivas assentam-se no diagnóstico precoce e na instituição do tratamento específico (BRASIL, 1995).

Em relação às vias de transmissão, especial cuidado deve ser tomado no sentido de eliminar-se o excesso de água livre, com o emprego de técnicas de drenagem e canalização dos cursos de água. O destino adequado dos esgotos e das águas servidas é de grande importância para a redução do nível de contaminação ambiental (BRASIL, 1995).

A proteção específica dos animais susceptíveis é obtida com o uso de vacinas inativadas que contenham os sorovares de leptospiros presentes na região (SALLES; LILENBAUM, 2006). Devido ao tempo e as despesas envolvidas com a vacinação obviamente é o método de controle de escolha (BRASIL, 1995).

Sullivan (1974) relatou que vacinação de vacas gestantes assegura transferência de imunidade colostrar para as crias que, por sua vez, estarão imunes até os três meses de idade. Faine, (1982) sugeriu que a imunização devia ser feita durante os dois últimos terços da gestação. Szyfres, (1973) aconselhou a vacinação um mês antes da parição, principalmente em áreas onde a infecção é endêmica. Novilhas de mães vacinadas tardiamente ganham imunidade por alguns meses, porém devem ser imunizadas com três a cinco meses de idade, visando assegurar maior proteção contra a doença.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

---

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

A relação dos materiais examinados, os procedimentos microbiológicos, e tratamento estatístico dos resultados são relacionados a seguir.

### 4.1 DELINEAMENTO AMOSTRAL

A amostragem utilizada para a determinação da prevalência da leptospirose no Estado da Bahia foi proveniente de informações contidas nos questionários empregados no Programa Nacional de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) instituído pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2001).

A divisão do Estado da Bahia em quatro circuitos produtores levou em consideração os distintos sistemas de produção, manejo dos animais, finalidade da exploração, tamanho médio de rebanhos e o sistema de comercialização.

O estado foi dividido em quatro estratos, conforme o tipo de exploração predominante e a capacidade da ADAB para a condução do trabalho de campo.

O estudo foi realizado em duas etapas: (1) uma seleção aleatória de um número pré-estabelecido de propriedades (unidades primárias); (2) dentro das unidades primárias, foi amostrado, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses (unidades secundárias).

Nas propriedades rurais com atividade reprodutiva, escolheu-se para o inquérito, o rebanho bovino de maior importância econômica (corte, leite e misto),

no qual os animais estavam sob as mesmas condições de manejo e, provavelmente sob os mesmos fatores de risco.

Para o cálculo do número de unidades primárias a serem amostradas, foram considerados os parâmetros: (a) prevalência esperada; (b) erro absoluto; e (c) nível de confiança (THRUFIELD, 1995; NOORDHUIZEN et al. 1997). Também foi considerada a capacidade operacional e financeira da ADAB-BA para garantir um trabalho de campo com qualidade. Optou-se por uma amostra de 1.412 propriedades, com uma prevalência estimada de 10% e nível de confiança de 95%, resultando em um erro absoluto de 3,4%, de acordo com a fórmula para amostras aleatórias simples (THRUFIELD, 1995; NOORDHUIZEN et al. 1997):

$$d = \frac{\left[ Z_{\alpha} X(\sqrt{P(1-P)}) \right]}{\sqrt{n}}$$

Onde:

d = erro absoluto;

$Z_{\alpha}$  = valor da distribuição normal para o nível de confiança de 95%;

P = prevalência esperada;

n = número de propriedades amostradas

A seleção das propriedades foi realizada a partir do cadastro na ADAB-BA, e a técnica de amostragem adotada para o sorteio das propriedades foi aleatória sistemática (THRUFIELD, 1995). Caso houvesse a necessidade da substituição de alguma propriedade sorteada, foi escolhida a propriedade mais próxima e com as mesmas características de produção.

O número de animais testados para um rebanho ser classificado como positivo ou negativo foi calculado com base no valor de sensibilidade e especificidade agregadas (THORBURN, 1992; DONALD; GARDNER; WIGGINS, 1994; JORDAN, 1996; MARTIN; SHOUKRI). Os valores de sensibilidade e especificidade em nível de rebanho dependem de: (a) sensibilidade e especificidade do teste, em nível individual; (b) número de animais testados e tamanho do rebanho; (c) prevalência esperada; e (d) ponto de corte, ou seja, número mínimo de animais positivos para classificar o rebanho como foco (JORDAN, 1996). Dessa forma, o cálculo do número de unidades secundárias foi realizado com o programa Herdacc versão 3.0 de modo a ser obtido um valor de sensibilidade e especificidade agregadas de pelo menos 90% (MARTIN; SHOUKRI; THORBURN, 1992; Jordan, 1996), utilizando-se os parâmetros: (a) sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos, aplicados em nível individual, de 95% e 99,5%, respectivamente; (b) prevalência esperada de 20%; e (c) ponto de corte 1 (um). Após várias simulações, os tamanhos amostrais escolhidos foram (BRASIL, 2001):

- Dez fêmeas com idade  $\geq 24$  meses, se o rebanho fosse constituído por até 99 fêmeas da mesma faixa etária, ou todas as fêmeas existentes nessa faixa etária se não totalizassem dez animais;
- 15 fêmeas com idade  $\geq 24$  meses, se o rebanho fosse constituído por mais de 99 fêmeas da mesma faixa etária.

A escolha dos animais nas propriedades foi feita por amostragens aleatórias simples ou aleatórias sistemáticas (THRUFIELD, 1995). As fêmeas no período de Peri-parto, ou seja, aproximadamente 15 dias antes e após o parto, foram excluídas da seleção.

Finalmente foi determinado o tamanho da amostra das unidades primárias, totalizando, no Estado da Bahia, 1.414 propriedades, com amostragem final de 10.823 soros de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, (Quadro 1).

Circuito produtor	Propriedades c/ atividade reprodutiva de bovinos	Fêmeas bovinas > 24 meses	Propriedades amostradas	Fêmeas amostradas
1	51.613	1.813.278	383	3.566
2	80.782	1.293.665	336	2.621
3	63.918	720.057	364	2.142
4	32.530	430.329	331	2.494
Total	228.843	4.257.329	1.414	10.823

Quadro 1-Distribuição por circuito produtor do Estado da Bahia, do número total de propriedades c/ atividades reprodutivas, total de fêmeas bovinas, de propriedades amostradas e do número de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses amostradas.

#### 4.2 ANIMAIS

Foram visitadas 1.414 propriedades pelos técnicos da ADAB (Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia), sob a coordenação da Diretoria de Defesa Sanitária da ADAB, nas quais foi efetuada a colheita do sangue de 10.823 bovinos, cujos soros foram catalogados e armazenados em microtubos sob congelamento.

Os animais utilizados no experimento foram fêmeas de raças variadas com idade igual ou superior a 24 meses, mantidos em propriedades rurais que se dedicavam a pecuária de corte, leiteira ou mista e apresentavam abortamentos esporádicos.

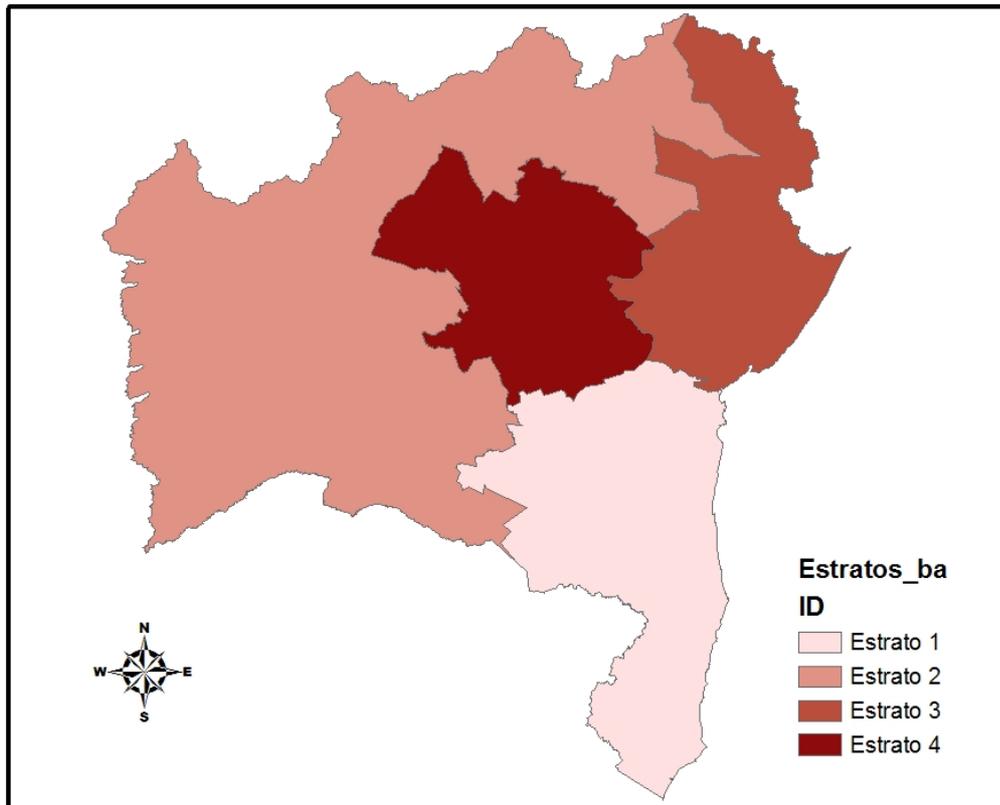
#### 4.3 FORMULÁRIOS

Foi empregado um formulário (Anexo A) nas 1.414 propriedades pela equipe técnica da ADAB, contendo as informações: sobre identificação da propriedade e manejo do rebanho. Nessa ocasião foi realizada uma visita prévia na propriedade sorteada com o objetivo de pedir a adesão do proprietário para o teste, agendar a colheita e responder ao questionário. As informações obtidas no questionário epidemiológico foram inseridas em um banco de dados elaborados no programa Microsoft Access® para verificar a possível presença de práticas e condições que poderiam atuar como fatores de risco para a brucelose, destas informações algumas foram consideradas pertinentes para o estudo da leptospirose bovina no Estado da Bahia.

#### 4.4 ESTRATIFICAÇÕES DA POPULAÇÃO NO ESPAÇO AMOSTRAL

A população de fêmeas do Estado da Bahia perfaz um total de 6.103.935 bovinos que correspondem a 63.67% do rebanho bovino total do Estado. Destas fêmeas, 10.823 possuíam idade superior a 24 meses e, portanto, fizeram parte da

estratificação para o levantamento epidemiológico e estudo da prevalência de brucelose nos estratos descritos a seguir. A figura 1 mostra a divisão do Estado da Bahia (Anexo B) em estratos pecuários.



Fonte: Fornecido pelo prof. Dr. Ricardo Dias da USP.

Figura 1- Mapa do Estado da Bahia-Brasil demonstrando sua subdivisão em quatro estratos.

**Estrato 1** É composto por 132 municípios (Itambé, Itororó, Ribeirão do largo, Caatiba, Itapetinga, Itarantim, Potiraguá, Firmino Alves, Nova Canaã, Ibicui, Santa cruz da vitória, Iguaí, Maiquinique, Macarani, Itabuna, Buerarema, são Jose da vitória, gov. Lomanto Junior, ibicarai, Floresta azul, almadina, Valença, cairú, taperoá, Nilo Peçanha, Ituberá, Igrapiuna, Camamu, Gandu, Tancredo Neves,

Teolândia, Itamari, Pirai do Norte, Nova Ibiá, Ubaitaba, Aurelino Leal, Ibirapitanga, Maraú, Gongogi, Itapitanga, Ubatã, Barra do Rocha, Ilhéus, Itacaré, Uruçuca, Itajuípe, Coaraci, Una, Canavieiras, Camacã, Itajú da Colônia, Pau Brasil, Jussari, Arataca, Santa Luzia, Mascote, Wenceslau Guimarães, Itapé, Ipiaú, Itagiba, Aiquará, Dário Meira, Ibirataia, Jequié, Amargosa, Brejões, Jequiriçá, Laje, Mutuípe, São Miguel das Matas, Ubaíra, Lafayet Coutinho, Itagi, Manoel Vitorino, Boa Nova, Jitaúna, Maracás, Lajedo do Taocal, Itiruçu, Iramaia, Planaltino, Jaguaquara, Itaquara, Irajuba, Nova Itarana, Milagres, Santa Inês, Cravolândia, Apuarema, Itamaraju, Prado, Itanhém, Eunápoles, Porto Seguro, Itabela, Itapebi, Itajimirim, Belmonte, Teixeirade Freitas, Caravelas, Alcobaça, Nova Viçosa, Mucuri, Santa Cruz de Carália, Guaratinga, Medeiros Neto, Lajedão, Ibirapoã, Vereda, Jucuruçú, Encruzilhada, Vitória da Conquista, Cândido Sales, Belo Campo, Bom Jesus da Serra, Poções, Caetanos, Tremedal, Anagé, Planalto, Brumado, Aracatu, Rio do Antônio, Malhada de Pedras, Mirante, Barra da Estiva, Ibiquará, Ituaçú, Tanhaçú, Contendas do Sincorá, Caraíbas, Barra da Choça) aonde foram identificadas 383 propriedades com bovinos.

**Estrato 2** É composto por 99 municípios (Pindaí, Sebastião Laranjeira, Urandi, Guajeru, Candiba, Guanambi, Matina, Palmas de Monte Alto, mlhada, Luiú, Caetité, Livramento de Nossa Senhora, Dom Basílio, Caculé, Licínio de Almeida, Igaporã, Abaíra, Tanque novo, Lagoa Real, Piatã, Rio de Contas, Jussiape, Condeúba, Jacaraci, Mortugaba, Maetinga, Piripá, Presidente Jânio Quadros, Cordeiros, Ibiassucé, Macaúbas, Boquira, Ibipitanga, Érico Cardoso, Rio do Pires, Caturama, Botuporã, Paramirim, Oliveira dos Brejinhos, Santa Maria de Vitória, São Felix do Coribe, Bom Jesus da Lapa, Correntina, Santana, Serra Dourada, Cocos,

Jaborandi, Coribe, Feira da Mata, Riacho de Santana, Serra do Ramalho, Sítio do Mato, Carinhanha, Brejolândia, Tabocas do Brejo Velho, Canápolis, Barreiras, Angical, Riachão das Neves, São Desidério, Cristópolis, Baianópolis, Catolândia, Cotequipe, Luis Eduardo Magalhães, Ipupiara, Brotas de Macaúbas, Santa Rita de Cássia, Ibotirama, Wanderley, Paratinga, Formosa do Rio Preto, Mansidão, Barra, Morpará, Buritirama, Muquém do São Francisco, Juazeiro, Sobradinho, Sento Sé, Curaçá, Casa Nova, Remanso, Queimadas, Nordestina, Cansanção, Itiúba, Uauá, Canudos, Campo Alegre de Lourdes, Pilão Arcado, Senhor do Bonfim, Jaguarari, Andorinha, Filadélfia, Pindobaçu, Campo formoso, Antônio Gonçalves Ponto Novo) aonde foram identificadas 336 propriedades com bovinos .

**Estrato 3** É composto por 99 municípios (Paulo Afonso, Santa Brigida, Gória, Novo Triunfo, Rodelas, Jeremoabo, Pedro Alexandre, Coronel João Sá, Abaré, Chorrochó, Sítio do Quinto, Macureré, Adustina, Antas, Banzaê, Cícero Dantas, Fátima, Heliópolis, Paripiranga, Ribeira do Pombal, Tucano, São Domingos, Santa Luz, Retirolândia, Valente, Conceição do Coité, Entre Rios, Rio Real, Esplanada, Acajutiba, Cardeal da Silva, Conde, Jandaíra, Alagoinhas, Ouriçangas, Aramari, Pedrão, Itanagra, Catu, Pojuca, Araçás, Inhambupe, Sátiro Dias, Itapicuru, Ribeira do Amparo, Crisópolis, Cipó, Nova Soure, Aporá, Olindina, Biritinga, Araci, Agua Fria, Lamarão, Serrinha, Teofilândia, Euclides da Cunha, Quinjique, Monte Santo, Santanópolis, São Gonçalo dos Campos, Irará, Conceição de Feira, Anguera, Antônio Cardoso, Coração de Maria, Conceição do Almeida, São Felix, Maragogipe, Cachoeira, Sapeaçú, Santa Bárbara, Muritiba, São Felipe, Riachão do Jacuípe, Capela do Alto Alegre, Nova Fátima, Gavião, Pé de Serra, Santo Antônio de Jesus, Itatim, Varzedo, Dom Macedo Costa, Nazaré, Castro Alves, Jaguaripe, Elísio

Medrado, Santa Terezinha, Muniz Ferreira, Aratuípe, Itaparica, Tanquinho, Candeal, Ichú, Ipirá, São Francisco do Conde, Saubara, Teodoro Sampaio, Amélia Rodrigues, Terra Nova, Santo Antônio, Conceição do Jacuípe, Pintadas, Baixa Grande, Cabaceiras do Paraguaçu, Governador Mangabeira, Cruz das Almas, Serra Preta, Santo Estevão, Ipecaetá, Feira de Santana, Rafael Jambeiro, Candeias, Simões Filho, São Sebastião do Passé, Dias D'Ávila, Mata de São João, Salvador, Lauro de Freitas, Camaçari) aonde foram identificadas 364 propriedades com bovinos.

**Estrato 4** É composto por 99 municípios (Rui Barbosa, Utinga, Macajuba, Wagner, Lajedinho, Bonito, Boa Vista do Tupim, Itaberaba, Andaraí, Itaetá, Nova Redenção, Boninal, Souto Soares, Palmeiras, Seabra, Iaçú, Marcionílio Souza, Ibiquera, Mucugê, Lençóis, Iraquara, Novo Horizonte, Ibitiara, Irecê, Central, Presidente Dutra, São Gabriel, Lapão, João Dourado, Uibai, América Dourada, Jussara, Itaguaçu da Bahia, Gentio do Ouro, Xique-Xique, Canarana, Barra do Mendes, Ibipeba, Barro Alto, Ibititá, Miguel Calmon, Caem, saúde, Mirangaba, Caldeirão Grande, São João do Jacuípe, Jacobina, Capim Grosso, Serrolândia, Quixabeira, Várzea do Poço, Mundo Novo, Piritiba, Tapiramutá, Mairi, Várzea da Roça, Morro do chapéu, Várzea Nova, Cafarnaum, Mulungu do Morro, Umburanas, Orolândia) aonde foram identificadas 331 propriedades com bovinos.

#### 4.5 SORODIAGNÓSTICO PARA LEPTOSPIROSE:

A colheita das amostras foi realizada por Médicos Veterinários da ADAB entre os meses de março a setembro de 2004. As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular com agulha descartável e tubo com vácuo sem

anticoagulante com capacidade de 15 mL. Os tubos foram identificados com um código composto de 11 dígitos, sendo os setes primeiros relativos ao município e os quatros restantes relativos à propriedade e ao animal. Após o dessoramento, cada amostra sorológica foi transferida para outro frasco, identificada e armazenada em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos (FAINE et al., 1999), prova de referência pela Organização Mundial da Saúde-OMS para o diagnóstico da leptospirose, foi empregada para mensuração dos níveis de aglutininas para todas as amostras de soros e foi realizada no Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Universidade de São Paulo-USP. Os soros foram mantidos à temperatura ambiente para descongelamento. Uma alíquota de  $100\mu\text{L}$  foi recolhida com auxílio de pipeta automática, devidamente calibrada e adicionada a 4,9 mL de solução salina de Sorensen. Cada amostra foi testada com 24 sorovares da coleção de referência. Foi empregada a microtécnica de soroaglutinação microscópica (GALTON et al. 1965; COLE JR., 1973). O resultado do sorodiagnóstico foi analisado de acordo com o critério de verificação do sorovar mais provável, com a transformação da recíproca da maior diluição em logaritmo de base dez e foram descartados os resultados de animais cujo maior título foi idêntico para mais de um dos sorovares testados (VASCONCELLOS et al. 1997).

Os resultados foram inseridos e processados pelo sistema de informação geográfica para posterior confecção dos mapas.

O banco de dados para a brucelose foi alterado no Microsoft Access®, para serem inseridos os resultados obtidos na SAM, para que fosse possível a utilização das informações epidemiológicas contidas nos questionários das propriedades.

#### 4.5.1 Antigenos

A soroaglutinação microscópica foi realizada com uma coleção de culturas vivas de *Leptospira* spp., totalizando 24 variantes sorológicas, apresentadas no quadro 2, as culturas de leptospiros foram mantidas em meio líquido de EMJH (DIFCO™) modificado (ALVES, 1996) suplementado com 15% de soro estéril de coelho enriquecido com 1% de piruvato de sódio, 1% de cloreto de cálcio, 1% de cloreto de magnésio e 3% de L-asparagina. O soro de coelho foi inativado pelo tratamento térmico 56°C por 30 minutos. As culturas foram incubadas durante sete a dez dias em estufa bacteriológica a 28°C.

<b>Código</b>	<b>Sorogrupo</b>	<b>Sorovar</b>	<b>Estirpes</b>
1-A	Australis	Australis	Ballico
1-B	Australis	Bratislava	Jez Bratislava
2-A	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
2-B	Autumnalis	Butembo	Butembo
3	Ballum	Castellonis	Castellon 3
4	Batavia	Bataviae	Swart
5	Canicola	Canicola	Hondutrecht IV
6	Celledoni	Whitcombi	Whitcomb
7	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
8	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
9	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
10-A	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M 20
10-B	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
11	Javanica	Javanica	Veldrat Batavia 46
12	Panama	Panama	CZ 214 K
13-A	Pomona	Pomona	Pomona
14	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
15-A	Sejroe	Hardjo (Hardjoprajitno)	Hardjoprajitno
15-B	Sejroe	Wolffi	3705
15-C	Sejroe	Hardjo (Hardjobovis)	Sponselee
16	Shermani	Shermani	1342 K
17	Tarassovi	Tarassovi	Perepelitsin
20	Seramanga	Patoc	Patoc 1
ST	Djasiman	Sentot	Sentot

Quadro 2- Antígenos empregados na microtécnica de Soroaglutinação Microscópica aplicada a leptospirose segundo código de identificação do laboratório, sorogrupo, sorovar e estirpe- São Paulo- 2008

#### 4.5.2 Triagem

Cada amostra de soro foi inicialmente diluída a 1:50 em solução salina tamponada de Sorensen. Desta diluição, foi retirado com o auxílio de um pipetador automático 50 µL e foram distribuídos em microplaca de poliestireno de fundo chato com 96 poços (COSTAR), logo após foi acrescentado 50 µL de cada antígeno correspondente nos poços obedecendo à marcação das placas (soro testado x

antígeno), obtendo-se uma nova diluição de 1:100. Cada amostra sorológica foi testada frente à bateria antigênica com 24 sorovares. As microplacas foram agitadas e incubadas em estufa bacteriológica a 28°C por três horas.

#### **4.5.3 Titulação**

Os soros reagentes na triagem foram novamente testados para a determinação do título final de aglutininas antileptospiras, efetuando-se diluições seriadas em escala geométrica de razão dois em solução salina tamponada de Sorensen e acrescidas de 50 µL do antígeno que reagiu como positivo no teste de triagem. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28°C por três horas.

#### **4.5.4 Leitura e interpretação**

As leituras foram realizadas em microscópio óptico Jena Zeiss, com condensador de campo de campo escuro seco, com lente objetiva Epiplan 10 x 0,20 e de ocular 10 (100x), observando-se a formação de aglutinações. O grau de aglutinação foi lido e avaliado com base no seguinte critério:

1+quando pelo menos 25% das leptospiras estavam aglutinadas no campo microscópico.

2+ quando ocorrido em 50% delas.

3+ quando cerca de 75% se achavam aglutinadas.

4+ quando a aglutinação estava entre 75 a 100%.

O título das reações positivas foi considerado a recíproca da mais alta diluição do soro, na mistura soro-antígeno que apresentou 50% ou mais das leptospiras aglutinadas por campo microscópico (FAINE et al., 1999). Esta percentagem foi tomada tendo como referência o tubo controle: volumes iguais (0,05 mL) de solução salina de Sorensen acrescido ao antígeno.

Os soros reatores na triagem (diluição 1:100) foram titulados com os respectivos antígenos reagentes

## 4.6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O tratamento estatístico seguiu as seguintes etapas:

### 4.6.1 Cálculo de soroprevalência

O provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título. Na ocorrência de empate sorológico para dois ou mais sorovares, o animal foi desconsiderado desta análise.

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

Calculou-se a soroprevalência da leptospirose bovina para qualquer sorovar, considerando-se as reações positivas sobre o total de animais do Estado da Bahia, o total de animais por região e sobre o total de animais por propriedade. Em seguida, foi calculada a prevalência dos sorovares considerando-se o total de animais reagentes no Estado da Bahia, total de reagentes por região e o total de reagentes por propriedade. Também foi investigada a associação entre as prevalências de leptospirose e o relato da ocorrência de abortamentos nas propriedades.

#### **4.6.2. Prevalência de animais sororeagentes**

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

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

#### 4.6.3 Prevalência de propriedades positivas

Para o cálculo da prevalência de propriedades positivas para leptospirose bovina no Estado da Bahia, o delineamento amostral empregou a amostra aleatória estratificada (THRUSFIELD, 1995). Os parâmetros necessários foram: (a) condição da propriedade (positiva ou negativa); (b) região a qual pertencia à propriedade e (c) peso estatístico. O peso estatístico foi determinado aplicando-se a seguinte fórmula (DEAN, 1994):

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

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

#### 4.6.4 Análise de fatores de risco para a leptospirose bovina

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

- ❖ Tipo de exploração: corte, leite e mista;
- ❖ Tipo de criação: confinada, semi-confinada e extensiva;
- ❖ Utilização de inseminação artificial: não e sim (com ou sem uso de touro);
- ❖ Número de fêmeas com idade  $\geq 24$  meses: adotou-se a mediana como ponto de corte;
- ❖ Tamanho do rebanho: adotou-se a mediana como ponto de corte;
- ❖ Outras espécies na propriedade: ovinos, caprinos, eqüídeos, suínos e cão: sim e não;
- ❖ Presença de animais silvestres na propriedade, incluindo cervídeos: sim e não;
- ❖ Destino de fetos abortados e placenta: enterra/joga em fossa/queima, alimenta porco/cão e não faz nada;

- ❖ Compra reprodutores: de qualquer origem, em exposição, em leilão/feira, de comerciantes de gado e diretamente de outras fazendas;
- ❖ Aluguel de pastos: sim e não;
- ❖ Abate de reprodutores na propriedade: sim e não;
- ❖ Utilização de pastos compartilhados: sim e não;
- ❖ Existência de áreas alagadiças acessíveis ao gado: sim e não.
- ❖ Utilização de piquetes de parição: sim e não;
- ❖ Tem assistência veterinária: sim e não.

#### **4.6.5 A leptospirose como causa de abortamentos**

Para análise da leptospirose como causa de problemas reprodutivos em animais soropositivos foi realizada a estratificação pelo histórico de abortamento, empregando-se o teste de qui-quadrado, com níveis de significância de 5%.

## 5 GEOPROCESSAMENTO

Foram construídos mapas temáticos com as distribuições das variantes sorológicas de leptospira, em cada uma das regiões do Estado da Bahia. A localização das propriedades foi estabelecida com um aparelho de localização por satélite (GPS).

As informações necessárias para o georeferenciamento foram obtidas durante as visitas nas quais foi preenchido o questionário epidemiológico (Anexo A), e a colheita dos soros. As coordenadas geográficas de latitude e longitude foram estabelecidas com aparelhos de posicionamento global por satélite (GPS - *global position system*) da marca Garmin (Garmin Corp.). As coordenadas geográficas foram incluídas no banco de dados e posteriormente utilizadas para confecção dos mapas com auxílio do software Arcview 9.1 (ESRI., 2005). Foi construído um mapa temático do Estado da Bahia com a distribuição espacial por variante para localizar os sorovares predominantes.

**RESULTADOS**

---

## 6 RESULTADOS

Das 10.823 fêmeas bovinas do Estado da Bahia, Brasil, examinadas no período de março a setembro de 2004, 4.253 (45,4% - IC 95%= 42,0 – 48,9) foram reagentes na SAM para pelo menos um dos 24 sorovares de *Leptospira spp.*, utilizados na coleção de antígenos com títulos variando de 100 a 12800. A região 2 foi a que apresentou o maior número de animais reagentes, com títulos mais elevados (48,6% - IC 95% = 43,7 – 53,6), seguida pelas regiões 1, 3 e 4 (Tabela 1).

Tabela 1 – Fêmeas bovinas de rebanhos do estado da Bahia, Brasil, submetidas ao diagnóstico laboratorial de leptospirose, pela soroprecipitação microscópica com uma coleção de 24 sorovares distintos segundo a região do Estado, e a natureza do resultado obtido. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Região	Proporção de reagentes*	Prevalência (%)	IC 95% (%)
1	1092/3566	42,52	35,82 – 49,51
2	1228/2621	48,60	43,68 – 53,56
3	981/2142	47,72	40,36 – 55,18
4	952/2494	44,18	38,13 – 50,41
Estado	4253/10823	45,42	42,00 – 48,88

Não foram observadas diferenças significativas nas proporções de fêmeas para pelo menos um sorovar entre as regiões ( $p > 0,05$ ).

\* = Número de animais reagentes para pelo menos um sorovar de *Leptospira spp.*, por número de animais examinados.

O sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) (15,0%) foi o predominante do total de animais examinados. Os sorovares Shermani, Wolffi e Hardjo (Hardjobovis) foram observados na seqüência, respectivamente com 4,9%, 3,6% e 3,3% (Tabela 2). Os sorovares mais freqüentes da Tabela 2 estão destacados no gráfico 1.

Tabela 2 – Proporção de fêmeas bovinas do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para leptospirose, na prova de soroaglutinação microscópica segundo o sorovar reator, e o respectivo intervalo de confiança. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004

Sorovar	Proporção de reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	58/10822*	0,88	[0,51 – 1,1]
Autumnalis	150/10822	1,54	[1,12 - 2,10]
Bataviae	1/10822	0,01	[0,00 - 0,05]
Bratislava	29/10822	0,31	[0,11 - 0,69]
Butembo	26/10822	0,18	[0,10 - 0,32]
Canicola	1/10822	0,01	[0,00 - 0,04]
Castellonis	40/10822	0,31	[0,17 - 0,53]
Copenhageni	4/10822	0,03	[0,01 - 0,09]
Cynopteri	1/10822	0,04	[0,01 - 0,28]
Grippotyphosa	27/10822	0,22	[0,12 - 0,40]
Hardjo (Hardjobovis)	339/10822	3,27	[2,45 - 4,34]
Hardjo (Hardjoprajitno)	1384/10822	14,95	[12,59 - 17,67]
Hebdomadis	227/10822	2,07	[1,56 - 2,74]
Icterohaemorrhagiae	94/10822	0,99	[0,64 - 1,53]
Panamá	4/10822	0,02	[0,01 - 0,05]
Patoc	169/10822	0,98	[0,69 - 1,39]
Pomona	28/10822	0,54	[0,20 - 1,45]
Pyrogenes	88/10822	0,79	[0,51 - 1,21]
Sentot	5/10822	0,02	[0,01 - 0,05]
Shermani	459/10822	4,94	[4,05 - 6,01]
Tarassovi	76/10822	0,69	[0,46 - 1,05]
Whitcombi	11/10822	0,08	[0,03 - 0,19]
Wolffi	265/10822	3,57	[2,92 - 4,36]

\*= Número de animais positivos para o sorovar sobre o número total de fêmeas examinadas.

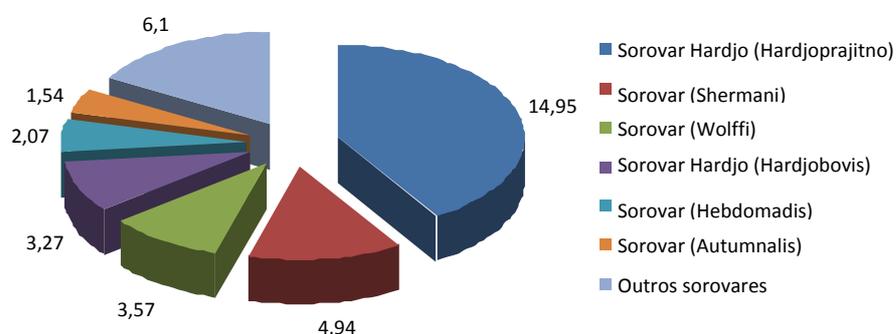


Gráfico 1 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Os resultados apresentados nas tabelas 3 a 6, contêm reações positivas para 23 sorovares dos 24 constantes da coleção de antígenos nas quatro regiões em que o Estado da Bahia foi subdividido. O sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) despontou como predominante nos animais com 15,4%, 14,9%, 12,8% e 16,8% respectivamente nas regiões 1, 2, 3 e 4, seguido pela alternância entre os sorovares Shermani, Hardjo (Hadjobovis) e Wolffi. Os sorovares mais freqüentes das tabelas 3 a 6 são destacados nos gráficos 2 a 5.

Tabela 3 – Proporção de fêmeas bovinas da região 1, sul do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo- 2008

<b>Sorovar</b>	<b>Proporção de reagentes</b>	<b>(%)</b>	<b>IC 95% (%)</b>
Australis	22/3566*	1,31	[0,69 – 2,47]
Autumnalis	40/3566	1,35	[0,79 – 2,29]
Bataviae	1/3566	0,02	[0,00 – 0,12]
Bratislava	5/3566	0,34	[0,07 – 1,61]
Butembo	11/3566	0,22	[0,09 – 0,54]
Castellonis	6/3566	0,26	[0,08 – 0,81]
Copenhageni	2/3566	0,04	[0,01 – 0,20]
Cynopteri	1/3566	0,09	[0,01 – 0,65]
Grippotyphosa	6/3566	0,06	[0,02 – 0,15]
Hadjo (Hadjobovis)	74/3566	1,48	[1,03 – 2,12]
Hadjo (Hardjoprajitno)	375/3566	15,40	[10,99 – 21,17]
Hebdomadis	34/3566	1,01	[0,55 – 1,86]
Icterohaemorrhagiae	30/3566	1,30	[0,70 – 2,37]
Patoc	9/3566	0,10	[0,03 – 0,33]
Pomona	7/3566	0,61	[0,10 – 3,47]
Pyrogenes	17/3566	0,42	[0,19 – 0,96]
Shermani	124/3566	4,67	[3,29 – 6,59]
Tarassovi	8/3566	0,44	[0,15 – 1,28]
Whitcombi	2/3566	0,03	[0,01 – 0,17]
Wolffi	95/3566	3,71	[2,63 - 5,21]

\*= Número de animais positivos para o sorovar sobre o número total de fêmeas examinadas.

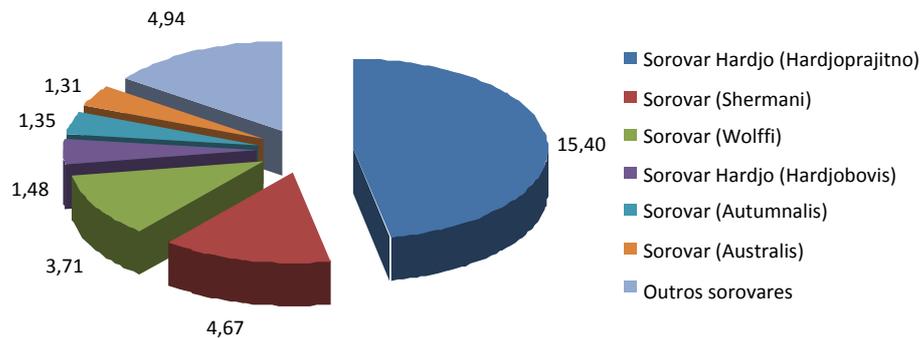


Gráfico 2 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 1. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.

Tabela 4 - Proporção de fêmeas bovinas da região 2, norte do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo- 2008

Sorovar	Proporção de reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	14/2621*	0,66	[0,33 -0,97]
Autumnalis	34/2621	1,35	[0,73 -2,50]
Bratislava	12/2621	0,33	[0,15 -0,72]
Butembo	4/2621	0,11	[0,03 -0,33]
Castellonis	14/2621	0,21	[0,11 -0,40]
Copenhageni	1/2621	0,03	[0,00 -0,20]
Grippotyphosa	14/2621	0,57	[0,27 -1,20]
Hardjo (Hardjobovis)	111/2621	5,48	[3,39 -8,75]
Hardjo (Hardjoprajitno)	377/2621	14,88	[12,00 -18,31]
Hebdomadis	77/2621	3,08	[1,86 -5,06]
Icterohaemorrhagiae	25/2621	0,59	[0,34 -1,03]
Panama	1/2621	0,02	[0,00 -0,13]
Patoc	56/2621	1,52	[0,84 -2,71]
Pomona	11/2621	0,65	[0,17 -2,45]
Pyrogenes	21/2621	0,84	[0,32 -2,16]
Sentot	5/2621	0,07	[0,03 -0,17]
Shermani	128/2621	4,79	[3,14 -7,25]
Tarassovi	29/2621	0,69	[0,38 -1,25]
Whitcombi	3/2621	0,05	[0,01 -0,17]
Wolffi	64/2621	4,06	[3,06 -5,38]

\*= Número de animais positivos para o sorovar sobre o número total de fêmeas examinadas.

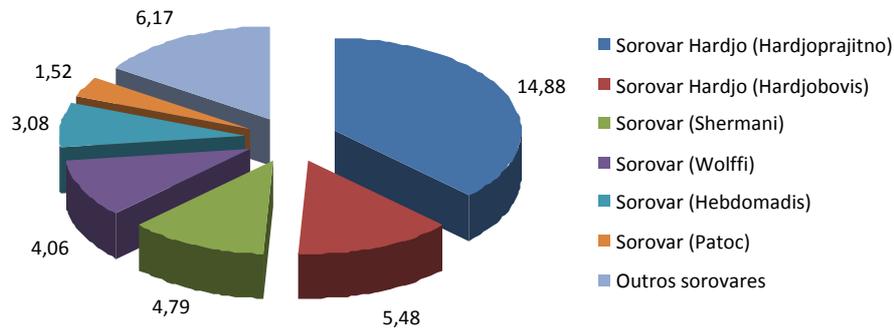


Gráfico 3 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 2. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004.

Tabela 5 - Proporção de fêmeas bovinas da região 3, nordeste do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo- 2008

Sorovar	Proporção de reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	9/2141*	0,54	[0,19 – 1,54]
Autumnalis	48/2141	2,67	[1,46 – 4,83]
Bratislava	6/2141	0,12	[0,05 – 0,30]
Butembo	4/2141	0,07	[0,02 – 0,24]
Canicola	1/2141	0,03	[0,00 – 0,22]
Castellonis	13/2141	0,42	[0,20 – 0,90]
Grippotyphosa	6/2141	0,13	[0,05 – 0,34]
Hardjo (Hardjobovis)	92/2141	3,91	[2,74 – 5,55]
Hardjo (Hardjoprajitno)	278/2141	12,84	[9,01 – 17,96]
Hebdomadis	69/2141	2,85	[1,85 – 4,37]
Icterohaemorrhagiae	14/2141	1,17	[0,38 – 3,52]
Panama	1/2141	0,03	[0,00 – 0,24]
Patoc	54/2141	1,77	[1,07 – 2,91]
Pomona	5/2141	0,40	[0,13 – 1,20]
Pyrogenes	31/2141	1,03	[1,00 – 3,30]
Shermani	99/2141	5,83	[4,78 – 7,10]
Tarassovi	21/2141	1,10	[0,53 – 2,28]
Whitcombi	4/2141	0,26	[0,07 – 1,03]
Wolffi	55/2141	2,37	[1,52 – 3,68]

\*= Número de animais positivos para o sorovar sobre o número total de fêmeas examinadas.

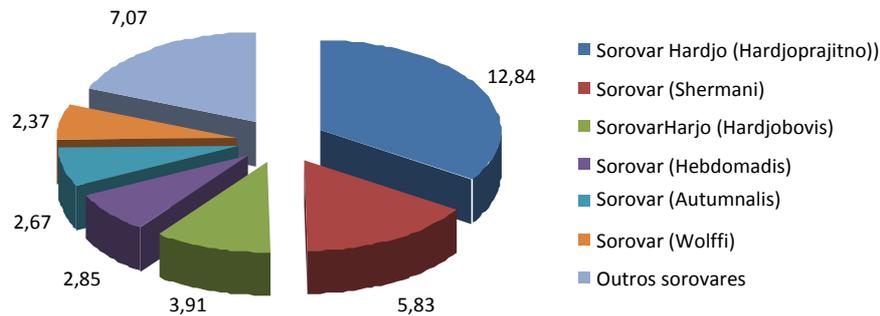


Gráfico 4 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 3. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Tabela 6 - Proporção de fêmeas bovinas da região 4, centro-oeste do Estado da Bahia, Brasil, reatoras para a leptospirose na prova de soroaglutinação microscópica, segundo o sorovar reator e intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo- 2008

Sorovar	Proporção de reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	13/2494*	0,28	[0,13 – 0,60]
Autumnalis	28/2494	1,02	[0,56 – 1,86]
Bratislava	6/2494	0,40	[0,09 – 1,79]
Butembo	7/2494	0,40	[0,14 – 1,28]
Castellonis	7/2494	0,58	[0,13 – 2,57]
Copenhageni	1/2494	0,01	[0,00 – 0,08]
Grippotyphosa	1/2494	0,01	[0,00 – 0,08]
Hardjo (Hardjobovis)	62/2494	3,06	[1,97 – 4,74]
Hardjo (Hardjoprajitno)	354/2494	16,78	[13,31 – 20,94]
Hebdomadis	47/2494	2,18	[1,38 – 3,41]
Icterohaemorrhagiae	25/2494	0,55	[0,31 – 1,00]
Panama	2/2494	0,05	[0,01 – 0,25]
Patoc	50/2494	1,75	[0,89 – 3,39]
Pomona	5/2494	0,16	[0,05 – 0,50]
Pyrogenes	19/2494	0,40	[0,20 – 0,81]
Shermani	108/2494	5,03	[3,12 – 7,99]
Tarassovi	18/2494	1,12	[0,51 – 2,46]
Whitcombi	2/2494	0,09	[0,02 – 0,53]
Wolffi	51/2494	3,50	[2,01 – 6,02]

\*= Número de animais positivos para o sorovar sobre o número total de fêmeas examinadas.

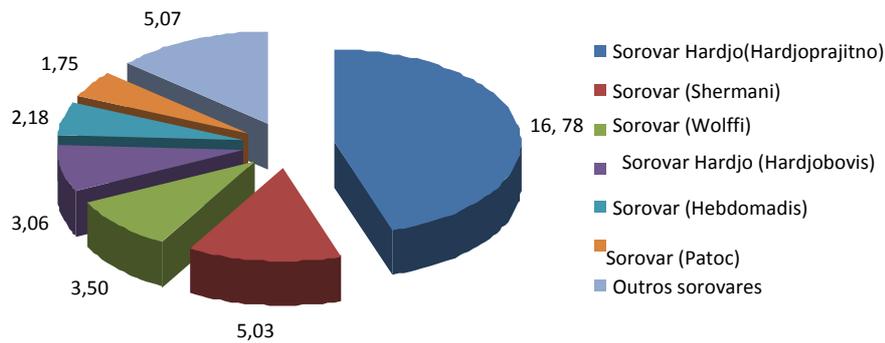


Gráfico 5 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes em bovinos do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 4. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Dentre as 1.414 propriedades investigadas, 1076 (77,9% - IC 95%= 75,7 – 80,0) apresentaram pelo menos um animal reagente na SAM para qualquer um dos 24 sorovares de *Leptospira spp.* testados, como mostra a tabela 7. A maior freqüência de propriedades positivas ocorreu na região 2 (88,1% IC 95% = 84,2 - 91,2), seguida das regiões 3, 4 e 1.

Tabela 7 – Proporção de propriedades rurais do Estado da Bahia, Brasil onde houve pelo menos um bovino reator no teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo a região. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Região	Proporção de propriedades c/ animais reagentes	Prevalência (%)	IC 95% (%)
1	239/383*	62,40	[57,43 – 67,13]
2	296/336	88,10	[84,16 – 91,15]
3	282/364	77,47	[72,88 – 81,49]
4	259/331	78,25	[73,47 – 82,37]
Estado	1076/1414	77,93	[75,73 – 79,99]

Foram observadas diferenças significativas nas proporções de propriedades com pelo menos um animal reagente *Leptospira spp.* entre as seguintes regiões: 1 e 2 ( $p < 0,01$ ), 1 e 3 ( $p < 0,01$ ), 1 e 4 ( $p < 0,01$ ), 2 e 3 ( $p < 0,01$ ) e 2 e 4 ( $p < 0,01$ ).

\*= Número de propriedades com animais reagentes para pelo menos um sorovar de *Leptospira spp.*, por número de propriedades examinadas.

A tabela 8 mostra os sorovares predominantes no total de propriedades do Estado da Bahia, examinadas onde o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) com 34,5%(IC 95% = 31,9 – 37,1) foi o primeiro colocado seguido pelos sorovares Shermani, Hardjo (Hardjobovis) e Wolffi, respectivamente com 8,2% (IC 95% =6,8 – 9,8), 7,6% (IC 95%=6,2 -9.2) e 5,3% (IC 95%=4,2 – 6,7). Os sorovares mais freqüentes da tabela 8 são destacados no gráfico 6.

Tabela 8 – Proporção de propriedades rurais do Estado da Bahia onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e respectivas prevalências e intervalos de confiança. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

<b>Sorovar</b>	<b>Proporção de propriedades c/ animais reagentes</b>	<b>Prevalência (%)</b>	<b>IC 95% (%)</b>
Australis	10/1414*	0,72	[0,37 – 1,37]
Autumnalis	25/1414	1,77	[1,18 – 2,65]
Bratislava	7/1414	0,49	[0,22 – 1,08]
Butembo	4/1414	0,25	[0,09 – 0,68]
Castellonis	5/1414	0,44	[0,18 – 1,07]
Grippotyphosa	7/1414	0,60	[0,28 – 1,28]
Hardjo (Hardjobovis)	101/1414	7,60	[6,23 – 9,23]
Hardjo (Hardjoprajitno)	485/1414	34,49	[31,93 – 37,14]
Hebdomadis	53/1414	3,06	[2,93 – 5,07]
Icterohaemorrhagiae	12/1414	0,85	[0,47 – 1,54]
Patoc	40/1414	3,15	[2,29 – 4,33]
Pomona	8/1414	0,61	[0,30 – 1,27]
Pyrogenes	19/1414	1,31	[0,82 – 2,08]
Sentot	2/1414	0,21	[0,05 – 0,84]
Shermani	118/1414	8,17	[6,79 – 9,79]
Tarassovi	13/1414	1,12	[0,64 – 1,94]
Whitcombi	1/1414	0,11	[0,01 – 0,74]
Wolffi	76/1414	5,34	[4,25 – 6,70]

\*= Número de propriedades com animais reatores para o respectivo sorovar / número de propriedades em que os bovinos foram examinados.

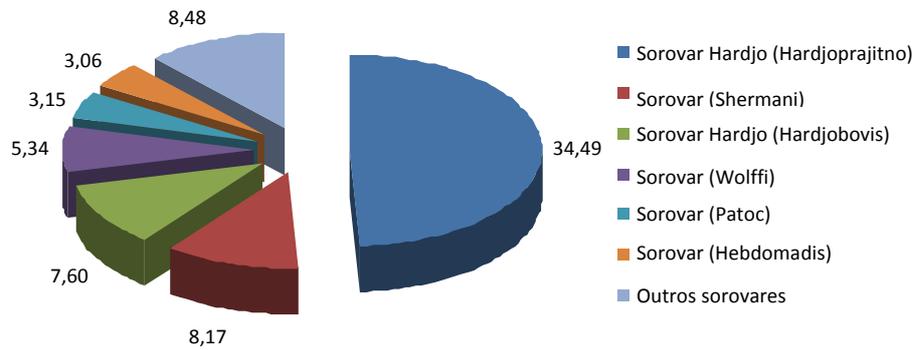


Gráfico 6 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Os resultados apresentados nas tabelas 9 a 12 revelam que 18 sorovares dos 24 constantes na coleção de antígenos utilizada foram registrados nas quatro regiões estudadas. O menor número de sorovares retores pela SAM ocorreu na região quatro (13 sorovares) e o maior (17 sorovares) na região 2.

O sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) despontou como o predominante entre os animais das quatro regiões no qual foi dividido o estado da Bahia, seguido pela alternância entre os sorovares Shermani, Hardjo (Hadjobovis) e Wolffi em algumas regiões. Os sorovares mais freqüentes das tabelas 9 a 12 são destacados nos gráficos 7 a 10.

Tabela 9 – Proporção de propriedades rurais da região 1, sul do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Sorovar	Proporção de propriedades c/ animais reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	2/383*	0,52	[0,13 – 2,07]
Autumnalis	7/383	1,83	[0,87 – 3,79]
Butembo	3/383	0,78	[0,25 – 2,41]
Grippotyphosa	1/383	0,26	[0,04 – 1,84]
Hardjo (Hardjobovis)	17/383	4,44	[2,77 – 7,03]
Hardjo (Hardjoprajitno)	120/383	31,33	[26,87 – 36,16]
Hebdomadis	8/383	2,09	[1,05 – 4,13]
Icterohaemorrhagiae	1/383	0,26	[0,04 – 1,84]
Patoc	2/383	0,52	[0,13 – 2,07]
Pomona	1/383	0,26	[0,04 – 1,84]
Pyrogenes	2/383	0,52	[0,13 – 2,07]
Shermani	28/383	7,31	[5,09 – 10,39]
Tarassovi	1/383	0,26	[0,04 – 1,84]
Wolffi	30/383	7,83	[5,53 – 10,99]

\*= Número de propriedades com animais reatores para o respectivo sorovar / número de propriedades em que os bovinos foram examinados.

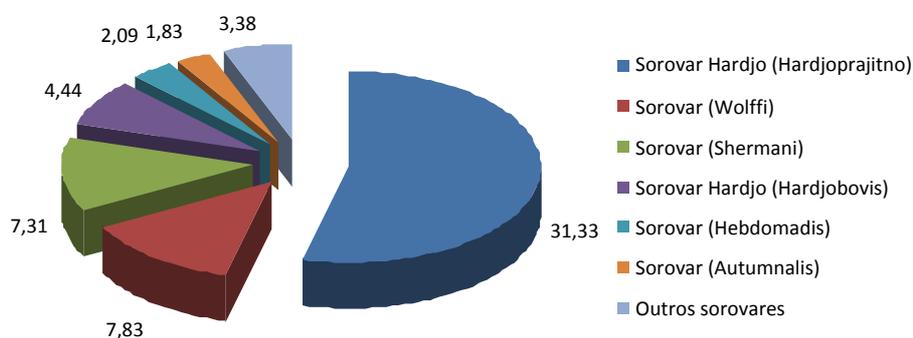


Gráfico 7 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais frequentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 1. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Tabela 10 - Proporção de propriedades rurais da região 2, norte do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroglutinação microscópica aplicada à leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Sorovar	Proporção de propriedades c/ animais reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	3/336*	0,89	[0,29 – 2,74]
Autumnalis	4/336	1,19	[0,45 – 3,14]
Bratislava	2/336	0,60	[0,15 – 2,36]
Castellonis	2/336	0,60	[0,15 – 2,36]
Grippotyphosa	3/336	0,89	[0,29 – 2,74]
Hardjo (Hardjobovis)	34/336	10,12	[7,31 – 13,84]
Hardjo (Hardjoprajitno)	132/336	39,29	[34,19 – 44,62]
Hebdomadis	12/336	3,57	[2,04 -6,19]
Icterohaemorrhagiae	3/336	0,89	[0,29 – 2,74]
Patoc	15/336	4,46	[2,71 – 7,20]
Pomona	3/336	0,89	[0,29 – 2,74]
Pyrogenes	2/336	0,60	[0,15 – 2,36]
Sentot	2/336	0,60	[0,15 – 2,36]
Shermani	28/336	8,33	[5,81 – 11,81]
Tarassovi	6/336	1,79	[0,80 – 3,92]
Whitcombi	1/336	0,30	[0,04 – 2,09]
Wolffi	16/336	4,76	[2,93 – 7,64]

\*= Número de propriedades com animais reatores para o respectivo sorovar / número de propriedades em que os bovinos foram examinados.

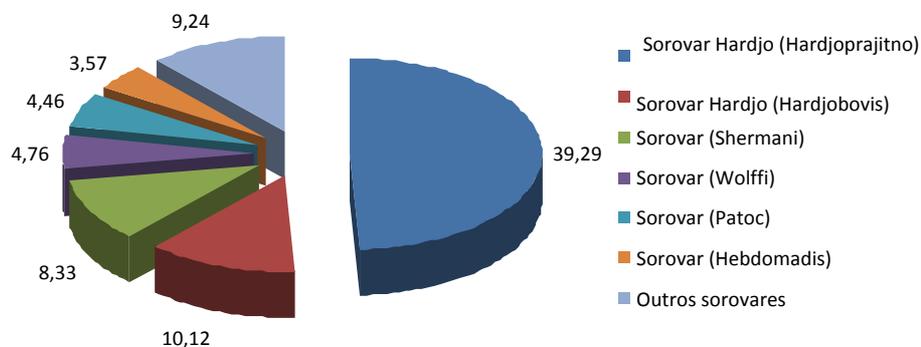


Gráfico 8 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 2. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Tabela 11 - Proporção de propriedades rurais da região 3, nordeste do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Sorovar	Proporção de propriedades c/ animais reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	2/364*	0,55	[0,14 – 2,18]
Autumnalis	10/364	2,75	[1,48 – 5,01]
Bratislava	2/364	0,55	[0,14 – 2,18]
Butembo	1/364	0,27	[0,04 – 1,93]
Castellonis	3/364	0,82	[0,27 – 2,53]
Grippotyphosa	3/364	0,82	[0,27 – 2,53]
Hardjo (Hardjobovis)	26/364	7,14	[4,90 – 10,29]
Hardjo (Hardjoprajitno)	105/364	28,85	[24,41 – 33,72]
Hebdomadis	21/364	5,77	[3,79 – 8,69]
Icterohaemorrhagiae	4/364	1,10	[0,41 – 2,90]
Patoc	14/364	3,85	[2,29 – 6,40]
Pomona	2/364	0,55	[0,14 – 2,18]
Pyrogenes	10/364	2,75	[1,48 – 5,04]
Shermani	27/364	7,42	[5,13 – 10,61]
Tarassovi	5/364	1,37	[0,57 – 3,26]
Wolffi	18/364	4,95	[3,13 – 7,72]

\*= Número de propriedades com animais reatores para o respectivo sorovar / número de propriedades em que os bovinos foram examinados.

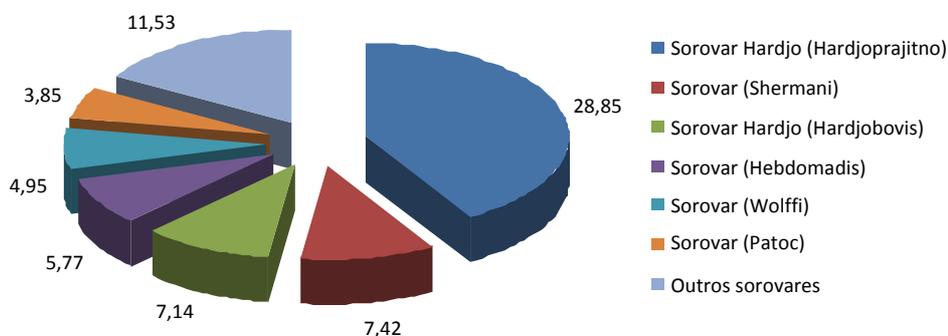


Gráfico 9 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais freqüentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 3. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Tabela 12 - Proporção de propriedades rurais da região 4, centro-oeste do Estado da Bahia, Brasil, onde os bovinos foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica aplicada a leptospirose segundo o sorovar reator e o intervalo de confiança. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Sorovar	Proporção de propriedades c/ animais reagentes	(%)	IC 95% (%)
Australis	3/331*	0,91	[0,29 – 2,78]
Autumnalis	4/331	1,21	[0,45 – 3,18]
Bratislava	3/331	0,91	[0,29 – 2,78]
Hardjo (Hardjobovis)	24/331	7,25	[4,90 – 10,60]
Hardjo (Hardjoprajitno)	128/331	38,67	[33,56 – 44,04]
Hebdomadis	12/331	3,63	[2,07 – 6,28]
Icterohaemorrhagiae	4/331	1,21	[0,45 – 3,18]
Patoc	9/331	2,72	[1,42 – 5,15]
Pomona	2/331	0,60	[0,15 – 2,39]
Pyrogenes	5/331	1,51	[0,63 – 3,58]
Shermani	35/331	10,57	[7,68 – 14,38]
Tarassovi	1/331	0,30	[0,04 – 2,12]
Wolffi	12/331	3,63	[2,07 – 6,28]

\*= Número de propriedades com animais reatores para o respectivo sorovar / número de propriedades em que os bovinos foram examinados.

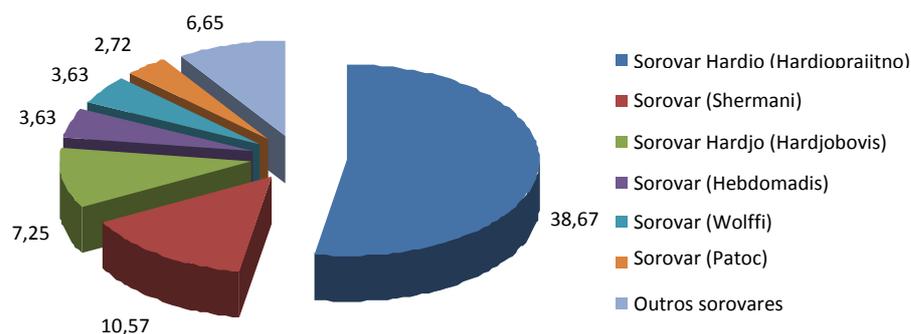


Gráfico 10 - Proporção de sorovares de *Leptospiras spp.* mais frequentes por propriedades do Estado da Bahia, Brasil, de acordo com a região 4. Colheitas efetuadas no período de março a setembro de 2004

Do total de variáveis levantadas no questionário dez foram consideradas na lista dos prováveis fatores de risco para a ocorrência da leptospirose em bovinos, por qualquer sorovar, em propriedades rurais do estado da Bahia e por região produtora (Tabelas 13 a 17). Dentre elas houve destaque para o número de fêmeas bovinas com idade superior a 24 meses, presença de animais silvestres e cervídeos, compra de reprodutores, utilização de pasto compartilhado, abate de reprodutores na própria fazenda, existência de áreas alagadas, exploração de corte e criação de eqüinos.

Com relação aos fatores de risco para a leptospirose em bovinos, pelo sorovar Hardjo (Hardjoprajitno), em propriedades rurais do estado da Bahia e considerando-se a região produtora, as variáveis: compra de reprodutores, utilização de pasto compartilhado, presença de suínos, predominância de raças especializadas, aluguel de pastos, presença de cães e quantidade média (em litros) de leite produzido foram identificados como fatores de risco (Tabelas 18 a 22).

Tabela 13- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de *Leptospira* spp. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Presença de mais de 28 fêmeas bovinas com idade > 24 meses	2,11	1,27 – 3,52	< 0,01
Presença de cervídeos	2,02	1,16 – 3,50	0,01
Compra de reprodutores	1,57	1,21 – 2,04	< 0,01
Abate de reprodutores na própria fazenda	1,58	1,05 – 2,39	0,03
Utilização de pasto compartilhado	1,63	1,16 – 2,30	< 0,01

Tabela 14- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de *Leptospira* spp., na região 1. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Presença de mais de 60 fêmeas bovinas com idade > 24 meses	3,76	1,38 – 10,25	0,01
Presença de animais silvestres	2,53	1,54 – 4,15	< 0,01
Compra de reprodutores	1,90	1,20 – 3,01	< 0,01
Utilização de pasto compartilhado	3,68	1,88 – 7,21	< 0,01

Tabela 15- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de *Leptospira* spp., na região 2. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fator de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Presença de eqüinos	2,28	1,17 – 4,46	0,02

Tabela 16- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de *Leptospira* spp., na região 3. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fator de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Existência de áreas alagadas	2,38	1,20 – 4,74	0,01

Tabela 17- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para um ou mais de uma coleção de 24 sorovares de *Leptospira* spp., na região 4. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Exploração de corte	2,27	1,19 – 4,33	0,01
Presença de animais silvestres	2,15	1,01 – 4,57	0,04
Utilização de pasto compartilhado	3,02	1,40 – 6,51	< 0,01
Presença de mais de 60 fêmeas bovinas com idade > 24 meses	2,17	1,02 – 4,64	0,04

Tabela 18- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno). Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Presença de suínos	1,28	1,01 – 1,62	0,04
Compra de reprodutores	1,48	1,19 – 1,85	< 0,01

Tabela 19 Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) na região 1. Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Compra de reprodutores	1,78	1,14 – 2,78	0,01
Utilização de pasto compartilhado	1,78	1,05 – 3,03	0,03

Tabela 20- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, Brasil, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajitno) na região 2. Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Predominância de raças especializadas	2,33	1,48 – 3,66	< 0,01
Aluguel de pasto	1,97	1,23 – 3,15	< 0,01

Tabela 21- Fatores de risco para a leptospirose bovina estimados por regressão logística múltipla, em propriedades do Estado da Bahia, que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajtno) na região 3 . Colheita efetuada no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Produção de mais de 13 litros de leite por dia	1,72	1,03 – 2,85	0,03

Tabela 22- Fatores de risco para a leptospirose em bovina em propriedades que apresentaram pelo menos um animal reagente para o sorovar Hardjo (Hardjoprajtno) na região 4 do Estado da Bahia, estimados por regressão logística múltipla - São Paulo - 2008

Fatores de risco	Odds Ratio	IC 95%	P
Presença de cães	1,75	1,06 – 2,89	0,03
Utilização de pasto compartilhado	1,99	1,16 – 3,41	0,01
Produção de mais de 13 litros de leite por dia	2,90	1,69 – 4,98	< 0,01

As prevalências estratificadas de leptospirose com a ocorrência e não ocorrência de abortamento nas fêmeas bovinas examinadas são apresentadas na tabela 23. Foram constatadas diferenças significativas entre animais nas regiões 1 ( $p = 0,03$ ), 3 ( $p = 0,02$ ) e 4 ( $p = 0,02$ ).

Tabela 23 – Associação entre abortamento nos últimos 12 meses que antecederam a colheita de sangue e a reatividade para *Leptospira spp.*, em bovinos de propriedades rurais do Estado da Bahia, Brasil. Colheitas de sangue efetuadas no período de março a setembro de 2004 - São Paulo - 2008

Região	Ocorrência de abortamentos					
	Sim			Não		
	Nº de animais positivos	Prevalência (%)	IC 95 %	Nº de animais positivos	Prevalência (%)	IC 95 %
1 <sup>a</sup>	12/57*	25,64	[14,87 – 40,48]	1080/3507**	42,69	[35,94 – 49,71]
2	12/36	34,31	[20,88 – 50,82]	1216/2585	48,73	[43,76 – 53,72]
3 <sup>b</sup>	27/42	74,56*	[50,52 – 89,38]	952/2097	47,11	[39,82 – 54,52]
4 <sup>c</sup>	10/32	15,57	[4,60 – 41,35]	941/2461	44,65*	[38,59 – 50,88]
<b>Estado</b>	<b>61/167</b>	<b>41,37</b>	<b>[28,82 – 55,15]</b>	<b>4189/10650</b>	<b>45,47</b>	<b>[42,02 – 48,95]</b>

\*=Número de fêmeas positivas sobre o número de fêmeas que abortaram.

\*\*= Número de fêmeas positivas sobre o número de fêmeas que não abortaram.

p = Com e sem abortamento nas regiões 1, 3 e 4. 1<sup>a</sup>, 3<sup>b</sup> e 4<sup>c</sup> = <sup>a</sup>p= 0,03; <sup>b</sup>p= 0,02; <sup>c</sup>p= 0,02.

Nas figuras 2 e 3 é apresentando o mapa temático do Estado da Bahia, com destaque para os sorovares de *Leptospira spp.*, predominantes nas propriedades amostradas e a distribuição das propriedades positivas segundo a região da localização da propriedade.

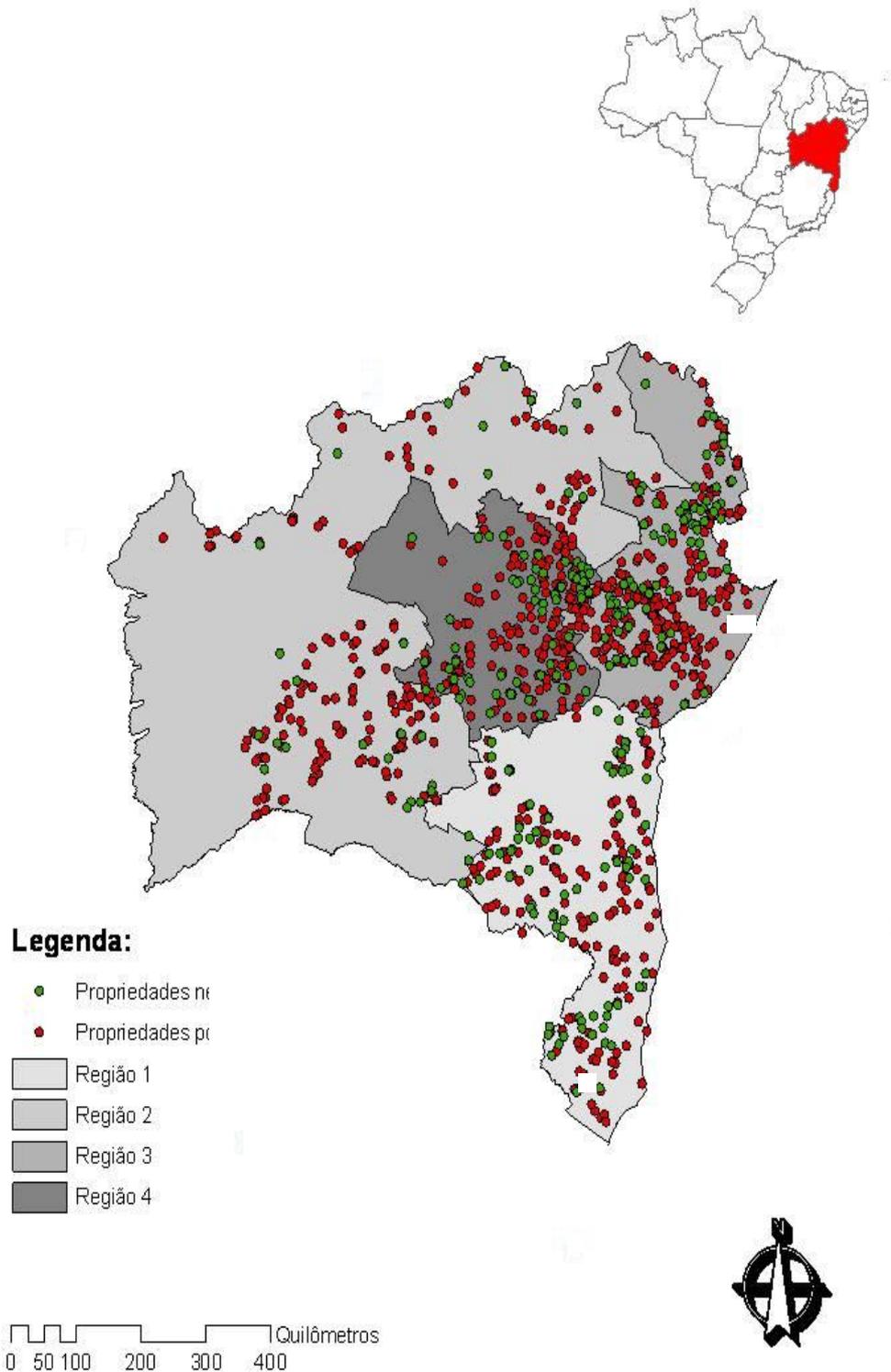


Figura 2 – Localização geográfica das propriedades rurais visitadas no Estado da Bahia segundo as condições de positiva e negativa para a leptospirose bovina

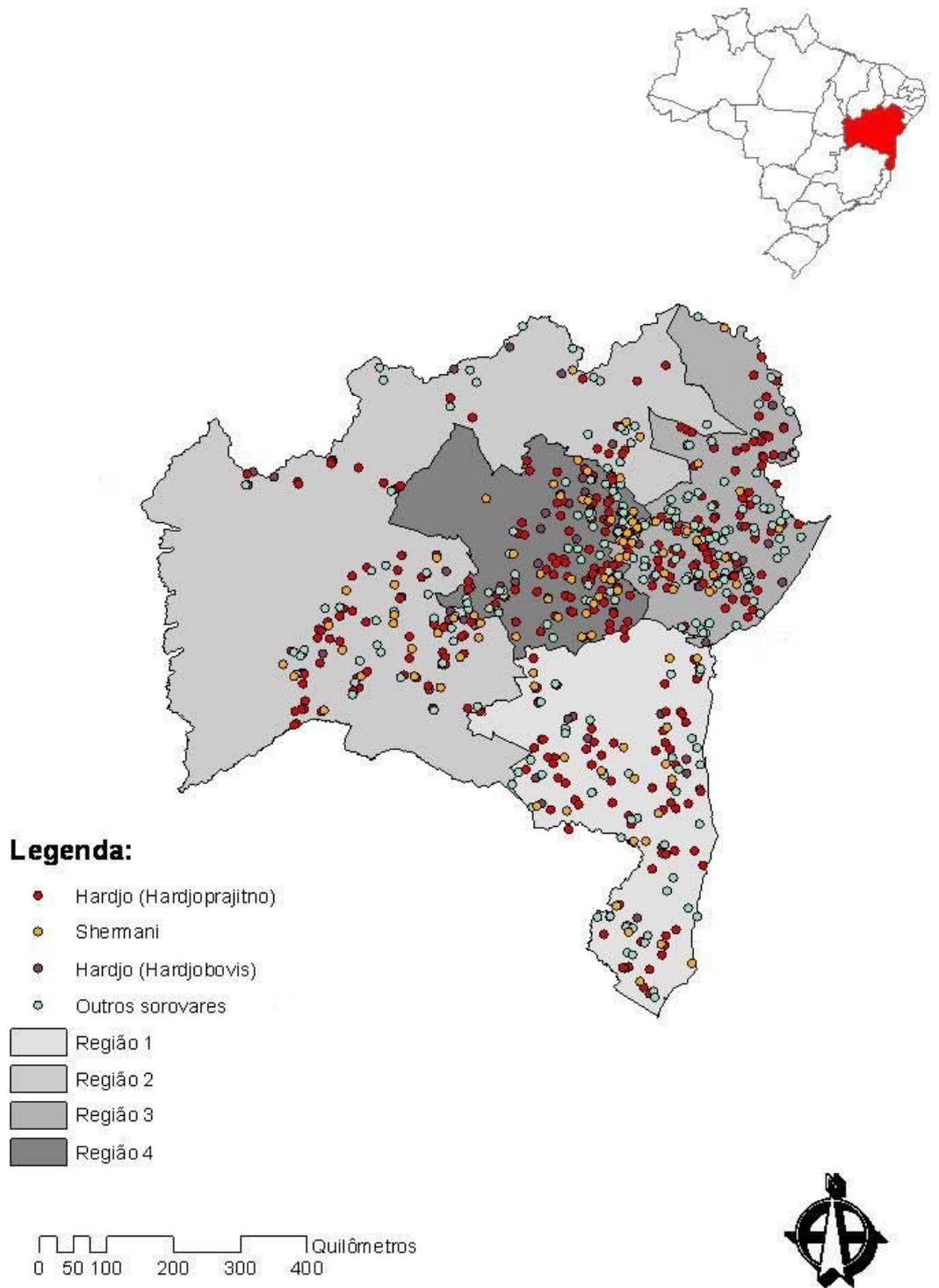


Figura 3 – Mapa temático do Estado da Bahia, apresenta a distribuição espacial dos sorovares de *Leptospira* spp., predominantes nas propriedades de acordo com a região produtora. Detalhe destacando a localização do Estado da Bahia no Brasil

**DISCUSSÃO**

---

## 7 DISCUSSÃO

A caracterização epidemiológica da amostra da população de bovinos do Estado da Bahia teve por base o questionário utilizado no PNCBT direcionado para a determinação da prevalência da brucelose e tuberculose bovina no Estado e, portanto, as questões elaboradas nem sempre contemplaram informações dirigidas para a epidemiologia da infecção por leptospirosas.

A aplicação da SAM para detecção dos anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 10.823 soros de fêmeas bovinas em idade reprodutiva, provenientes de 1.414 propriedades permitiu a visualização da abrangência e da disseminação da soro reatividade para este agente no Estado da Bahia e, principalmente, as sorovarietades predominantes. De fato, foram encontrados animais soro reatores para *Leptospira* spp., em todas as quatro regiões em que o Estado da Bahia foi subdividido, acometendo 45,4% (IC95%= 42 – 48,4) das fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses e em 77,9% (IC95%= 75,7 – 80,0), das propriedades examinadas. No Estado de São Paulo, Brasil, Castro (2006) obteve 49% de fêmeas bovinas soro reatoras para *Leptospira* spp., de animais com idade igual ou superior a 24 meses e 71,3% das propriedades examinadas com pelo menos um animal soro-reator para este microorganismo. Estudos anteriores realizados na Bahia por Doria e Santana (1976), encontraram 43% de soro reatores para leptospirose em 520 amostras de soros bovinos, originárias de municípios do Sul do Estado.

No presente estudo 23 de 24 sorovares incluídos na coleção de antígenos foram detectados nas fêmeas bovinas examinadas e 23 foram evidenciados nas quatro regiões. O menor número de sorovares por propriedade ocorreu nas regiões 3 e 4 (19 sorovares) e o maior (20 sorovares), nas regiões 1 e 2. Em São Paulo, Castro (2006) em São Paulo, detectou 19 de 22 sorovares testados nas fêmeas examinadas e 17 sorovares foram encontrados nas sete regiões em que o Estado foi subdividido.

No presente estudo o sorovar Hardjo (*Hardjoprajitno*) foi o mais frequente 15,0% (IC 95% = 12,6 – 17,7) no total de animais 10.823 examinados, seguido pelo Shermani 4,9% (IC 95% = 4,1 – 6,0) e na sequência por Wolffi 3,6% (IC 95% = 2,9 – 4,4), Hardjo (*Hardjobovis*) 3,3% (IC 95% = 2,5 – 4,3) e Hebdomadis 2,1% (1,6 – 2,7).

Similarmente, nas 1.414 propriedades amostradas, os sorovares: Hardjo (Hadjoprajitno) 34,5% (IC 95% = 31,9 – 37,1), Shermani 8,2 (IC95% = 6,8 – 9,8), Hardjo (Hardjobovis) 7,6% (IC95% = 6,2 - 9,2), Wolffi 5,3% (IC95% = 4,2 – 6,7) e Hebdomadis 3,9% (2,9 – 5,1), discordando dos exames anteriores realizados na Bahia por Caldas et al. (1991) que encontrou 62,8% de animais reatores para o sorovar Wolffi e em São Paulo por Castro (2006) com 46% de animais reagindo para o sorovar Hardjo. Flutuações na sororeatividade no decorrer do tempo podem ser atribuídas a fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam as interações da tríade epidemiológica: agente, hospedeiro e ambiente.

No presente estudo, a distribuição praticamente homogênea do sorovar Hardjo (Hadjoprajitno) parece não depender das condições regionais, do tipo de exploração do rebanho e das práticas de reprodução, entretanto a exploração de gado bovino de corte foi um fator de risco o que concordou com Prescott et al.(1988) que apontaram os rebanhos de exploração de corte como mais suscetíveis ao sorovar Hardjo que os leiteiros, o que poderia estar mais relacionado a diferenças no manejo.

Caldas et al. (1979) ; Caldas et al. (1993,1995/96) e Viegas et al. (2001), verificaram predomínio de reatividade sorológica para os sorovares Wolffi, Icterohaemorrhagiae e Autumnalis em bovinos no Estado da Bahia, contudo nas coleções de antígenos empregadas pelos mesmos não estava incluído o sorovar Hardjo. Em inquéritos sorológicos para a leptospirose bovina realizados em outros Estados do Brasil o predomínio de reações para o sorovar Hardjo (Hadjoprajitno) também foi constatado. De fato Madruga et al., (1980), no Mato Grosso do Sul, Morreira et al. (1979), Almeida et al., (1988) e Araujo et al. (2005) em Minas Gerais, Brod et al. (1994) no Rio Grande do Sul, Fávero et al. (2000), Oliveira et al. (2001) no Estado de Pernambuco, Homem et al. (2001) na Amazônia oriental, Lilienbaum e Souza (2003) no Rio de Janeiro referiram esta condição.

Além da presença do sorovar Hardjo (Hadjoprajitno), cuja transmissão usualmente ocorre entre bovinos; em alguns rebanhos ou regiões poderiam estar ocorrendo infecções acidentais por outros sorovares, cuja transmissão indireta está associada ao contato com o meio ambiente contaminado por leptospiras oriundas de espécies silvestres ou de outras espécies domésticas.

O fato de que as únicas descrições de sorovar Pyrogenes no Brasil terem sido relacionadas com animais silvestres (SANTA ROSA et al., 1975; SANTA ROSA et al., 1980), levanta a suspeita do envolvimento destas espécies da fauna como reservatórios deste sorovar para os bovinos. Cervídeos, capivaras e outras espécies silvestres podem atuar como reservatórios de *Leptospira* spp. para os rebanhos ao encontrar o habitat satisfatório (SOBESTIANSKY et al., 1999).

O sorovar, Shermani, que aparece em todas as regiões como o segundo mais freqüente reforça a importância da ampla composição da coleção de antígenos. Este sorovar foi isolado pela primeira vez de um roedor (*Proechimys semispinosus*) no Panamá em 1982, Oca<sup>1</sup> (1986 apud CASTRO, 2006). No Brasil, há relato de isolamento deste sorovar de roedores no Mato Grosso (LINS; SANTA ROSA, 1976). Em bovinos do Paraná, (GIRALDI, 2003) e em Rondônia (AGUIAR et al. 2006) foram evidenciadas reações na SAM para o sorovar Shermani como o terceiro mais freqüente, precedido pelos sorovares Hardjo e Wolffi discordando deste trabalho onde o sorovar Shermani se manteve em segundo lugar precedido pelos sorovares Wolffi e Hardjo (Hardjobovis).

Outros sorovares detectados na SAM no presente estudo foram Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippytyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Sentot, Hardjo (Hardjobovis), Patoc. Houve ausência de qualquer reação positiva para o sorovar Javanica.

O estudo dos sorovares de *Leptospira* spp. em diferentes espécies animais pode sugerir a inter-relação entre as mesmas. A presença de eqüinos foi identificada no Estado da Bahia, OR = 2,28. A utilização desta espécie como animal de serviço em rebanhos de corte explica esta condição. Devido ao estreito contato entre os eqüinos de lida e o gado de corte a infecção por leptospirosas pode estar diretamente relacionada ao tipo de criação e de atividade a que são submetidos.

Teoricamente qualquer sorovar pode infectar qualquer espécie animal, mas na prática há condições específicas que propiciam a entrada e a difusão e a persistência da infecção no rebanho. Usualmente a compra de reprodutores, abate de reprodutores na própria fazenda, aluguel de pasto, compartilhamento de pasto

---

<sup>1</sup> OCA, O. Z. M.; SANCHEZ-EJORADA, H. M.; GUERRERO, A. V. La rata em La epizootiologia de la leptospirosis em granjas porcinas. **Téc. Pecu. México**, v. 52, p. 29-44, 1985.

com outras espécies podem propiciar a infecção de susceptíveis, isto já foi constatado por (CASTRO, 2006) no Estado de São Paulo.

A leptospirose bovina pelo sorovar Hardjo ocorre em todo o mundo e é apontada em vários países como causa de infertilidade e falhas reprodutivas. No Brasil a sua presença é considerada infecção endêmica, no entanto o impacto nas taxas reprodutivas ainda necessita de maiores estudos.

A compra de reprodutores e o compartilhamento de pasto com OR= 1,78, foi um fator de risco relevante, o que sugere que as práticas preventivas não estão sendo devidamente cumpridas. De fato a compra de animais é importante fator de risco para a introdução da leptospirose nos rebanhos, o que já foi verificado por (CRAWFORS; HUBER; ADAMS, 1990), com a brucelose e por Ferreira neto (1987) com a tuberculose.

O abate de reprodutores na própria fazenda, apresentou um OR= 1,58, para a leptospirose. Como os animais eram abatidos sem inspeção veterinária, a ausência de medidas sanitárias adequadas, poderia propiciar a infecção dos magarefes que trabalham diretamente com os produtos de origem animal, caracterizando a leptospirose humana como zoonose ocupacional (NICODEMOS, 1997).

A aplicação do modelo final de regressão logística múltipla indicou que nas propriedades com mais de 28 fêmeas com idade > 24 meses OR= 2,11, o aluguel de pasto nas estações das chuvas do ano pode favorecer a ocorrência de leptospirose bovina.

A prática de alugar pastos em alguma época do ano (que é um indicador de contato indireto entre rebanhos), foi apontada como fator de risco OR= 1,97 (Tabela 20), na região 2. O agente, uma vez presente no ambiente, pode permanecer viável por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e sombreamento, o que aumenta de forma significativa a chance de contato e infecção dos susceptíveis (CRAWFORD; HUBER; ADAMS, 1990; ACHA; SZYFRES, 2001). Uma sugestão para tais propriedades seria o aluguel de pasto apenas para pastejo de animais procedentes de propriedades monitoradas para a leptospirose bovina com resultados negativos na SAM.

Vasconcellos et al. (1997) referiram uma maior ocorrência de leptospirose em rebanhos bovinos compostos por raças especializadas para produção de carne

concordando com o presente estudo onde a predominância de raças de corte foi considerada um fator de risco OR= 2,33, na região dois. Leva-se em consideração também que quanto mais se seleciona as raças diminui a resistência desses animais a fatores ambientais ficando mais susceptíveis ao meio (comunicação pessoal)<sup>2</sup>.

A presença de suínos representou um OR= 1,28 para a leptospirose em bovinos reagentes para o sorovar Shermani. Azevedo (2006) em Ibiúna, São Paulo, relatou a presença de anticorpos anti-*Leptospiras* spp. sorovar Shermani em 16,6% das matrizes suínas analisadas, inferior apenas à frequência para o sorovar Hardjo (54,2%).

A presença de cães foi um fator de risco com OR= 1,75, o que concordou com Silva et al. (2006) que analisaram 1000 soros e encontraram 22,14% de cães reagentes na prova de soroaglutinação microscópica realizada com uma coleção de 24 sorovares de *Leptospiras* spp. na cidade de Botucatu Estado de São Paulo. Cães que vivem em áreas urbanas periféricas ou rurais, cujas condições sanitárias e de infra-estrutura são precárias, junto a lixões, esgotos a céu aberto, depósitos de materiais descartados e restos alimentares constituem-se, particularmente, em populações de risco (GENOVEZ, 1996).

A existência de áreas alagadas foi um fator de risco com OR= 2,3%. A água tem papel primordial na difusão e manutenção das leptospiras na natureza e assume uma particular importância na transmissão da doença, que ocorre por meio do contato com a água contaminada de rios, lagoas e canais ou oriunda de chuvas fortes e inundações (CÔRTEZ, 1993).

A produção de mais de 13 litros de leite por dia foi um fator de risco com OR= 1,72 (Tabela 21), animais de alta produção de leite se tornam em um fator de risco para a leptospirose, pois requerem uma maior atenção em relação aos cuidados de sanidade e por serem submetidos usualmente ao manejo estabulado. Essa proximidade e aglomeração facilitam a transmissão da doença entre os animais.

A distribuição da leptospirose bovina foi verificada em quase todo o Estado da Bahia com exceção de uma longa faixa na parte oeste na região 2 que inclui a Serra Geral de Goiás, a sua principal atividade econômica é a agricultura como produção de: soja, milho, arroz, feijão e algodão, a região oeste da Bahia responde por 95%

---

<sup>2</sup> Informação fornecida por Dr. Silvio Arruda Vasconcellos em São Paulo, 2008

do algodão produzido em todo o estado, justificando assim um maior número de colheitas nas regiões 3 e 4 onde a pecuária é o forte dessas duas regiões.

**CONCLUSÕES**

---

## 8 CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo, foram obtidas as seguintes conclusões

1 Foram registrados bovinos soro-reatores para *Leptospira spp.* em todo o Estado da Bahia, com soroprevalência de 45,4% (IC 95% = 42,0 – 48,9) distribuída pelas quatro regiões em que o Estado foi subdividido.

2 A prevalência de animais soro-reatores para *Leptospira spp.* por propriedade rural do Estado da Bahia, Brasil, foi de 77,9% (IC 95% = 75,7 - 80,0).

3 Os sorovares de *Leptospiras spp.*, predominantes por animal em propriedades rurais do Estado da Bahia, Brasil, foram em ordem decrescente Hardjo(Hardjoprajitno), Shermani, Wolffi, Hardjo(Hardjobovis) e Hebdomadis.

4 Os sorovares de *Leptospiras spp.*, predominantes por propriedade rural do Estado da Bahia, Brasil, foram em ordem decrescente Hardjo(Hardjoprajitno), Shermani, Hardjo(Hardjobovis), Wolffi e Hebdomadis.

5 A presença de bovinos reatores para o sorovar Hardjo foi praticamente homogênea em todas as regiões do estado da Bahia independente do tipo de exploração, manejo e das práticas de reprodução adotadas nos rebanhos.

6 No Estado da Bahia, Brasil, a presença de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, compra de reprodutores, presença de animais silvestres, utilização de pasto compartilhado, criações de eqüinos, cães e suínos, presença de cervídeos, abaterem reprodutores nas fazendas, existência de áreas alagadiças, exploração de corte, aluguel de pasto, produção de leite e predominância de raças especializadas foram fatores de risco para a leptospirose nas regiões em que o Estado foi subdividido.

7 No Estado da Bahia, Brasil, foi constatada a correlação entre a ocorrência de abortamentos relacionados à infecção por *Leptospira* spp., na região 3 (Nordeste).

8 Não houve formação de agrupamentos espaciais de focos de leptospirose nos bovinos das propriedades rurais do Estado da Bahia, Brasil, examinadas.

## REFERÊNCIAS

---

## REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Publicação científica, 503). Panamericana de la Salud, 2001. v.1, 398 p.

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

AHMED, N.; DEVI, S. M.; VALVERDE, M.; VIJAYACHARI, P.; MACHANGU, R. S.; ELLIS, W. A.; HARTSKEERL, R. A. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospiras* species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, n. 28, 2006. Do: 10.1186/1476-0711-5-28. Disponível em: <http://www.ann-clinmicrob.com/cotents/5/1/28>. Acesso em: 02 jan. 2007.

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

ARAUJO, V. E. M.; MOREIRA, E. C.; NAVEDA, L. A. B.; SILVA, J. A.; CONTRERAS, R. L. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n.4, p. 430-435, 2005.

AZEVEDO, S. S.; SOTO, R. M.; MORAIS, Z. M.; PINHEIRO, S. R.; VUADEN, E. R.; BATISTA, C. S. A.; SOUZA, G. O.; DELBEM, A. C. B.; GONÇALES, A. P.; VASCONCELLOS, S. A. Frequency of anti-leptospire agglutinins in sows from

swine herd in the Ibiúna municipality, State of São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 73, n. 1, p. 97-100, 2006.

BALDWIN, C. J.; ATKINS, C. E. Leptospirosis in the dog. **Compêndio Continuado de Educação e Prática Veterinária**, v. 9, n. 5, p. 499-508, 1987.

BASKERVILE, A. Histopathological aspects of diagnosis of leptospirosis. In: ELLIS, W. A.; LITTLE, T. W. A.(eds). **The present state of leptospirosis diagnosis and control**. Neorthern Ireland: [sn], 1986, p.33 - 43.

BASTOS, M. M. **Leptospirese**. Disponível em:<<http://WWW.cca.ufes.br/leptospirese.htm>>. acesso em: 8 ago. de 2006.

BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1999. 380 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de leptospirese**. Brasília:, 98 p. 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. **Programa nacional de controle e erradicação da brucelose e tuberculose animal (PNCEBT)**. Inquérito soropidemiológico da brucelose – Manual de procedimentos. Brasília: [sn], 2001. 20p.

BRASIL. Ministério de Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de vigilância epidemiológica. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 816p.

BRASIL. Secretaria do Estado da Saúde. **Leptospirese: normas e instruções**. São Paulo. 1983. 37p

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

CALDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, E.; MIRANDA, G. Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade do Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 39, n.1, p. 85-94, 1979.

CALDAS, E. M. História natural da doença. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 1., 1986, Salvador. **Anais...** Salvador: Secretaria da Saúde, 1986. p. 49-50.

CALDAS, E. M. Sessão sobre leptospirose. **Hiléia Médica**, v.8, n.1, p.42-43. 1987.

CALDAS, E. M.; VIEGAS, E. A.; VIEGAS, S. A. A.; REIS, R. S.; SANTOS, M. S. Aglutininas antileptospira em hemo-soro de animais domésticos no estado da Bahia, 1990-1993. *Arquivo da Escola de Medicina Veterinária-Universidade Federal da Bahia*, v. 16, n. 1, p. . 1993.

CALDAS, E. M. Comportamento de estirpes apatogênicas no diagnóstico sorológico de leptospirose em animais. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária**. v. 14, n. 1, p. 3-24, 1991.

CALDAS, E. M.; VIEGAS. E. A.; VIEGAS, S. A. R. A.; REIS, R. S. Aglutininas anti-leptospira em hemossoro de animais domésticos no estado da Bahia. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, v.18, n. 1, p. 268-280, 1995/1996.

CASTRO, V. **Estudo da prevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil**. 2006. 104 f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

COLE J. R.; SULZER, C. R.; PURSELL, A. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. **Applied Microbiology**, v. 25, n. 6, p. 976-980, 1973.

COLEMAN, T. J. The public health laboratory service (PHLS) and its role in the control of zoonotic disease. **Acta Tropica**, v. 76, n. 1, p. 71-75, 2000.

CÔRTEZ, J. A. Aspectos epidemiológicos e ecológicos da leptospirose. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, Rio de Janeiro: [sn], 1983. p.53-57.

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

CORREA, W. M.; CORREA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. São Paulo: Varela, 823p. 1991.

CRAWFORD, R. P.; HUBER, J. D.; ADAMS, B. S. Epidemiology and surveillance. In: NIELSEN, K.; DUNCAN, J. R. **Animal brucellosis**. Boca Raton: CRC Press, 1990, p. 131-151.

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

DONALD, A. W.; GARDNER, I. A.; WIGGINS, A. D. Cut-off points for aggregate herd testing in the presence of disease clustering and correlation of test errors. **Preventive Veterinary Medicine**, v.19, n. 3-4, p. 167-187, 1994.

DORIA, J. B.; SANTANA, E. C. Leptospirose. Aglutininas anti-leptospira em soros de bovinos no Estado da Bahia. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária**. v. 1, n. 1, p. 74-79, 1976.

ELLIS, W. A. Bovine leptospirosis: experimental serovar hardjo infection. **Veterinary Microbiology**, v. 11, p. 293-299, 1986.

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

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.10, p.463-478, 1994.

ELLIS, W. A.; O'BRIEN, J. J.;CASSELLS, J. A.;NEILL, S. D.;HANNA, J. Excretion of *Leptospira Interrogans* serovar hardjo following calving or abortion. **Research Veterinary Science**, v. 39, p. 296-298, 1985.

ELLIS, W. A.; MICHINA, S. W. Bovine leptospirosis: experimental infection of pregnant heifers with a strain belonging to the Hebdomadis serogrup. **Research Veterinary Science.**, v. 22, p. 229-236, 1977.

ELLIS, W. A.; O' BRIEN, J. J.; NEILL, S. D.; FERGUSON, H. W.; HANNA, J. Bovine leptospirosis: Microbiological and serological findings in aborted fetuses. **Veterinary Record.**, v. 110, p. 147-150, 1982.

ESRI. **Software ArcView Gis**. Version 9.1. Redlands: ESRI, 2005. 1 CD-Rom.

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

FAINE, S. **Leptospira and Leptopirosis**. Boca Raton: CRC, 1994. 353 p.

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

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

FERREIRA, A. J. Leptospirose. In: \_\_\_\_\_. **Doenças infecto- contagiosas dos animais domésticos**. 3. ed. Lisboa, Pt: Fundação Calauste gulbenkian, 1976. 829p.

FERREIRA NETO, J. S. **A lesão tuberculóide macroscópica como critério diagnóstico da infecção micobacteriana em suínos abatidos em matadouro**. 2007. 44f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1987.

FREITAS, D. C.; LACERDA, J. R; VEIGA, J. S.; LACERDA, J. P. G. Identificação da leptospirose bovina no Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 6, n. 1, p. 81-83, 1957.

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

KIKTENKO, V. S. & GORSHANOVA, E. N. Leptospira carrier state in clinically normal agricultura animals. **Folia Fac. Med. Univ. Comenianae Bratisl.** V. 12, p. 195-202, 1974. Suplemento.

GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 81-85, 1965.

GENOVEZ, M. E. Leptospirose em cães. **Pet. Vet.**, v. 1, n. 1, p. 6-9, 1996.

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

GROOMS, D. L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. **Theriogenology**, n. 66, p. 624-628, 2006.

GUIMARÃES, M. C.; CÔRTEZ, J.; VASCONCELLOS, S. A.; ITO, F. H. Epidemiologia e controle da leptospirose bovina. Importância do portador renal e do seu controle terapêutico. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 6/7, n. 1/4, p. 1982/1983.

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

HEINEMANN, M. B.; GARCIA, J. F.; NUNES, C. M.; MORAIS, Z. M.; GREGORI, F.; CORTEZ, A.; VASCONCELLOS, S. A.; VISINTIN, J. A.; RICHTZENHAIN, L. J. Detection of leptospires in bovine sêmen by polymerase chain reaction. **Australian Veterinary Journal**. v. 77, n. 1, p. 3-5, 1995.

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

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

LEPTOSPIRA MOLECULAR BIOLOGY HOME PAGE. **Leptospira strain list**, 2007. Disponível em: <<http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Leptospira.html>> Acesso em: 01 abr. de 2008.

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

LEVETT, P. N. Leptospirosis: re-emerging or re-discovered disease? **Journal Medicine. Microbiology.**, v. 48, p. 417-418, 1999.

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

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

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

MARTIN, S. W.; SHOUKRI, M.; THORBURN, M. A. Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 14, n. 1-2, p. 33-43, 1992.

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

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

MYERS, D. M. **Manual de métodos, para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis**. Martinez: OPAS, Centro Panamericano de Zoonosis, 1985.

NOVA, A. V. Boletim Departamento Controle de Zoonoses e Vigilância Sanitária, Suplemento especial. v. 8, n. 2, 1985.

NICODEMOS, A. M. **Agglutininas anti-leptospira em soros humanos do Estado do Piauí, com particular referencia aos aspectos ocupacionais**. 1997. 125 p. Tese (Doutorado) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994 a 1996.

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

NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VANDERHOOF, C. M.; GRAAT, E. A. M. **Application of quantitative methods in veterinary epidemiology**. Wageningen: Wageningen Press, 1997. 445 p.

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

OLIVEIRA, R. C. **Importância da estirpe local na prova de soroaglutinação microscópica para leptospirose canina**. 2003. 30 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2003.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. **Microbes and Infection**, v. 2, p.1265-1276, 2000.

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

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B. **Clinical Veterinary Microbiology**. 1. ed. Spain: Grafos, 1994. p.292-303.

RAMADAS, P. B. D.W.; JARVIS, R. J.; CORNER, D. Genetic characterization of pathogenic *Leptospira* species by DNA hybridization. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 42, p. 215-219, 1992.

RENTKO, V. T.; CLARK, N.; ROSS, L. A. Canine leptospirosis. A retrospective study of 17 cases. **Journal Veterinary International Medical**, v. 6, p. 235-244, 1992.

SALLES, R. S.; LILENBAUM, W. Leptospirose bovina no Brasil. **CFMV**, Brasília, v. 21, p. 42-46, 2006.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. **Revista Microbiologia**, v.1, n. 2, p. 97-109, 1970.

SANTA ROSA, C. A.; CASTRO, A. F. P.; TROISE, C. Isolamento de *Leptospira Icterohaemorrhagiae* de bovino em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 28, p. 113-118, 1961.

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

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

SILVA, W. B.; SIMÕES, L. B.; LOPES, A. L. S.; PADOVANI, C. R.; LANGONI, H.; MODOLO, J. R. Avaliação de fatores de risco de cães sororreagentes à leptospiroses spp. E sua distribuição espacial, em áreas territorial urbana. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 6, p. 783-792, 2006.

SMYTH, C. R.; KETTERER, P. J.; CORNEY, B. G. A review of laboratory techniques and their use in the diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in cattle. **Australian Veterinary Journal**, v.71, n. 9, 1994.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.; MORES, N.; CARVALHO, L. F.; OLIVEIRA, S.; MORENO, A. M.; ROEHE, P. M. **Clínica e patologia suína**. 2. ed. Goiânia: [sn], 1999. p. 464.

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

SZYFRES, B. Leptospirosis: aspectos epidemiológicos ecológicos. In: Seminario Internacional de zoonoses, 1973, Cuba. [Anais...], Cuba: [Sn], 1973, p. 83 - 91.

THADEI, C. L. **Leptospiroses doença de Weil e doença de Stuttgart**. Disponível em: <<http://www.spfizersaudeanimal.com.br>>. Acesso em: 8 ago. 2006.

THIERMANN, A. B. Canine leptospirosis in Detroit. **American Journal of Veterinary Research**., v. 41, n. 10, p.1659-1661, 1980.

THIERMANN, A. B. Isolation of leptospire in diagnosis of leptospirosis. **Modern Veterinary Practice**, v. 5, n. 10, p. 758-759, 1984.

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

UNIVERSITY OF BELGRADE. Royal Tropical Institute, Amsterdam. **Leptospira**. 1997. Disponível em: <http://www.vet.bg.ac.yu/lepto>. Acesso em: 18 set. 2006.

VASCONCELLOS, S. Laboratory diagnosis of leptospirosis in animals. In: **SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE LEPOSPIRA Y LEPTOSPIROSIS EN LAS AMÉRICAS**. México, Dc.: Divisões educacion continua de la Universidade Nacional Autônoma de México. 2004, México. [Anais...] v. 1, p. 70-76, 2004.

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

VASCONCELLOS, S. A. O papel dos reservatórios na manutenção da leptospirose na natureza. **Comunicado Científico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.**, v. 11, n. 1, p.17-24,1987.

VIEGAS, S. A. R. A.; CALDAS, E. M.; OLIVEIRA, E. M. D. Aglutininas anti-leptospira em hemossoro de animais domésticos de diferentes espécies, no Estado da Bahia, 1997/ 1999. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 1, p. 1-6, 2001.

WILLIAMS, H. A.; OLIVEIRA, S. J.; RIBEIRO, L. A. O. Leptospirose como causa de aborto em um rebanho bovino no Rio Grande do sul. **BOLETIM IPVDF**, n. 3, p. 73-81, 1975.

WILLIAN, V.; BERNARD, D.V. M. Leptospirosis. **Veterinary Clinics Of North America: Equine Practice**, v. 9, n. 2, p. 435-443, 1995.

YAN, K. T.; ELLIS, W. A.; MACKIE, D. P.; TAYLOR, M. J.; McDOWELL, S. W. J.; MONTGOMERY, J. M. Deselopment of na Elisa to detect antibody to a protective lipopolysaccharide fraction of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo in cattle. **Veterinary Microbiology**. v. 69, p.173-187, 1999.

YANAGAWA, R.; KAWASHIMA, H.; HIROTA, E. Studies on the bovine leptospirosis in Japan. I. Epizootiological investigations. **Expl. Rep. Govt. Exp. Stn. Anim. Hyg.**, v. 29, p. 261-275, 1955.

YANAGUITA, R. M. **Contribuição ao Estudo das leptospiroses bovina. Isolamento de dois novos sorotipos no sorogrupo hebdomadis: sorotipos guaicururus e goiano**, 1972. 71f. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 1972.

YASUDA, P. H.; STEIGERWALT, A. G.; SULZER, K. R. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 37, p. 407-415, 1987.



## ANEXO B

