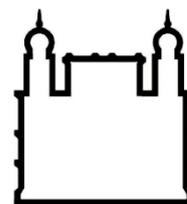




UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

Curso de Pós-Graduação em Patologia

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**AGLUTININAS anti -*Leptospira spp.* EM BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICO
NO EXTREMO SUL DO ESTADO DA BAHIA E FATORES DE RISCO
ASSOCIADOS**

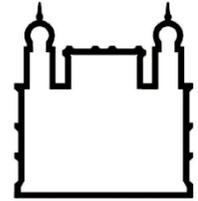
GISELE ROCHA DOS SANTOS

Salvador – Bahia

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



Curso de Pós-Graduação em Patologia

**AGLUTININAS anti -*Leptospira* spp. EM BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICO
NO EXTREMO SUL DO ESTADO DA BAHIA E FATORES DE RISCO
ASSOCIADOS**

GISELE ROCHA DOS SANTOS

Orientador: Prof^o Daniel Abensur Athanazio

Co-orientadora: Prof^a Déborah Bittencourt Mothe Fraga

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Patologia Humana e Experimental, para obtenção do grau de Mestre.

Salvador – Bahia

2016

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Santos, Gisele Rocha dos
S237p Presença de aglutininas anti *-Leptospiraspp* em bovinos abatidos em frigorífico no extremo sul do estado da Bahia e fatores de risco associados/ Gisele Rocha dos Santos. - 2016.
65f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Abensur Athanazio, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular.

Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia.
Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2016.

1. Sorologia. 2. Rim. 3. Fatores de Risco. 4. Bahia. I. Título.

CDU 616.986.7:599.735.51

“AGLUTININAS ANTI-LEPTOSPIRA SPP EM BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORIFICO NO EXTREMO SUL DO ESTADO DA BAHIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS”

GISELE ROCHA DOS SANTOS

FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 15 de junho de 2016

COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Paula Carvalho Von Buettner Ristow
Professora Adjunta
UFBA



Dr. Frederico Costa
Professor Permanente
UFBA



Dr. Daniel Abensur Athanazio
Professor Adjunto
UFBA

Dedico esse trabalho à minha família.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força, saúde e sabedoria para enfrentar todos os momentos.

Aos meus pais, pelo amor e apoio em tudo.

Ao meu filho, pela alegria de todos os dias e pela esperança

Ao meu esposo, pelo incentivo, companheirismo e puxões de orelha também.

Ao meu orientador, Prof^o Daniel Abensur Athanazio, pela oportunidade, paciência e por não desistir.

À Prof^a Déborah Bittencourt Mothe Fraga, pela ajuda formidável.

À Biblioteca e a bibliotecária Ana Maria Fiscina pela atenção e auxílio.

Ao frigorífico FRISA e à Márcia Antunes Ramos, pela oportunidade, atenção e carinho nas coletas e visitas ao frigorífico.

À Prof^a Luanna Pires, pela ajuda em Teixeira de Freitas.

Ao meu chefe, Charles Santos Reis, e aos chefes anteriores pela compreensão e disposição em ajudar durante todo esse tempo.

Aos colegas de trabalho, Eslândia Souza e Fábio Oliveira pela ajuda e paciência no trabalho.

Aos meus amigos, que me deram apoio e estímulo durante toda essa jornada, em especial à Nádja Gonçalves.

Ao IF Baiano, *campus* Teixeira de Freitas, pela base financeira e flexibilidade.

Aos colegas de pós-graduação e LPBM pelo apoio e ajuda. Em especial a Alcinéia Damião.

Ao Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz (Fiocruz) e ao PGPAT, pela estrutura, conhecimentos adquiridos e experiências vividas.

E a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a conclusão desse trabalho.

“ Andar com fé eu vou, que a fé não costuma faiá”

Gilberto Gil

SANTOS, Gisele Rocha dos. Presença de aglutininas anti *-Leptospira spp* em bovinos abatidos em frigorífico no extremo sul do estado da Bahia e fatores de risco associados. 65fl.il. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2016.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A bovinocultura no Brasil é uma das principais atividades que compõem o agronegócio do país, sendo o segundo maior rebanho do mundo. O estado da Bahia tem papel importante neste setor, sendo o 10º estado em número de animais abatidos no Brasil em 2015 (4,4% dos animais abatidos no Brasil). Mesmo com índices animadores, a produtividade da pecuária baiana ainda é baixa, tendo as doenças infecciosas e parasitárias como principais entraves à sua melhora. Dentre essas doenças a leptospirose apresenta uma prevalência de 45,42% nos bovinos no estado da Bahia em prévio inquérito. **OBJETIVOS:** Assim, o presente projeto teve como objetivo: *i)* analisar a sororeatividade contra *Leptospira* de bovinos abatidos em estabelecimento com serviço de inspeção federal, no estado da Bahia, utilizando o teste microaglutinação (MAT), *ii)* avaliar qual o sorovar predominante na população animal pesquisada, *iii)* avaliar os rins dos animais abatidos em estabelecimento com serviço de inspeção federal, no estado da Bahia quanto a presença de lesões macroscópicas e a sua associação com as reações positivas ao MAT, *vi)* avaliar possíveis fatores de risco que poderão propiciar o desencadeamento da infecção por *Leptospira*. Foram analisados soros de 400 bovinos abatidos. **MATERIAL E MÉTODOS:** Os animais abatidos eram pertencentes a 18 fazendas localizadas em dez municípios do extremo sul da Bahia. Foram preenchidos questionários para identificação de fatores de riscos associados à infecção por *Leptospira*. Os 800 rins pertencentes aos 400 animais também foram analisados quanto à ocorrência de lesões macroscópicas e condenação no abatedouro. **RESULTADOS:** As amostras de soros foram testadas por MAT, utilizando 22 sorovares de *Leptospira*, pertencentes à bateria representativa e 72 (18%) amostras reagiram positivamente ao teste. O sorogrupo Sejroe foi responsável por 71% das reações positivas, seguido por Shermani com 12%, Semarang com 7%, Autumnalis com 7% e Panama com 3%. Em 16 das 18 fazendas com animais avaliados, houve a detecção de pelo menos um animal positivo. Cinquenta e dois rins foram condenados devido à identificação de lesões macroscópicas, porém apenas 12 deles pertenciam a animais reagentes ao MAT, não havendo associação. Os fatores de risco associados à positividade dos animais foram sexo feminino, criação extensiva e presença de aborto. **CONCLUSÃO:** Os resultados sugerem que os animais têm contato com a *Leptospira*, que, provavelmente, se encontra disseminada na região estudada.

Palavras-chave: Sorologia, Rim, Condenação, Fatores de risco, Bahia.

SANTOS, Gisele Rocha dos Agglutinins anti -Leptospira spp in cattle slaughtered in a slaughterhouse in the extreme south of Bahia and associated risk factors. 65 fl. il. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Pesquisa Gonçalo Moniz, Salvador, 2016

ABSTRACT

INTRODUCTION: cattle raising in Brazil is one of the activities that comprise the agribusiness of the country, the second largest herd in the world. The state of Bahia has an important role in this sector, being the 10th state in the number of animals slaughtered in Brazil in 2015 (4.4% of the animals slaughtered in Brazil). Despite encouraging rates, productivity of the Bahian livestock is still low, and infectious and parasitic diseases as major barriers to improvement. Among these diseases leptospirosis has a prevalence of 45.42% in cattle in the state of Bahia in a previous survey. **OBJECTIVES:** The present project aimed to: i) analyze the seroreactivity against *Leptospira* from bovine animals slaughtered in establishments with federal inspection service in the state of Bahia, using the microscopic agglutination test (MAT), ii) assess what the predominant serovar in animal population studied, iii) evaluate the kidneys of animals slaughtered in an establishment with federal inspection service in the state of Bahia and the presence of gross lesions and their association with the positive reactions to the MAT, vi) evaluate possible risk factors that may promote the onset of *Leptospira* infection. 400 slaughtered cattle sera were analyzed. **MATERIALS AND METHODS:** The animals were slaughtered belonging to 18 farms located in ten municipalities in the south of Bahia. Questionnaires were completed to identify risk factors associated with infection with *Leptospira*. 800 kidneys belonging to 400 animals were also analyzed for the occurrence of macroscopic lesions and condemnation in abatedouro. **RESULTADOS:** Serum samples were tested by MAT using 22 *Leptospira*, belonging to the representative battery and 72 (18%) samples reacted positively to the test. The serogroup sejroe accounted for 71% of positive reactions, followed by Shermani with 12% Semarangina with 7%, with 7% autumnalis and Panama with 3%. In 16 out of 18 farms with animals evaluated, there detecting at least one positive animal. Fifty-two kidneys were convicted due to identification of macroscopic lesions, but only 12 of them belonged to reactive animals to MAT, there was no association. Risk factors associated with the positivity of the animals were female, extensive farming and the presence of abortion. **CONCLUSION:** The results suggest that animals have contact with *Leptospira*, which probably is widespread in the region studied.

Palavras-chave: Serology, Kidney, Sentence, Risk Factors, Bahia.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Animais reservatórios domésticos e selvagens e seus respectivos sorovares de <i>Leptospira spp</i>	18
Tabela 2	Lista dos antígenos utilizados no MAT	33
Tabela 3	Distribuição do número de animais testados de acordo com o município e a fazenda a que pertence	36
Tabela 4	Número e frequência (%) de amostras reagentes segundo os sorovares mais prováveis, analisada por meio de soroaglutinação	38
Tabela 5	Relação entre soros reagentes e não-reagentes ao MAT e tipo de lesão macroscópica identificada nos rins (52 rins foram condenados)	38
Tabela 6	Associação entre variáveis epidemiológicas e ocorrência de animais reagentes ao MAT	40
Tabela 7	Associação entre variáveis epidemiológicas e ocorrência de animais reagentes ao MAT na análise multivariada	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Leptospira</i> observada em microscópio eletrônico de varredura. Foto cedida por Cláudio Pereira Figueira (FIOCRUZ – CpqGM, 2014)	14
Figura 2	Exemplo de reação de teste de aglutinação utilizando a cepa M20 (sorovar Copenhageni) com soro de coelho. Negative Control = soro negativo e 1:160 = reação positiva em diluição 1:160. Fonte: WHO, 2003	25
Figura 3	Rim descartado por apresentar áreas claras consideradas isquemia	39
Figura 4	Rim descartado por apresentar bolsas de coloração mais clara, contendo urina considerados cistos	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	A LEPTOSPIROSE E A <i>LEPTOSPIRA</i>	12
1.2	EPIDEMIOLOGIA	15
1.3	TRANSMISSÃO	18
1.4	PATOGÊNESE	19
1.5	SINAIS CLÍNICOS	22
1.5.1	A LEPTOSPIROSE EM HUMANOS	22
1.5.2	A LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS	22
1.5.3	A LEPTOSPIROSE EM BOVINOS	23
1.6	DIAGNÓSTICO	24
1.7	CONTROLE	26
2.	JUSTIFICATIVA	28
3.	OBJETIVOS	30
3.1	OBJETIVO GERAL	30
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4.	METODOLOGIA	31
4.1	LOCAL DE ESTUDO	31
4.2	ANIMAIS	31
4.3	COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	32
4.4	TESTE DE AGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (MAT)	32
4.5	INSPEÇÃO DOS RINS	34
4.6	LEVANTAMENTO DE DADOS SOBRE FATORES DE RISCO	34
4.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
5.	RESULTADOS	36
5.1	TESTE DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA	37
5.2	ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS RINS	38
5.3	AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE VARIÁVEIS CONSIDERADAS COMO POSSÍVEIS FATORES DE RISCO	39
6.	DISCUSSÃO	43
7.	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS	52
	ANEXOS	65
	Anexo 1 – Questionário Epidemiológico	65

1 INTRODUÇÃO

A produção de bovinos é uma atividade econômica importante para o Brasil, respondendo pelo segundo maior rebanho efetivo do mundo, com 212,3 milhões de cabeças. A agropecuária brasileira foi responsável por 23% do PIB (Produto Interno Bruto) brasileiro em 2015, com a pecuária tendo um aumento de 5% em seu faturamento. No 4º trimestre de 2015 foram abatidos cerca de 7,69 milhões de cabeças de gado no Brasil, com a Bahia ocupando o 10º lugar entre os estados da confederação que mais abateu bovinos no final de 2015 (IBGE, 2015).

A pecuária é exercida pelas diversas faixas de produtores, desde o agricultor familiar até o grande produtor/exportador. Na pecuária, seja ela de leite ou de corte, de alta ou de baixa produção, é imprescindível que se tenha um bom manejo sanitário (LILENBAUM e SOUZA, 2003). Assim, o acompanhamento, prevenção e controle de doenças podem prevenir grandes prejuízos econômicos, ocasionados pela perda de animais ou diminuição/ausência de produção (HESTERBERG et al., 2009; AYRAL et al., 2014). As doenças que acometem o sistema reprodutivo desses animais trazem prejuízo econômico não só ao produtor como a toda a população humana, que está ligada direta ou indiretamente a essa modalidade produtiva (ELLIS, 1994).

Além dos prejuízos econômicos, as doenças acometendo bovinos podem provocar prejuízos à saúde da população. Doenças como a leptospirose são zoonoses, colocando em risco a saúde do trabalhador e das pessoas que lidam com esses animais, estejam eles vivos ou abatidos (LEVETT, 2001; GONÇALVES et al., 2006).

1.1 A LEPTOSPIROSE E *LEPTOSPIRA*

A leptospirose é uma zoonose que ocorre em todo o mundo, especialmente em países de clima tropical e subtropical. É uma doença que acomete várias espécies de animais domésticos, selvagens e o homem, cursando de forma aguda ou crônica. A leptospirose influencia diretamente na saúde pública e no agronegócio (FAINE et al., 1999; TALPADA et al., 2003).

A bactéria causadora da leptospirose pertence à Ordem *Spirochaetales*, Família *Leptospiraceae*, Gênero *Leptospira* (FAINE et al., 1999, LEVETT, 2001). Na

década de 60, as leptospiros foram divididas em dois grupos: *L. interrogans* que reunia todas as cepas patogênicas e *L. biflexa*, que reunia todas as cepas ambientais e não patogênicas (CERQUEIRA e PICARDEAU, 2009; EVANGELISTA e COBURN, 2010).

Após análises de hibridização de DNA, 13 espécies de *Leptospira* foram classificadas como patogênicas (*L. alexanderi*, *L. alstoni*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffi*) e 6 espécies consideradas como saprófitas (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielli* e *L. wolbachii*) (Levett, 2001; Adler and de la Peña Moctezuma 2010). Outro tipo de classificação realizada é baseada na análise do gene 16S do RNA ribossômico das leptospiros. Neste tipo de classificação as bactérias são divididas em três grupos: patogênicas (*L. alexanderi*, *L. alstoni*, *L. borgpetersenii*, *L. Interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai* e *L. weilii*), intermediária (*L. inadai*, *L. fainei*, *L. licerasiae*, e *L. Wolffi*) e saprófitas ou não-patogênicas (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. kmetyi*, *L. vanthielli*, *L. wolbachii*, *L. terpstrae* e *L. yanagawae*) (HOOKEY, 1993; CERQUEIRA e PICARDEAU, 2009; XIAO et al., 2015).

Sorologicamente, as leptospiros são classificadas em 24 sorogrupos e cerca de 250 sorovares (LEVETT, 2001, ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA 2010). A reatividade frente a antisoros ocorre em função da expressão diferenciada dos lipopolissacarídeos (LPS) presentes na membrana externa dessas bactérias (ADLER e PEÑA-MOCTEZUMA et al.,1999; EVANGELISTA e COBURN, 2010).

Leptospiros são espiroquetas helicoidais, aeróbias, móveis e flexíveis. Medem cerca de 0,1 µm de diâmetro e 6 a 20 µm de comprimento, sendo melhor visualizadas em microscopia de campo escuro (Figura 1). (PARMA et al., 1997; KO et al., 2009; ADLER e DE LA PEÑA-MOCTEZUMA, 2010).

Elas possuem um flagelo inserido na região periplasmática axial (endoflagelo), diferente do observado na maioria das bactérias, que permite a realização de movimento de rotação. A motilidade tem papel importante na virulência dessa bactéria, comprovada através de mutação de genes relacionados com essa função que provocaram redução da virulência, demonstrando a importância deste fenótipo na infectividade da bactéria (CERQUEIRA e PICARDEAU, 2009; LAMBERT et al., 2012).

A membrana externa de *Leptospira* é formada por uma dupla camada, tendo o LPS como principal antígeno, que induz a aglutinação, opsonização e estimula a produção de anticorpos protetores (LEVETT, 2001, EVANGELISTA e COBURN, 2010). Mesmo sendo semelhante estruturalmente e imunologicamente ao das bactérias Gram-negativas, o LPS das leptospiros possui baixa atividade endotóxica (SHIMIZU et al., 1987; LEVETT, 2001), chegando a ser 12 vezes menos letal em ratos quando comparado com o LPS da *Escherichia. coli*, por exemplo (FAINE et al., 1999, ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

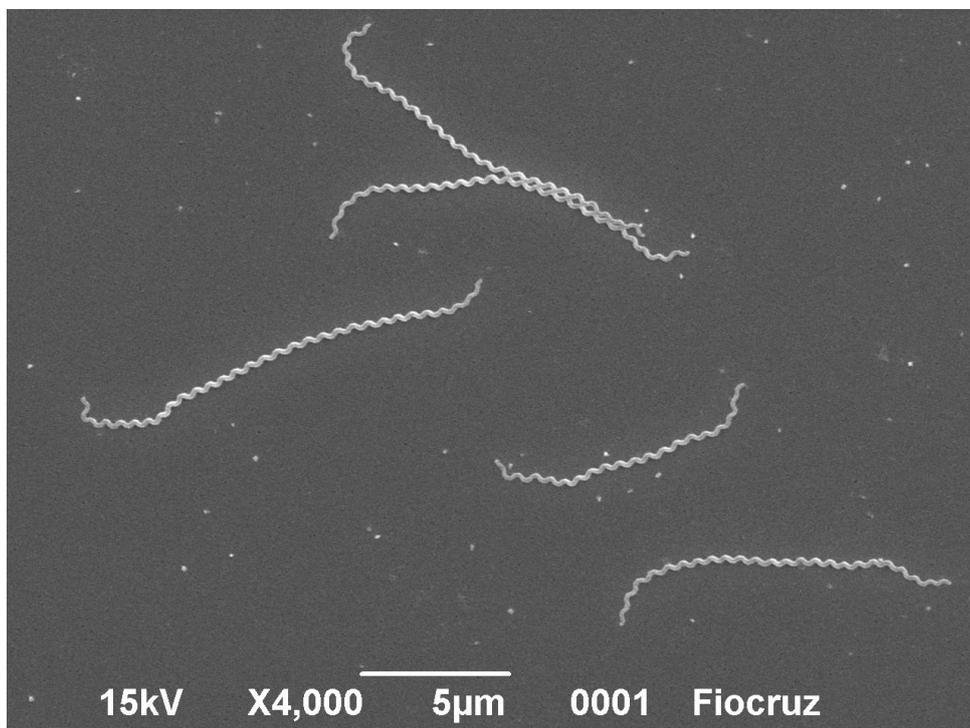


Figura 1: *Leptospira* observada em microscópio eletrônico de varredura. Foto cedida por Cláudio Pereira Figueira (FIOCRUZ – CpqGM, 2014)

Além do LPS, outras proteínas também compõem a membrana externa de *Leptospira*, como por exemplo, Loa22, LipL32, LipL21 e lipL41. A LipL32 está presente apenas em leptospiros patogênicos, apresentando alta imunogenicidade e forte reatividade frente a soros de pacientes doentes (CULLEN et al., 2005; CHIRATHAWORN et al., 2014). A Loa22 também ocorre apenas em leptospiros patogênicos, sendo necessária para a virulência, parecendo ser citotóxica e capaz de induzir à apoptose (RICALDI et al., 2012).

O crescimento de leptospiros ocorre, preferencialmente, em temperaturas de 28 a 30°C e pH de 7,2 a 7,6 (PARMA et al., 1997). O meio de cultura mais comumente usado é o meio Ellinghausen-McCullough / Johnson-Harris (EMJH), que contém o ácido oleico, albumina bovina e polissorbato (Tween) (EVANGELISTA e COBURN, 2010). Muitas vezes este meio é suplementado com soro de coelho para melhor crescimento das cepas. (FAINE et al., 1999; ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA 2010). O meio EMJH também é utilizado no isolamento de leptospiros, sendo comum a adição de 5-fluorouracil ao meio, para evitar a contaminação da cultura (LEVETT, 2001).

Mesmo sendo consideradas exigentes quanto a oferta de nutrientes, algumas leptospiros, como é o caso da *L. interrogans*, podem sobreviver por longos períodos em ambientes com baixa oferta de nutrientes, como por exemplo, solos úmidos e água fresca (FAINE et al., 1999; ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010). Em estudos experimentais, foi demonstrada a existência de leptospiros viáveis por até 180 dias em água (BRASIL, 1995; LANGONI, 2001). Uma estratégia para a sobrevivência de leptospiros é a formação de biofilme, quando elas se agregam, e produzem uma matriz extracelular (RISTOW et al., 2008).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Inúmeros determinantes ambientais e sociais contribuem para a ocorrência de surtos epidêmicos de leptospirose em populações de animais ou humanos (PETRAKOVSKY, et al., 2014).

A leptospirose tem sido considerada uma doença reemergente, que no passado era associada primariamente às atividades ocupacionais, como os trabalhadores em lavouras de arrozal, jardineiros, açougueiros e agricultores (NÁJERA et al., 2005). Recentemente, a doença foi associada também às atividades recreativas e esportivas, ao ecoturismo e turismo de aventura e natureza, nos quais o risco de contato com as diversas fontes de infecção pode ocorrer com maior frequência (HAAKE et al., 2002; EVANGELISTA et al., 2010).

A ocorrência da leptospirose é mundialmente distribuída, porém em regiões tropicais e subtropicais a taxa é bem maior, quando comparada com regiões frias e secas (GUIMARÃES et al., 1982), pois as regiões tropicais oferecem excelentes condições para a sobrevivência e disseminação de leptospiros, devido ao clima e,

particularmente, a alta precipitação pluviométrica. A ocorrência da leptospirose é sazonal, tendo picos no verão ou outono em regiões temperadas, ou durante a estação chuvosa em regiões de clima quente (PLANK e DEAN, 2000; LEVETT, 2001).

Ao longo do século XX, a leptospirose passou a ocorrer em larga escala nos grandes centros urbanos, principalmente em locais com condições sanitárias precárias (FELZEMBURGH et al., 2014; EVERARD et al., 1995; PERROCHEAU e PEROLAT, 1997). As condições precárias de saneamento básico presente nas ocupações desordenadas das cidades produz uma condição ecológica favorável para transmissão da leptospirose por roedores (JOHNSON *et al.*, 2004, THIERMANN *et al.*, 1977). Desta forma, a leptospirose humana tornou-se um problema urbano devido à expansão das cidades e o êxodo rural (KO *et al.*, 1999). Um estudo realizado no município de Salvador revelou que 15% dos moradores pesquisados apresentavam reação positiva a exame sorológico para leptospirose, indicando uma infecção ou contato prévio (REIS *et al.*, 2008).

Essas condições estão frequentemente associados a práticas inadequadas de gestão em áreas rurais (ex: descarte inadequado de restos abortivos, falta de controle dos animais ingressantes no platel e outros) ou condições sanitárias precárias em áreas urbanas(ex: falta de saneamento básico). Essas situações têm sido claramente associadas com a ocorrência da infecção por leptospirosas (MARTINS e LILENBAUM, 2013). Ocorre grande variação do sorovar predominante na infecção por leptospirosas, dependendo da região estudada, da espécie animal afetada e até mesmo do indivíduo acometido (CORREA e CORREA, 1991).

Em relação a leptospirose bovina no Brasil, o descuido com restos abortivos e o contato com animais doentes são condições importantes na transmissão da leptospirose bovina. Estudos epidemiológicos tem sido realizados, sejam eles com maior ou menor abrangência territorial, com resultados de soroprevalência variando de 38% a 64% (FAVERO et al., 2001, LILENBAUM, 2003; AGUIAR et al., 2006; MAGAJEVSKI et al., 2007; CASTRO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; COELHO et al., 2014).

No estado do Mato Grosso do Sul, Figueiredo et al. (2009) analisaram 2.573 amostras de soro de bovinos sadios e observaram 98,8% de prevalência de evidência sorológica de exposição à *Leptospira* em bovinos, apontando o sorovar Hardjo (65,6%) como o de maior ocorrência. Neste estudo a raça zebu e animais

voltados para exploração de corte foram identificados como fatores de risco para ocorrência de reação sorológica contra *Leptospira*. Já Pellegrin et al. (1999), no Pantanal Mato-Grossense, analisou 28 rebanhos e 756 amostras de soro de bovinos sadios, sendo estimada uma prevalência de anticorpos anti-*Leptospira spp* de 39% onde o sorovar Hardjo foi o mais frequente. Neste estudo não houve análise de associação com fatores de risco.

Em Goiás, Juliano e colaboradores, em 2000, analisaram 20 rebanhos e 426 amostras de soros de bovinos leiteiros, sem qualquer sinal ou sintoma relacionado com a leptospirose, obtendo uma prevalência de 82%. Ele analisou os diversos fatores de risco, porém nenhum obteve associação significativa com os resultados.

No estado da Bahia, os mais recentes trabalhos realizados com bovinos analisando a ocorrência de reação sorológica contra leptospirose foram Viegas et al. (2001) e Oliveira et al. (2009). Viegas et al. (2001) analisaram 836 amostras de soros de animais com suspeita clínica para leptospirose, pertencentes a seis diferentes espécies de animais domésticos, dentre eles bovinos. Dos 109 soros bovinos analisados, 97 reagiram positivamente ao teste da microaglutinação, totalizando 89% de prevalência. Já Oliveira et al. (2009) avaliaram 10.823 soros de fêmeas em idade reprodutiva de rebanhos bovinos sadios do Estado da Bahia, estimando uma prevalência de 45,42%. Até o momento, não foi realizado nenhum estudo com animais de abatedouro no estado da Bahia.

As diferenças dos resultados obtidos nos diversos estudos podem sofrer influência de vários fatores relacionados ao teste sorológico como: a coleção de antígenos utilizada, o ponto de corte, a época do ano em que se realizou a coleta e a localização da propriedade (FAINE, 1982). A bateria de antígenos empregada no teste da MAT é um fator importante, que varia de estudo para estudo e pode influenciar nos resultados, causando ausência ou presença de animais positivos (FAVERO et al., 2001). Os artigos citados acima divergiram no número de sorogrupos utilizados nos testes, ocorrendo alterações também nos sorovares empregados. A influência de outros fatores, sejam eles ambientais, de rebanho ou do próprio indivíduo podem favorecer a ocorrência de cepas diferentes ou a ocorrência maior ou menor de uma determinada cepa nos diversos trabalhos (FAINE, 1982; FAVERO et al., 2001).

1.3 – TRANSMISSÃO

O contato com água e solo úmido contaminados com urina de animais infectados é a principal forma de infecção inter e intra-espécies. Diferentes espécies animais podem eliminar *Leptospira* através da urina, mantendo a contaminação do ambiente por longos períodos (FAINE, 1999; PETRAKOVSKY, et al., 2014). A contaminação ocorre a partir do contato direto com urina ou tecidos infectados por leptospiros, ou por contato indireto através de água, lama ou solo contaminado com urina leptospiremica (JORGE et al., 2012; LEHMANN et al., 2014).

As principais vias de entrada da bactéria no organismo animal ou humano são através de feridas da pele e através da pele íntegra, após longos períodos de exposição à água ou solo úmido contaminado (FAINE, 1999; PETRAKOVSKY et al., 2014). Alguns sorovares estão adaptados à espécies de animais específicas, sejam eles domésticos ou selvagens (Tabela 1) (BHARTI et al., 2003), tendo a *L. interrogans* (sorovar Hardjo) e *L. santarosai* (sorovar Shermani) como as espécies que estão mais associadas às infecções em animais de produção (ZACARIAS et al., 2008; MARTINS e LILENBAUM, 2013).

Tabela 1. Animais reservatórios domésticos e selvagens e seus respectivos sorovares de *Leptospira* spp.

Hospedeiro de manutenção	Sorovar (es)
Suínos	Pomona, Tarassovi
Bovinos	Hardjo, Pomona
Equinos	Bratislava
Caninos	Canicola
Ovinos	Hardjo
Mão-pelada	Grippothyphosa
Ratos	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni
Camundongos	Ballum, Arborea, Bim
Marsupiais	Grippotyphosa
Morcegos	Cynopteri, Wolffii

Fonte: Bharti et al., 2003

O sorovar Hardjo é o principal causador da leptospirose bovina, espécie considerada como importante fonte de infecção para os humanos e outros animais na zona rural (MARTINS e LILENBAUM, 2013; AZIZI et al., 2014). Em áreas urbanas, o rato é considerado o principal reservatório e transmissor da leptospirose humana. O *Rattus norvegicus* e o *Rattus rattus* são as duas espécies mais presentes na cadeia de transmissão da leptospirose (COSTA et al., 2014.)

Líquidos e tecidos reprodutivos de animais contaminados também podem infectar indivíduos que entrem em contato com os mesmos (FAINE, 1999; PETRAKOVSKY et al., 2014). O sêmem também é uma via de eliminação de leptospirosas, permitindo a contaminação de um número grande de animais fêmeas a partir de um único animal macho, seja por contato sexual ou através de inseminação artificial (KIKTENKO et al., 1976; PETRAKOVSKY et al., 2014).

Em 2006, foi evidenciado que fêmeas suínas transmitiram *Leptospira* verticalmente para os seus filhotes. Os leitões nascidos dessas porcas eram clinicamente saudáveis, porém estavam infectados por leptospirosas, se tornando potenciais transmissores da doença (SOTO et al., 2006). Em 1998, Bielanski e colaboradores inocularam *L. borgpetersenii* sorovar Hardjobovis em novilhas por via uterina, cervical, subconjuntival e intranasal. Posteriormente, foi confirmada a infecção através de exames sorológicos e por identificação da bactéria em mórulas e embriões, confirmando que a transferência de embriões também pode ser uma via de transmissão da leptospirose em bovinos.

Os portadores crônicos ou clinicamente sadios são os transmissores mais comuns. A ausência de sintomas cria uma falsa sensação de saúde dos animais, diminuindo a preocupação e aumentando a contaminação dos profissionais que trabalham em contato direto com os animais, por exemplo (GONÇALVES et al., 2006).

1.4 PATOGÊNESE

A infecção por *Leptospira* tem sido dividida e classificada em dois grandes grupos. Um grupo relaciona os animais considerados como reservatórios ou mantenedores das cepas circulantes. Esses animais são mais resistentes e adaptados a determinadas cepas, geralmente resultando em uma infecção subclínica ou crônica. A bactéria coloniza os túbulos renais desses animais com

infecção crônica e é eliminada no ambiente, favorecendo a infecção de outros animais e do homem. O outro grupo corresponde aos hospedeiros acidentais, que tendem a desenvolver a doença. Devido à existência de uma diversidade de sorovares que causam a leptospirose, um mesmo animal pode ser reservatório para uma determinada sorovares e desenvolver a doença quando infectado por uma outra (ALONSO-ANDICOBERRY et al., 2001; LILENBAUM E SOUZA, 2003; MACIEL et al., 2008; MARTINS e LILENBAUM, 2013).

O mecanismo da patogenia da leptospirose está pouco esclarecido, porém sabe-se que esta bactéria, ao entrar em contato com o hospedeiro, penetra rapidamente através das membranas mucosas, da pele molhada ou de pequenos cortes ou abrasões, migrando através das junções intercelulares (BAROCCHI et al., 2002). Após a penetração, a *Leptospira* se dirige à corrente sanguínea, onde se multiplica e permanece por aproximadamente sete dias (MINEIRO et al., 2011; LEHMANN et al., 2014). A identificação de leptospiras no sangue pode ocorrer desde minutos pós infecção até 48h (ATHANAZIO et al., 2008; KO et al., 2009).

A disseminação da *Leptospira*, durante a infecção, ocorre rapidamente. Nesta fase, a motilidade parece ter papel importante no sucesso da infecção, visto que, mutações em genes responsáveis por ela reduzem drasticamente a virulência dos diversos tipos de espiroquetas. Além disso, sabe-se que cepas patogênicas têm a capacidade de atravessar barreiras de células endoteliais e aderir as células do hospedeiro, atividade não realizada por cepas sapófitas. Apesar da evidência de que a quimiotaxia está ligada a motilidade no processo de penetração, não se tem muitos estudos sobre o assunto (LUX et al., 2001; LIAO et al., 2010; LAMBERT et al., 2012).

No órgão alvo, as leptospiras se aderem à matriz extracelular (ECM) através de suas proteínas de ligação presentes em sua superfície, como a LipL32, LigB, fibronectinas e outras. Essas proteínas parecem não ser muito específicas, aderindo a uma variedade de componentes do hospedeiro (HOOKE et al., 2008; ADLER, 2014) e podem ser identificadas em vários órgãos como coração, pulmão, rins, fígado, sistema nervoso, baço e olhos (ATHANAZIO et al., 2008; KO et al., 2009).

O rim é o órgão mais afetado na leptospirose aguda e o dano endotelial generalizado é o principal mecanismo de patogênese desta bactéria em casos graves (MACIEL et al., 2006). O comprometimento renal ocorre em 16 a 40% desses casos, com disfunção tubular e inibição da Na⁺/K⁺-ATPase, causando hipocalemia,

poliúria e hemorragia (SIPICHLER et al., 2007). Os lipopolissacarídeos e lipoproteínas presentes na superfície da *Leptospira* ativam as células mononucleares do sangue periférico, que migram através das paredes de artérias e arteríolas renais formando o infiltrado inflamatório composto por monócitos, histiócitos e neutrófilos. Essas células ativadas secretam citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-8, IL-10) podendo levar a dano tecidual grave com estresse oxidativo a partir de liberação de radicais livres (LEVETT, 2001; MCBRIDE et al., 2005; MACIEL et al., 2006).

O envolvimento pulmonar, na infecção por *Leptospira* em humanos, tem sido frequentemente observado, especialmente os quadros de síndrome hemorrágica pulmonar grave (SHPG). A patogênese dessa hemorragia ainda está sendo investigada, porém acredita-se que, além do dano endotelial direto, as lesões teciduais causadas por processos inflamatórios também possam ser uma via importante de comprometimento vascular (MEDEIROS et al., 2010). Um estudo realizado em São Paulo conseguiu associar a identificação de TNF- α no sangue de pacientes com leptospirose grave e posterior óbito (TAJIKI e SALOMAO, 1996). CRODA et al. (2009) realizaram, no estado de São Paulo, 30 necropsias em pacientes com leptospirose associada a hemorragia pulmonar e encontrou depósitos de fibrina (28/30), necrose e regeneração de células pulmonares (30/30), evidenciando a contribuição da resposta inflamatória na ocorrência da hemorragia pulmonar.

Os animais considerados como reservatórios e/ou assintomáticos persistentes apresentam uma disseminação bacteriana rápida (entre 2 a 7 dias) e generalizada, sendo identificada em todos os tecidos. Após essa fase, as leptospiros sobrevivem seletivamente nos rins, exibindo-se em aglomerados ou isolados no lúmen dos túbulos renais proximais, praticamente desaparecendo dos outros órgãos. Essa colonização pode ser identificada em diversos animais como macacos, ratos e cobaias (FAINE, 1957; BRANGER et al., 2005). O rato Wistar, foi caracterizado como modelo animal para pesquisas em infecção crônica de leptospiros. Esses animais apresentam persistência da *Leptospira* nos rins por quatro meses, sem desenvolvimento de sintomas (ATHANAZIO et al., 2008). Em 1981, Thiermann já havia identificado a persistência de *Leptospira* em rins de ratos por 220 dias, confirmando a importância do rato como animal transmissor da leptospirose.

1.5 – SINAIS CLÍNICOS

1.5.1 - A leptospirose em Humanos

A incidência da leptospirose em humanos ainda é pouco conhecida, porém segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 320.000 casos humanos são registrados no mundo a cada ano (WHO, 2003; COSTA et al., 2014). Inicialmente a leptospirose era considerada uma doença basicamente ocupacional, associada ao trabalho rural, ao contato direto com ambiente e animais contaminados (FAINE, 1999), sendo identificada também em atividades de lazer e viagens (NAKAMURA et al., 2006; MONAHAN et al., 2009; LONDEREE, 2014).

Os aspectos clínicos ocorridos em humanos têm curso variável. A maioria das infecções apresenta-se na forma subclínica, com sintomas brandos e não específicos, como febre, mialgia, dor abdominal, náuseas e vômitos. Essas infecções mais leves podem ser confundidas com outras enfermidades (BHARTI et al., 2003; ATHANZIO et al., 2005). Sendo assim, muitos casos são negligenciados ou não identificados (BOVET et al., 1999).

Nos casos mais graves, podemos observar sintomas que caracterizam a doença de Weil, descrita na Alemanha, pela primeira vez, em 1886 (LEVETT, 2001). Os principais sintomas são a icterícia, insuficiência renal aguda e hemorragia. Os sangramentos pulmonares tornam-se cada vez mais frequentes em casos graves de leptospirose humana, com uma letalidade maior que 50% e, muitas vezes, presença de óbito em até 24 h pós-internamento (VIJAYACHARI et al., 2003; GOUVEIA et al., 2008).

O tratamento é realizado à base de antibioticoterapia e terapia de suporte complementar. A terapia hidroeletrólítica, diálise ou hemodiálise e assistência cardiorrespiratória são medidas indicadas nos casos mais graves (BRASIL, 2009).

1.5.2 A leptospirose em animais não humanos

Os sintomas clínicos e a gravidade da infecção variam de acordo com a espécie acometida e com a virulência do sorovar infectante (FAINE, 1999). Em 90% dos casos, o curso da leptospirose em animais não humanos é considerada leve ou auto-limitante, sem sintoma clínico aparente e associada a uma adaptação do

hospedeiro ao sorovar infectante (BERNARD, 2009; PLANK e DEAN, 2000). A exemplo disso temos os cães com o sorovar Canicola, os equinos com o sorovar Bratislava, os bovinos com o sorovar Hardjo e os suínos com o sorovar Pomona (BERNARD, 2009; ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

Nas infecções crônicas, as leptospirosas sobrevivem seletivamente nos rins, (FAINE, 1957; BRANGER et al., 2005) causando nefrite intersticial focal ou difusa (Maxie, 1993). A nefrite é a lesão mais encontrada em animais domésticos abatidos e identificada com deficiências renais. Essa alteração é identificada através de pontos branco-acinzentados, dispersos por todo o rim e pode estar ligado à infecção por *Leptospira* (YENER e KELES, 2001).

Além da forma subclínica ou crônica, a leptospirose animal pode se apresentar na forma aguda. Os principais sintomas são febre, icterícia, anorexia, apatia, perda do apetite, perda de peso, insuficiência renal e hepática (ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010). As lesões em órgão são observadas nos rins, fígado e pulmão. Ao chegar aos rins, a *Leptospira* se multiplica, causando lesões tubulointersticiais. No fígado, a bactéria causa necrose dos hepatócitos, com colestase intra-hepática, resultando em diminuição da bilirrubina no fígado. Já as lesões pulmonares ocorrem devido ao superestimulo de células inflamatórias (WOHL, 1996; MINEIRO et al., 2011) .

1.5.3 A leptospirose em bovinos

A leptospirose é a causa de grandes perdas econômicas, principalmente por seu impacto na reprodução dos animais (VIJAYACHARI et al., 2008; AYRAL et al., 2014). O sorovar Hardjo (*L. borgpetersenii* sorovar Hardjo subtipo Hardjobovis e *L. interrogans* sorovar Hardjo subtipo Hardjoprajtino) está mais adaptado aos bovinos, e pode apresentar uma infecção subclínica e persistente (VILLANUEVA et al., 2016).

Ela acarreta repetição de cio, abortos, nascimento de bezerros fracos, diminuição da produção de leite, mastite, além de queda na produção de leite e no ganho de peso (LILENBAUM et al., 2008; AZIZI et al., 2012). Os sintomas reprodutivos, geralmente, estão mais relacionados a infecções crônicas em fêmeas bovinas (ADLER e DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010) . Além disso, animais submetidos à criações intensivas, principalmente os com maior afinidade com

aguadas/lagoas, tendem a ser mais susceptíveis à infecção e reinfecção por *Leptospira* (VILLANUEVA et al., 2016).

1.6 DIAGNÓSTICO

A confirmação de casos suspeitos de leptospirose bovina é difícil e complexa. As manifestações clínicas não são patognômicas e os obstáculos existentes no acesso a testes rápidos, sensíveis e de fácil execução é outro entrave na luta contra a doença, tendo a epidemiologia como grande auxiliar presuntivo na identificação de rebanhos contaminados (FAINE et al., 1999; GUIMARÃES et al., 1982).

Algumas informações, associadas aos sinais clínicos, podem orientar no diagnóstico. A baixa eficiência reprodutiva dos plantéis, elevada infestação de roedores, estações de alto índice pluviométrico e altos níveis de casos suspeitos associados a icterícia, problemas reprodutivos e outros sintomas, podem orientar um diagnóstico definitivo de leptospirose animal (FAINE et al., 1999; LEVETT, 2001; BHARTI et al., 2003).

Nesse contexto, os exames laboratoriais são importantes para elucidar casos suspeitos de leptospirose. A investigação diagnóstica pode ser realizada de forma direta, com a identificação e isolamento da bactéria, ou de forma indireta, utilizando testes sorológicos (CUBERLAND et al., 1999; VINETZ et al., 2001).

Entre as técnicas diagnósticas que se baseiam na identificação de anticorpos, o teste de aglutinação microscópica (MAT) é o teste de referência do Ministério da Saúde (WHO, 2003; ESFANDIARI et al., 2015). A técnica ocorre de forma que as amostras de soro do animal suspeito são diluídas em solução tampão na proporção de 1:50 e adicionado o antígenos em partes iguais. A solução é incubada e a reação deve ser observada em microscopia de campo escuro. Identificando a aglutinação de mais de 50% da cepa utilizada, o exame é considerado reagente (Figura 2) (WHO, 2003; AHMAD et al., 2005b). A aglutinação ocorre entre as bactérias e os anticorpos IgM e IgG dos soros dos animais testados (LEVETT, 1998). As reações cruzadas ou coaglutinações são comuns. Um mesmo soro pode reagir para mais de um sorovar, podendo eles pertencerem ou não ao mesmo sorogrupo. Quando isso ocorre, se considera o sorovar infectante aquele que resultou em maior título (WILLIANMS e BERNARD, 1995; VASCONCELOS, 2004).

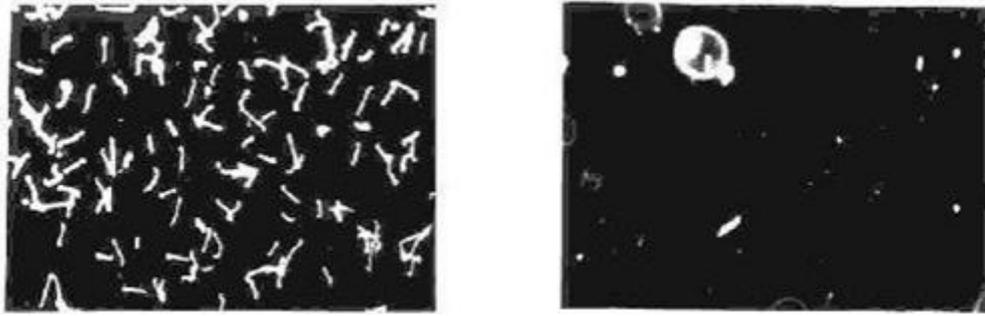


Figura 2: Exemplo de reação de teste de aglutinação utilizando a cepa M20 (serovar Copenhageni) com soro de coelho. Negative Control = soro negativo e 1:160 = reação positiva em diluição 1:160. Fonte: WHO, 2003.

O *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) é um outro teste sorológico utilizado para detecção de anticorpos contra *Leptospira*. Ele é um teste menos trabalhoso e mais rápido que o MAT, identificando IgM e IgG utilizando apenas frações de bactérias (YAN et al., 1999). Porém, a quantidade de anticorpos circulantes deve ser alto para que ocorra a detecção, situação que pode levar de oito a dez dias pós-infecção para se concretizar. Outra desvantagem do exame é que não se consegue realizar a distinção dos sorovares (SMYTHE et al., 2002).

Os métodos diretos de diagnóstico são os mais seguros. Eles têm por objetivo identificar a bactéria ou o seu DNA em tecidos e fluidos corporais de animais infectados (BOLIN, 2003).

O isolamento bacteriano utilizando a cultura permite um diagnóstico definitivo, com possibilidade de identificação do sorogrupo e sorovar. A desvantagem dessa técnica é o tempo e o custo. Um resultado pode levar até dois meses para ser divulgado, e o meio de cultura, manutenção das bactérias e pessoal especializado são muito dispendiosos para realização do teste (MCBRIDE et al., 2005, ATHANAZIO et al., 2005). O primeiro isolamento de *Leptospira* em bovinos no Brasil foi realizado por FREITAS et al. (1957), identificado como *L. interrogans* sorovar Pomona. Em 1961, a *L. Icterohaemorrhagiae* foi isolada de bovinos por Santa Rosa e seus colaboradores. Em 2008 foram utilizadas 698 amostras de urina de bovinos abatidos em um estudo que conseguiu identificar o sorovar Copenhageni e o sorovar Canicola. Recentemente, em 2014, foi publicado por Martins e colaboradores o primeiro isolamento de *L. noguchii* (Panama e Autumnalis) em bovinos.

A bactéria pode ser visualizada de forma direta, através de lâminas preparadas com sangue, urina ou outros fluidos corporais. Essa lâmina é colocada em microscópio de campo escuro para realização da leitura e observação da *Leptospira*. É uma forma rápida e específica, porém, além de ter baixa sensibilidade, essa técnica não é muito utilizada devido à sua interpretação subjetiva e confundimento proporcionado por artefatos como redes de células e fribina (AHMAD et al., 2005a; BOLIN, 1996).

A técnica de *Polymerase chain reaction* (PCR) já é bem difundida e visa identificar micro-organismos em amostras clínicas através da presença do DNA. É considerada uma técnica sensível, específica e rápida, podendo detectar o DNA de inúmeros patógenos, inclusive leptospiros patogênicas. Algumas desvantagens da técnica é a possibilidade de resultados falso-positivos, devido à contaminação das amostras durante o processamento, ter conhecimento prévio da sequência a ser amplificada e uma possível amplificação de erro (SMYTHE et al., 2002; AHMED et al., 2009).

1.7 CONTROLE

O controle da leptospirose é baseado na imunização do rebanho, modificações no manejo com eliminação das fontes de infecção, tratamento dos portadores renais por meio dos antibióticos de eleição e erradicação dos animais transmissores, como os ratos. Os suínos devem ser separados de bovinos, ovinos e caprinos, pois esses animais apresentam leptospirose por longo período (FAINE et al., 1999).

O tratamento com antibiótico pode ser realizado em animais com a leptospirose aguda ou em animais que estão como portador crônico. No primeiro caso se indica a aplicação de estreptomicina (12,5mg/Kg). O número de doses diárias e o uso de terapias de suporte devem ser avaliados pelo médico veterinário, levando em conta a gravidade do caso (FAINE et al., 1999).

A vacinação é um dos métodos mais práticos e de maior utilização no controle da leptospirose (MUGHINI-GRAS et al., 2014). A eficácia da vacina ainda é pouco discutida, visto que ela é produzida com algumas cepas, assim, a mesma vacina que protege satisfatoriamente em um determinado local pode não funcionar bem em outros. Por esses e outros motivos, o conhecimento da cepa de ocorrência em

determinada região é importantíssimo para a escolha da estratégia de controle a ser utilizada (VAN DE WEYER et al., 2011). As vacinas veterinárias comerciais são bacterinas, variando a composição no número de sorovares e no tipo de adjuvante utilizado (FREUDENSTEIN e HEIN, 1991). Há relatos de reação cruzada em resposta às vacinas, assim, as bacterinas que contem sorogrupos Canicola e Icterohaemorrhagiae podem proteger o animal contra formas letais da doença causadas por outros sorogrupos heterólogos como Australis, Autumnalis, Sejroe e Pyrogenes (SONRIER et al., 2000; TABATA et al., 2002).

A eliminação dos animais reservatórios, como o rato, é realizada utilizando aplicação de produtos químicos, coleta correta do lixo e entulho, armazenamento correto dos alimentos e instalações à prova de roedores (BRASIL, 1995).

O controle da leptospirose está associado à modificação no manejo e/ou eliminação de diferentes fatores ambientais, socioeconômicos e sanitários, que interagem na ocorrência de um caso da doença no animal ou no rebanho, portanto as medidas de prevenção e/ou controle deverão ser direcionadas, além do controle de reservatórios, também para a melhoria das condições de proteção dos trabalhadores em risco ocupacional, das condições higiênico-sanitárias da população e de medidas corretivas no ambiente e no manejo dos animais (BRASIL, 1995).

2 JUSTIFICATIVA

A bovinocultura é uma das principais atividades que compõem o agronegócio brasileiro. O segundo maior rebanho efetivo do mundo, com cerca de 212,3 milhões de cabeças, está no Brasil, que também se tornou o quinto maior exportador de carne para mais de 180 países (BRASIL, 2015). Seguindo o ritmo da pecuária brasileira, a Bahia também tem a criação de gado como importante ramo da agropecuária do estado. Apenas no último trimestre de 2015 foram abatidas mais de 314 mil cabeças de gado no estado da Bahia, sendo o 10º estado maior produtor do país (IBGE, 2015).

Mesmo sendo um dos maiores rebanhos bovinos do Brasil, a produtividade baiana ainda é baixa. Alguns fatores podem influenciar a pouca rentabilidade das criações, e uma delas pode ser a falha no controle sanitário do rebanho. Manter a eficiência da produção requer muito cuidado e dedicação, principalmente com as condições sanitárias dos animais. Dentre as diversas doenças que podem causar alta queda na produtividade, está a leptospirose.

A leptospirose é uma doença bacteriana importante, que causa desordens, principalmente, reprodutivas em bovinos, tendo um grande impacto na produção da criação, seja ela de leite ou de corte. Muitas vezes essa doença é negligenciada pelos produtores, trazendo prejuízos e risco a saúde da população. O conhecimento sobre o tipo de cepa circulante em uma determinada região é importante para o controle e prevenção da doença (MARTINS et al., 2014).

Poucos trabalhos avaliando a ocorrência da leptospirose em bovinos foram realizados no estado da Bahia, principalmente no extremo sul do estado. Oliveira et al. (2009) encontraram 45% de soroprevalência em fêmeas bovinas no estado da Bahia. Resultados semelhantes aos encontrados por SILVA et al. (2012) no estado do Maranhão e CASTRO et al. (2008) no estado de São Paulo, que tiveram 36% e 49% de animais reagentes ao MAT, respectivamente.

Assim, o presente projeto objetivou investigar a frequência de evidência sorológica de exposição à *Leptospira* em animais abatidos na região do extremo sul da Bahia, identificar o principal sorovar circulante e quais os principais fatores de risco presentes na região que possam propiciar o desencadeamento da infecção por *Leptospira*.

Os dados adquiridos nesta pesquisa podem embasar campanhas de conscientização, visando mudanças no manejo da criação desses animais para prevenção da ocorrência da doença, em animais e em humanos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a situação epidemiológica da leptospirose em bovinos abatidos com evidência sorológica de exposição à *Leptospira*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Analisar a sororeatividade contra *Leptospira* de bovinos abatidos em estabelecimento com serviço de inspeção federal, no estado da Bahia, utilizando o teste microaglutinação (MAT).
- 2- Avaliar qual o sorovar predominante na população animal pesquisada.
- 3- Avaliar os rins dos animais abatidos em estabelecimento com serviço de inspeção federal, no estado da Bahia quanto a presença de lesões macroscópicas e a sua associação com as reações positivas ao MAT.
- 4- Avaliar possíveis fatores de risco que poderão propiciar o desencadeamento da infecção por *Leptospira*.

4 – METODOLOGIA

4.1 LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi realizado em um abatedouro frigorífico com serviço de inspeção federal (S.I.F.), localizado na cidade de Teixeira de Freitas, extremo sul do estado da Bahia. As amostras foram coletadas uma vez a cada 15 dias, no período de setembro de 2013 a março de 2014. O número de amostras coletadas por dia dependia do lote selecionado, pois uma vez introduzido no estudo, todos os animais pertencentes ao lote tinham o sangue coletado. Em média, eram coletadas 50 amostras por dia de coleta. Os animais utilizados no estudo eram oriundos de cidades localizadas no extremo sul da Bahia, no entorno do abatedouro.

4.2 – ANIMAIS

Os animais enviados para abate foram transportados da fazenda até o abatedouro em caminhões específicos para o transporte de cargas vivas. A chegada desses animais deve ocorrer na tarde do dia anterior à realização do abate. Isso se faz necessário devido à exigência de jejum sólido e hídrico, imprescindíveis para um abate higiênico e seguro (BRASIL, 1952).

Os animais foram direcionados ao curral de chegada e curral de espera. Nesses locais existem plataformas onde o Médico Veterinário realiza a inspeção *ante mortem*, visando identificar qualquer alteração que possa impedir o abate desse animal, sendo as doenças infectocontagiosas as ocorrências mais comuns. Nos currais de chegada e espera, os animais foram divididos em lotes correspondentes à fazenda de origem, e cada lote foi abatido integralmente por ordem de chegada ao abatedouro. Assim, os animais que participaram deste estudo eram aparentemente saudáveis, que passaram pela inspeção veterinária *ante-mortem*.

A vacinação contra leptospirose praticada na fazenda originária do lote foi considerada fator de exclusão para o estudo, apenas sendo coletado sangue de animais oriundos de fazendas onde não era realizada a vacinação contra leptospirose. Tal procedimento foi realizado visando impedir a ocorrência de reações falso-positivas ao MAT de animais vacinados, já que as vacinas anti-*Leptospira* disponíveis no mercado são bacterinas inativadas, que estimulam o sistema

imunológico a produzir anticorpos contra o LPS de *Leptospira*, situação que causa interferência no MAT até seis meses após a vacinação (NARDI JR et al., 2006). Esse foi o único fator de exclusão utilizado no estudo.

4.3 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Após a insensibilização no boxe de atordoamento utilizando uma pistola pneumática, o animal foi içado e foi realizada a sangria. A veia jugular foi perfurada para retirada da maior parte do sangue do animal, momento em que foi coletado um volume de 7 mL de sangue total em tubos de coleta descartáveis e estéreis. Após dessoramento, as amostras sorológicas foram transferidas para um tubo Eppendorf de 1,5 mL, identificado e mantido congelado à -20°C até a realização dos exames. Devido à alta velocidade do sangue durante a sangria, aproximadamente 40% das amostras hemolizaram e foram descartadas.

Em outro setor da sala de matança, foram separados e observados os rins de todos os animais selecionados. Foi realizada inspeção externa visando identificar lesões macroscópicas. Os rins sem lesão seguiram na linha de processamento do abatedouro para comercialização e os rins com lesão identificada foram condenados e destinados à graxaria do abatedouro.

4.4 TESTE DE AGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (MAT)

O teste de Aglutinação Microscópica utilizando antígenos vivos (Faine et al., 1999) é a prova de referência recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para o diagnóstico da leptospirose. Os antígenos utilizados no MAT foram culturas de leptospirosas vivas e cultivadas em meio EMJH suplementados com soro de coelho. Foram utilizados 22 sorovares de *Leptospira*, sendo eles: Autumnalis, Bratislava, Djasiman, Ballum, Canicola, Celledoni, Coxi, Cynoptery, Copenhageni (cepas M20 e L1 130), Grippotyphosa, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Louisiana, Panama, Pomona, Patoc, Shermani, Canalzonae, Tarassovi e Wolffi (Tabela 2), totalizando 19 sorogrupos. As cepas foram descongeladas e cultivadas em estufa biológica à 28 °C por cinco a oito dias, e depois foram utilizadas nos testes de MAT.

As amostras de soro foram descongeladas, homogeneizadas e diluídas em solução tampão na proporção de 1:50. Posteriormente, a solução tampão+soro foi colocada em contato com o antígeno, em partes iguais, findando em uma diluição de 1:100. A solução tampão+soro+antígeno foi distribuída em microplacas de poliestireno de fundo chato com 96 poços, sendo que cada placa correspondeu a um sorovar de *Leptospira* (antígeno). As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica à 28°C por 2 horas, e foi realizada a leitura em microscópio de campo escuro. Foram consideradas reagentes as amostras que resultaram em 50% ou mais de aglutinação com o antígeno. Em amostras que apresentaram aglutinação para mais de um sorovar, foi considerado como sorovar reagente aquele com o título maior.

Tabela 2. Lista dos antígenos utilizados no MAT

Espécie	Sorogrupo	Sorovar	Cepas
<i>L. interrogans</i>	Australis	Bratislava	Jez Bratislava
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
<i>L. interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	Djasiman
<i>L. borgpetersenii</i>	Ballum	Ballum	Mus 127
<i>L. interrogans</i>	Canicola	Canicola	H. Utrecht IV
<i>L. weilii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
<i>L. kirschneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522C
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Duyster
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M 20
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	L1 130
<i>L. weilii</i>	Javanica	Coxi	Cox
<i>L. noguchii</i>	Louisiana	Louisiana	LSU 1945
<i>L. noguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214 K
<i>L. interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
<i>L. biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc 1
<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno

<i>L. interrogans</i>	Sejroe	Wolffi	3705
<i>L. santarosai</i>	Shermani	Shermani	1342 K
<i>L. santarosai</i>	Grippotyphosa	Canalzonae	CZ 188
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Perepelicin

4.5 INSPEÇÃO DOS RINS

O exame de inspeção *post mortem* consiste no exame macroscópico de todos os órgãos e tecidos do animal abatido, e foi executado por funcionários treinados chamados de auxiliares de linha, supervisionados pelo Médico Veterinário inspetor federal. O exame dos rins foi realizado na linha G. Os rins foram separados, identificados e examinados externamente. As anormalidades encontradas foram registradas em relatório diário, e, posteriormente, foram relacionados os resultados dessa observação com os resultados do MAT do animal testado. Foi considerada anormalidade todo e qualquer alteração que justifique a condenação do rim, o tornando não indicado para consumo. As principais causas de condenação de rim em abatedouro são infarto renal (área esbranquiçada com bordas irregulares), cistos/quistos (bolsas contendo líquido), congestão (coloração mais escura), cálculo renal, nefrite (pontos brancos difusos), esteatose (região mole e amarelada), edema, uronefrose (pontos brancos difusos associado a acúmulo de líquido), isquemia (região ampla de coloração mais clara) (Barbosa et al., 2006^a). A ausência de exame histopatológico foi uma das limitações do estudo.

4.6 LEVANTAMENTO DE DADOS SOBRE FATORES DE RISCO PARA LEPTOSPIROSE

As fazendas detentoras dos animais foram investigadas quanto à existência de fatores de risco para a ocorrência de leptospirose através de preenchimento de , questionário epidemiológico (Anexo 1) (OLIVEIRA, 2008). Esse questionário foi preenchido de duas formas diferentes: *i*) diretamente pelo proprietário ou responsável pela fazenda, após explanação do projeto, *ii*) pelo entrevistador durante contato pessoal ou telefônico com o proprietário ou responsável pela fazenda. O viés de informação é um fator limitante desta forma de estudo.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada utilizando o programa Epi Info 7.1, foi calculada a medida de associação Odds Ratio e o intervalo de confiança, considerando 5% de significância. Os dados relacionados aos fatores de risco foram analisados utilizando análises univariadas utilizando a regressão logística para avaliar a correlação entre a presença desses fatores e a detecção de evidência sorológica de exposição à *Leptospira*. As variáveis que obtiveram o valor de $p \leq 0,1$ nas análises univariadas foram incluídos na análise multivariada utilizando regressão logística *forward*. Nesta análise foi considerado $p < 0.05$. O estudo de corte transversal, realizado neste trabalho, verifica a situação epidemiológica no momento da coleta.

5 RESULTADOS

Foram coletadas amostras de sangue de 400 animais abatidos em um abatedouro frigorífico com serviço de inspeção federal. Durante o mesmo período foram examinados os 800 rins dos animais selecionados e foram coletadas informações através de questionário epidemiológico em todas as fazendas com animais incluídos no estudo.

Os animais testados foram oriundos de 10 municípios localizados no extremo sul do estado da Bahia. Os municípios que tiveram animais incluídos no estudo foram: Alcobaça, Caravelas, Ibirapuã, Itamaraju, Itanhém, Lajedão, Medeiros Neto, Mucuri, Teixeira de Freitas e Canavieiras (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição do número de animais testados de acordo com o município e a fazenda a que pertenciam

Município	ID Fazenda	Nº animais testados
Alcobaça	1	32
	2	10
Caravelas	3	9
	4	9
Ibirapuã	5	14
	6	20
Itamarajú	7	30
Itanhém	8	56
Lajedão	9	45
Medeiros Neto	10	52
	11	34
	12	20
Mucuri	13	12
	14	15
	15	13
Teixeira de Freitas	16	10
Canavieiras	17	10
	18	9

Total	18	400
-------	----	-----

Dentre os 100% dos animais estudados eram mestiços, com maior influência de sangue zebu; 60% eram machos e 52,5% recebiam algum tipo de suplementação alimentar. A maior parte (59,5%) dos animais testados pertencia a fazendas de criação mista, e apenas 10% dessas fazendas realizavam vacinação contra raiva, comprovando a baixa preocupação dos proprietários com a prevenção de doenças. Todos os animais eram vacinados contra febre aftosa, vacinação anual obrigatória em bovinos acima de 24 meses. A reprodução ocorria em 50% das fazendas, porém em apenas uma era realizada inseminação artificial.

5.1 TESTE DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA

72 dos 400 animais (18%; I.C.= 14,3-21,3) obtiveram título $\geq 1:100$ para, pelo menos um dos sorogrupos testados, sendo considerados positivos. As reações positivas foram para os seguintes sorogrupos: Sejroe (sorovares Hardjoprajitno e Wolffi), Shermani (sorovar Shermani), Semarang (sorovar Patoc), Hebdomadis (sorovar Hebdomadis), Autumnalis (sorovar Autumnalis), Celledoni (sorovar Celledoni) e Panama (sorovar Panama). Em 55 das 72 amostras positivas, ocorreram apenas reações únicas, quando o soro reagiu apenas para um determinado sorogrupo. Os outros 17 soros reagiram positivamente a dois ou mais sorogrupos e foi considerado o sorogrupo de maior titulação. O sorogrupo predominante nos animais estudados foi o *Sejroe*, ocorrendo em 67% das fazendas estudadas (Tabela 4).

Tabela 4. Número e frequência (%) de amostras reagentes, segundo os sorovares mais prováveis, analisados por meio do teste de sorogalutinação

Sorogrupo	Sorovar	Nº de amostras reagentes (%)	Identificação das fazendas
Sejroe	Hardjo	51 (71%)	2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 17, 18
Shermani	Shermani	9 (12%)	5, 10
Autumnalis	Autumnalis	5 (7%)	4, 6, 10, 12
Semaranga	Patoc	5 (7%)	1, 7
Panama	Panama	2 (3%)	1
Total		72 (100%)	18

5.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA DOS RINS

Durante o abate dos bovinos os rins foram examinados imediatamente depois de retirados da carcaça assegurando a correta identificação entre o órgão e a carcaça correspondente. Dos 800 rins analisados, 52 foram condenados (6,5%; O.R.= 0,8-3,0). Destes, 12 (23%) foram oriundos de animais com reação positiva ao MAT, porém, não houve associação entre a condenação dos rins e presença de anticorpos anti-*Leptospira* ($p=0,2$). A mesma avaliação foi realizada em animais com titulação igual ou superior à 1:800, porém não houve associação entre a condenação e presença de anticorpos anti-*Leptospira* ($p=0,1$). As lesões mais frequentes nos rins foram cisto urinário, nefrite, isquemia e uronefrose (Tabela 5).

Tabela 5. Relação entre soros reagentes e não-reagentes ao MAT e tipo de lesão macroscópica identificada nos rins condenados (52 rins)

Lesões macroscópicas encontradas	Nº de soros reagentes (%)	Nº de soros não-reagentes (%)
Cisto Urinário	5 (9%)	16 (31%)
Nefrite	3 (6%)	6 (12%)
Isquemia	2 (4%)	11(21%)
Uronefrose	2 (4%)	7(13%)

Total	12(23%)	40 (77%)
-------	---------	----------



Figura 3: Rim descartado por apresentar áreas claras consideradas como isquemia.

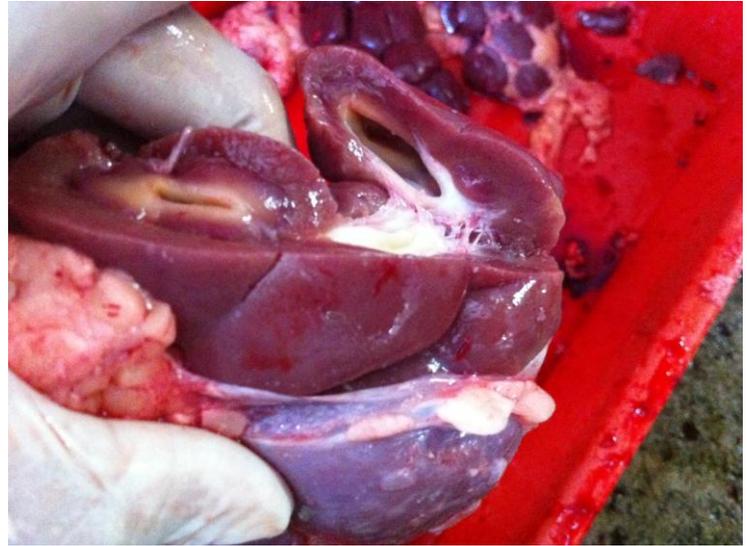


Figura 4: Rim descartado por apresentar bolsas de coloração mais clara contendo urina, consideradas como cistos.

5.3 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE VARIÁVEIS CONSIDERADAS COMO POSSÍVEIS FATORES DE RISCO PARA LEPTOSPIROSE

Todas as fazendas que tiveram amostras de soro de seus animais coletadas, foram analisadas quanto a presença de possíveis fatores de risco para a ocorrência da leptospirose. Todas as fazendas declararam que realizam vacinação obrigatória contra febre aftosa e possuem equídeos e animais de vida livre presentes nas fazendas. Nas fazendas que realizam ordenha, em 100% delas a ordenha era manual.

Após a compilação dos dados, verificamos que muitas das perguntas do questionário não foram respondidas, impossibilitando a utilização de algumas variáveis pesquisadas. Do total de 16 variáveis levantadas, 13 obtiveram número de respostas satisfatórias e foram analisadas quanto à existência de associação entre a sua presença e a ocorrência de reações sorológicas para *Leptospira* utilizando o MAT. Foram avaliadas: presença de fêmeas na propriedade, tipo de compra de animais realizado na fazenda, presença de aborto no último ano na fazenda, tipo de

exploração existente na fazenda, tipo de manejo/criação com utilização ou não de suplementação alimentar, utilização de outro tipo de abate que não o inspecionado, aluguel de pastos extras em outras propriedades, presença de criação de suíno na propriedade, presença de roedores em áreas de manejo e estoque, existência de áreas alagadiças/baixadas na propriedade, existência de assistência veterinária regular, tipo de produção predominante na propriedade e modalidade de compra utilizada na propriedade (Tabela 6).

Tabela 6. Associação entre variáveis epidemiológicas e ocorrência de animais reagentes ao MAT.

Variáveis (n avaliado*)	MAT Positivo (%)	MAT Negativa (%)	Odds Ratio (I.C.)	p
Sexo Feminino (122)	42 (34%)	80 (66%)	4,3 (2,5-7,4)	<0,01
Compra em Fazenda (280)	64 (23%)	216 (77%)	4,1 (1,9-8,9)	<0,01
Presença de Aborto (115)	39 (34%)	76 (66%)	3,9 (2,3-6,7)	<0,01
Exploração Mista (238)	57 (24%)	181 (76%)	3,0 (1,7-5,6)	<0,01
Criação Extensiva (93)	28 (30%)	65 (70%)	2,6 (1,5-4,5)	<0,01
Abate Clandestino (205)	50 (24%)	155 (76%)	2,5 (1,5-4,3)	<0,01
Aluguel de pasto (192)	45 (23%)	147 (77%)	2,1 (1,2-3,4)	<0,01
Presença de Suínos (130)	30 (23%)	100 (77%)	1,6 (0,9-2,8)	0,07
Presença de Roedores (341)	62 (18%)	279 (82%)	1,0 (0,5-2,2)	0,8
Área Alagadiça (285)	48 (17%)	237 (83%)	0,8 (0,4-1,3)	0,3
Ass. Veterinária (185)	22 (12%)	163 (88%)	0,4 (0,3-0,8)	<0,01
Exploração Corte (162)	15 (9%)	147 (91%)	0,3 (0,2-0,6)	<0,01
Compra em Leilão (120)	8 (7%)	112 (93%)	0,2 (0,1-0,5)	<0,01

* O número de animais avaliados em cada variável foi diferente devido a ausência de respostas no questionário para algumas variáveis.

Os resultados acima sugerem que a presença de determinadas situações, estavam associadas ao risco do animal adquirir ou ter contato com a bactéria. Neste

trabalho evidenciamos algumas situações que demonstraram associação com a ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira*. A presença de fêmeas nas fazendas foi o fator que demonstrou maior associação com as reações de MAT positivas, seguido de compra de animais em outras fazendas, ocorrência de abortos no último ano, exploração mista, criação extensiva, utilização de abate clandestino e aluguel de pasto. Os três fatores a seguir, presença de suínos, presença de roedores e presença de áreas alagadas na fazenda não foram associados à ocorrência de animais positivos ao MAT, sugerindo que a sua existência não influenciou no contato dos animais com a bactéria. Já a presença de assistência veterinária regular se mostrou um fator de proteção aos animais, dificultando a transmissão da *Leptospira*. O mesmo ocorreu com as fazendas que eram exclusivamente de corte e os plantéis formados a partir de compras em leilões, fatores que foram considerados como de associação protetora.

Além da análise univariada, foi realizada uma análise multivariada que identificou que dentre os fatores destacados na análise univariada, somente 3 permaneceram apresentando associação estatisticamente significativa com a ocorrência de animais reagentes ao MAT (Tabela 7).

Tabela 7. Associação entre variáveis epidemiológicas e ocorrência de animais reagentes ao MAT na análise multivariada

Variáveis (n avaliado)	“Odds Ratio”	Intervalo de confiança	Valor de p
Sexo Feminino (122)	4,24	2,0 - 6,8	<0,01
Criação Extensiva (93)	2,92	1,4 - 4,7	0,04
Presença de Aborto (115)	2,25	1,1 - 3,7	0,02

Os resultados acima sugerem que dentre os fatores analisados, ter animais fêmeas no plantel, ter acontecido aborto na fazenda e manter uma criação extensiva se confirmaram como fatores associados ao risco do animal adquirir ou ter contato com a *Leptospira*.

6 DISCUSSÃO

A investigação de aglutininas anti-*Leptospira* em animais de abatedouro nos permite um registro da ocorrência de exposição a esta infecção nas propriedades rurais onde os animais vivem, identificar a distribuição dos animais soropositivos, qual sorovar predominante nas diversas localidades da região estudada, e a magnitude da associação entre a evidência sorológica de exposição e manifestações clínicas e perdas reprodutivas potencialmente associadas.

A frequência de detecção de anticorpos anti-*Leptospira* encontrada foi de 18%. Esse resultado é semelhante ao encontrado por ROLLIM et al. (2013), que obtiveram prevalência de 13% em bovinos machos inteiros abatidos no estado de Pernambuco. Os animais utilizados na pesquisa de 2013 também não eram vacinados contra leptospirose e não apresentaram anormalidades físicas no exame *ante mortem*, semelhante ao nosso estudo.

Quando comparamos o trabalho atual a trabalhos anteriores realizados no estado da Bahia, constatamos divergências. A prevalência de 18% foi menor que a encontrada por VIEGAS et al. (2001), que obtiveram índice de 89% de prevalência. Essa alta porcentagem encontrada por VIEGAS et al. (2001) ocorreu devido ao fato de que os soros analisados eram oriundos de animais com suspeita clínica de leptospirose, tendo assim maior probabilidade de serem positivos à MAT que os analisados neste trabalho, clinicamente sadios. OLIVEIRA et al. (2009) avaliaram fêmeas bovinas sadias, com idade acima de 24 meses, pertencentes às fazendas localizadas em todas as regiões no Estado. A prevalência encontrada para toda a região sul da Bahia foi de 43%, diferente do encontrado no presente trabalho (18%). Essa diferença evidenciada pode estar relacionada ao tamanho da amostra, as regiões pesquisadas e aos animais estudados, visto que animais que seguem para o abatedouro são aparentemente mais sadios, que os que permanecem nas fazendas.

A diferença na prevalência da sororreatividade também foi encontrada quando comparamos os nossos resultados com pesquisas realizadas em outros estados do Brasil. MINEIRO et al. (2011) analisando vacas sadias abatidas no estado do Piauí encontraram 38% de soropositividade para leptospirose, número próximo ao encontrado por HERRMANN et al. (2012) que identificaram 39% de soropositividade em bovinos sadios localizados no estado do Rio Grande do Sul. Já MARQUES et al. (2010) encontraram 62% de amostras positivas para MAT em 4.571 amostras

testadas. Os trabalhos apresentaram uma diferença na composição do quadro de cepas utilizados na MAT. MINEIRO et al. (2011) utilizaram 11 sorovares em sua pesquisa, já HERRMANN et al. (2012) utilizaram 17 sorovares em sua bateria de teste, MARQUES et al. (2010) utilizaram 16 sorovares em seus exames sorológicos OLIVEIRA et al. (2009) 23 sorovares, VIEGAS et al. (2001) 18 sorovares e ROLLIM et al. (2013) 27 sorovares em sua bateria. Em todos os trabalhos citados acima existiam algumas cepas que não estavam presentes em nossa bateria, porém quando existiram animais positivos para essas cepas, o número não foi expressivo, comprovando que as principais cepas estavam presentes em todas as baterias de todos os estudos. Além disso, todos os artigos citados acima utilizaram a diluição 1/100 como ponto de corte, reforçando a compatibilidade entre as metodologias utilizadas nos diversos estudos.

A variedade de espécies animais susceptíveis a um ou mais sorovares da leptospirose, com graus diferentes de adaptação, associada aos diferentes fatores ambientais predisponentes propicia uma epidemiologia complexa e dinâmica para a doença. Dessa forma, os estudos relacionados à leptospirose devem ser realizados obedecendo às diferenças regionais quanto a esses fatores (Ellis, 1994; Homem et al., 2001). Observando os fatores relacionados, consideramos que a diferença entre os resultados citados é aceitável, visto que os trabalhos foram realizados em estados, populações e ambientes diferentes, fatores que influenciam na ocorrência da leptospirose.

Em relação às fazendas pesquisadas, as 18 fazendas estão localizadas no sul e extremo sul da Bahia. Podemos verificar que 89% das fazendas incluídas no estudo possuíam animais sorologicamente positivos em seu plantel. Esse resultado já era esperado, visto que diversos trabalhos no Brasil (RENDE e ÁVILA, 2003; CASTRO et al., 2008; SILVA et al., 2012) e em outros países (SAKHAEE et al., 2007; SUEPAUL et al., 2011) relatam a presença disseminada da leptospirose nos rebanhos pesquisados. Comparando com outros trabalhos, OLIVEIRA et al. (2009) encontraram animais positivos no MAT em 78% das fazendas baianas pesquisadas. PIMENTA et al. (2014) encontraram vacas sadias reagentes a leptospirose em 90% das propriedades do Piauí, número bem próximo ao encontrado no presente trabalho. Acreditamos que esses resultados nos sugerem que a *Leptospira* está disseminada no ambiente, ocorrendo em diversas localidades, proporcionando possíveis infecções e prejuízos ao produtor.

O sorovar Hardjo foi o mais o mais predominante nos testes de soroaaglutinação, ocorrendo em 71% das amostras testadas. Tal resultado é compatível com outros trabalhos como, por exemplo, MAGAJEVSKI et al. (2007) que encontraram 45% das fêmeas gestantes e sadias, abatidas no estado de São Paulo, reagentes ao sorovar Hardjo. O mesmo ocorreu com PELLEGRIN et al. (1999), PIMENTA et al. (2014) e MINEIRO et al. (2007) que encontraram 60%, 55% e 40% das suas amostras reagentes ao sorovar Hardjo respectivamente. Esses resultados agregam força ao entendimento de que o sorovar Hardjo está amplamente difundido e é o principal sorovar responsável pela ocorrência de leptospirose em bovinos através de transmissão direta bovino-bovino, causando grandes perdas econômicas para atividade pecuária (LILENBAUM, 2006).

O sorovar Shermani foi o segundo sorovar mais frequente, ocorrendo em 13% das amostras testadas. Esse sorovar, que utiliza roedores silvestres como reservatórios, tem sido frequentemente detectado em diversas pesquisas sorológicas em bovinos (HOMEM et al., 2001; AGUIAR et al., 2006; CASTRO et al., 2008), porém ainda não foi incluído na composição da maioria das vacinas contra leptospirose. Tal dado é importante, visto que a vacinação é uma das estratégias de controle da doença, e pode não ter efeito em rebanhos residentes em ambientes contaminados por *L. santarosai* sorovar Shermani (AGUIAR et al., 2006; BALAKRISHNAN E PARIMAL, 2014).

Mesmo com a presença maciça do sorovar Hardjo em estudos de sororreatividade em bovinos e sua já confirmada relação de predileção por essa espécie, podem ocorrer as infecções acidentais, causadas por sorovares não tão adaptados aos bovinos e transmitidas a eles por animais silvestres ou de outros animais domésticos. Neste estudo foram identificadas reação a outros sorovares, sendo eles Autumnalis, Patoc e Panama. Esse achado, somado à informações de presença de animais silvestres em convívio com os bovinos, reforça a suspeita do envolvimento deles na transmissão das soroviedades acidentais. A identificação da existência desses sorovares é importante para a Saúde Pública e deve ser considerada na adoção de práticas de controle e profilaxia da doença. SILVA et al. (2010) analisaram gambás (*Didelphis albiventris*) e observaram ocorrência de 12% de animais reagentes ao sorovar Autumnalis, podendo ser este o reservatório desse sorovar. O sorovar citado acima foi encontrado em 7% das amostras testadas.

O sorogrupo Semarang, sorovar Patoc é um sorovar saprófito e foi incluído na bateria de teste visando identificar soros reagentes a cepas que não estão presentes no teste através de reação cruzada. Foram identificadas 7% das amostras testadas como reagentes a Patoc. Esse número foi adicionado ao total de positivos por sugerir reação cruzada com outros sorovares não presentes na bateria (SILVA et al., 2012).

A leptospirose pode causar diversos sintomas, como a insuficiência renal e lesões túbulo intersticiais. A multiplicação bacteriana ocorre, preferencialmente, nos rins, local onde a bactéria consegue se manter longe das defesas do organismo. Dentre as lesões que corroboram com o descarte renal, a nefrite é a lesão mais associada à ocorrência de leptospirose. Assim, tentamos associar a condenação do rim na linha de matança à reatividade em exame sorológico contra leptospirose. Segundo o nosso estudo, não houve relação entre positividade ao MAT e condenação renal ($p=0,2$). Dos 52 rins condenados no abatedouro, 23% pertenciam a animais reagentes positivos ao MAT. A mesma associação foi realizada com animais que obtiveram titulação no MAT igual ou superior à 1:800, o que pode indicar presença de doença aguda, mesmo nesse grupo não houve associação entre animais com títulos altos e condenação renal ($p=0,1$). Acreditamos que tal resultado pode ser explicado pelo tipo de animal utilizado no estudo. Animais destinados ao abate têm um tempo de vida menor, quando comparado com reprodutores e animais leiteiros. Normalmente, lesões renais causadas por leptospirose necessitam de infecções crônicas para ocorrerem, sendo difícil a sua visualização em animais com pouco tempo de vida.

Alguns fatores ambientais e de manejo podem contribuir para manutenção e transmissão de leptospiras eliminadas no meio ambiente por animais carreadores ou infectados (FAINE et al., 1999). Dentre os fatores que identificamos como potencialmente de risco aos animais criados, está a predominância de fêmeas na propriedade, possivelmente devido à leptospirose clínica apresenta sintomas reprodutivos em fêmeas, com eliminação de grande quantidade de bactéria no ambiente (FAINE et al., 1999). Assim, a presença de fêmeas no plantel foi estudada como fator de risco para ocorrência de animais reagentes a leptospirose. Fazendas com fêmeas tiveram maior probabilidade de possuírem animais reagentes ao MAT quando comparadas com fazendas exclusivamente de machos (O.R.= 4,3 ; $p<0,01$). O principal sintoma da leptospirose grave em bovinos, o aborto, também foi

considerado como fator de risco e, segundo as análises, houve relação da sua ocorrência com a ocorrência de animais reagentes ao MAT (O.R.= 3,9 ; $p<0,01$) Dos 115 animais pertencentes a fazendas com histórico de aborto, 39 (34%) dos animais reagiram positivamente ao exame sorológico. Esse resultado concorda com de MARQUES et al.(2010), que conseguiram identificar associação entre a ocorrência de aborto e casos positivos na sorologia. Acreditamos que ambos os fatores de risco estão associados, visto que a presença de fêmeas é indispensável para que ocorra partos e, conseqüentemente, abortos nas fazendas.

O tipo de criação existente na fazenda (extensivo, semi-intensivo ou intensivo) determina por quais manejos os animais devem passar durante a sua vida produtiva. O contato maior desses animais com seus tratadores facilita a identificação e eliminação das situações de risco presentes no ambiente. Pensando nisso, o tipo de criação existente na fazenda foi pesquisado como fator de risco. Segundo a nossa pesquisa, fazendas que possuem um sistema de produção extensivo têm mais chances de ter animais sororeagentes ao MAT em comparação aos sistemas intensivos ou semi-intensivos (O.R. = 2,6; $p<0,01$). Esse resultado não concorda com SILVA et al. (2012), onde a criação extensiva não revelou associação com a ocorrência de animais positivos ao MAT ($p=0,084$). Mesmo discordando com o trabalho citado, acreditamos que o nosso resultado se deva ao fato de que fazendas de criação extensiva têm pouca assistência aos animais, que são criados sem muito contato com o tratador, podendo se expor a locais contaminados com mais frequência.

Outra situação de risco presente na análise univariada, mas que não foi confirmada na multivariada foi o aluguel de pasto. Tal procedimento provoca a entrada de animais em locais com condição sanitária desconhecida, e que pode estar contaminada com bactérias eliminadas por outros bovinos que estiveram no local. Em nosso estudo essa situação foi apontada como provável fator de risco (O.R.= 2,1; $p<0,01$), semelhante a HASHIMOTO et al. (2012) que encontraram uma chance 2,9 vezes maior de ocorrência de bovinos reagentes à soroaglutinação em fazendas que alugavam seus pastos (região centro-sul do Paraná).

Os roedores são considerados o maior reservatório da *Leptospira*, particularmente do sorovar Icterohaemorrhagiae, porém a presença deste animal na propriedade não se configurou como fator de risco para ocorrência de animais reagentes à sorologia (O.R.= 1; $p=0,8$). O mesmo resultado foi visto por JULIANO et

al. (2000), não identificando relação entre a presença de roedores e casos positivos na MAT. A ausência de relação é aceitável, visto que nenhum dos bovinos testados neste trabalho foram reagentes ao sorovar *Icterohaemorrhagiae*, principal sorovar albergado pelos roedores e transmitidos aos bovinos. Entretanto, a vigilância quanto à presença desses reservatórios é de suma importância, pois vários estudos já confirmaram a relevância do papel desse animal na transmissão da leptospirose (KURIBARA et al., 1996).

Considerando que a principal forma de transmissão é através do contato com a água contaminada com urina de animais transmissores ou reservatórios (FAINE, 1999), acreditamos que a presença de áreas alagadiças poderia ser um fator de risco para a ocorrência de animais sororeagentes, porém em nosso estudo não houve associação positiva ($p=0,3$). O mesmo resultado foi encontrado por SILVA et al. (2012). Já PIMENTA et al. (2014) encontraram relação entre as áreas alagadiças e a ocorrência de animais reagentes contra o sorovar Hardjo. A falta de relação entre a presença de áreas alagadiças e a ocorrência de animais reagentes pode estar relacionada à época do ano em que foi realizada a coleta, verão (período com poucas chuvas na região).

Outro fator considerado possivelmente de risco foi a existência de assistência veterinária nas fazendas pesquisadas. Dos 400 animais testados, 215 pertenciam a fazendas que não possuíam frequência de visitas de profissionais veterinários em suas localidades. Desses 215, 23% possuíam anticorpos contra *Leptospira*, identificando a assistência veterinária regular como um possível fator protetor para os animais das fazendas que a possuem (O.R.=0,4; $p<0,01$). Resultado semelhante foi encontrado por LILENBAUM et al. (2003), identificando que as fazendas por eles pesquisadas, e que não possuíam assistência veterinária, obtiveram 1,74 vezes mais chance de ocorrer animais positivos para o MAT do que as fazendas com visitas profissionais ($p<0,01$). Tal resultado só reforça a premissa de que a assistência veterinária é de suma importância na prevenção e controle das diversas doenças animais, principalmente as infecciosas.

Após a análise multivariada, os fatores de risco confirmados como associados a ocorrência de animais reagentes ao MAT. foram a presença de fêmeas no rebanho (O.R.= 4,2), presença de aborto (O.R.= 2,3) e criação extensiva (O.R.= 2,9). A leptospirose clínica apresenta sintomas reprodutivos em fêmeas, com eliminação de grande quantidade de bactéria no ambiente (FAINE et al., 1999). Assim, a presença

de fêmeas no plantel foi identificada como fator de risco para ocorrência de animais reagentes a leptospirose. Fazendas com fêmeas tiveram maior probabilidade de possuírem animais reagentes ao MAT quando comparadas com fazendas exclusivamente de machos (O.R.= 4,2 ; $p<0,01$). O principal sintoma da leptospirose grave em bovinos, o aborto, também foi considerado como fator de risco e, segundo as análises, houve associação entre sua ocorrência e a presença de animais reagentes ao MAT (O.R.= 2,25 ; $p=0,02$). Dos 115 animais pertencentes a fazendas com histórico de aborto, 39 (34%) dos animais reagiram positivamente ao exame sorológico. Esse resultado concorda com de MARQUES et al.(2010), que conseguiram identificar associação entre a ocorrência de aborto e casos positivos na sorologia. Acreditamos que ambos os fatores de risco estão associados, visto que a presença de fêmeas é indispensável para que ocorra partos e, conseqüentemente, abortos nas fazendas.

As peculiaridades dos diversos tipos de criação podem determinar a existência de fatores que favorecem a ocorrência de algumas infecções. O tipo de criação existente na fazenda (extensivo, semi-intensivo ou intensivo) determina por quais manejos os animais devem passar durante a sua vida produtiva. O contato maior desses animais com seus tratadores facilita a identificação e eliminação das situações de risco presentes no ambiente. Pensando nisso, o tipo de criação existente na fazenda foi pesquisado como fator de risco. Segundo a nossa pesquisa, fazendas que possuem um sistema de produção extensivo têm mais chances de ter animais sororeagentes ao MAT em comparação aos sistemas intensivos ou semi-intensivos (O.R. = 2,9; $p=0,04$). Esse resultado não concorda com SILVA et al. (2012), onde a criação extensiva não revelou associação com a ocorrência de animais positivos ao MAT ($p=0,084$). Mesmo discordando com o trabalho citado, acreditamos que o nosso resultado se deva ao fato de que fazendas de criação extensiva têm geralmente pouca assistência aos animais, que são criados sem muito contato com o tratador. Adicionalmente, se avaliarmos também conjuntamente com a associação a ocorrência de abortos, os animais a pasto podem abortar sem a observação dos tratadores e os outros animais facilmente podem entrar em contato com os restos do aborto, desta forma na criação extensiva os animais podem se expor a locais contaminados com mais frequência.

O estudo descrito apresenta algumas limitações: a falta de isolamento bacteriano e de exame histopatológico nos rins condenados impossibilitou a

confirmação da infecção por *Leptospira* nos animais estudados. O estudo de corte transversal também possui algumas limitações, como a identificação da situação estudada apenas no momento da coleta, sem a comprovação da causalidade da ocorrência de positividade ao MAT.

7 CONCLUSÃO

A soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em animais abatidos em abatedouro frigorífico no extremo sul da Bahia foi baixa em relação a outros trabalhos realizados no estado da Bahia, porém demonstrou que os bovinos têm fácil contato com a *Leptospira* e a ampla disseminação dessa bactéria na região, com a maciça positividade das fazendas pesquisadas. O sorovar Hardjo foi o mais encontrado nos animais de abate pesquisados, demonstrando que a contato entre bovinos é a principal forma de transmissão da *Leptospira* e a vacinação é uma alternativa no combate a essa infecção. Outros sorovares como Shermani, Autumnalis e Panama também tiveram animais positivo. Para complementar e confirmar o teste sorológico são necessários novos estudos abrangendo o isolamento para confirmar a infecção por *Leptospira*. Apesar de a leptospirose gerar lesões renais, não houve associação entre os animais positivos ao MAT e a condenação renal, mesmo quando avaliamos animais com altos títulos de anticorpos. A presença de fêmeas no rebanho, a criação extensiva, a ocorrência de aborto no último ano se confirmaram como fatores de risco, após análise multivariada. Os resultados demonstrados sugerem que *Leptospira* é uma bactéria importante na região do extremo sul da Bahia, e que novos estudos longitudinais devem ser realizados com um numero maior e mais expressivo de animais, utilizando testes de detecção direta, visando uma confirmação da infecção desses animais e o risco que os trabalhadores estão expostos ao lidar diretamente com esses animais e seus fluidos corporais.

REFERÊNCIAS

- ADLER, B. Pathogenesis of leptospirosis: Cellular and molecular aspects. **Veterinary Microbiology**, n. 172, p. 353-358, 2014.
- ADLER, B.; DE LA PEÑA M. A. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p.287-296, 2010.
- ALONSO-ANDICOBERRYA, C.; GARCIA-PENA, F., PEREIRA-BUENOC, J. et al. Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, n.2, p. 109–117, 2001.
- AGUIAR, D.M.; GENNARI, S.M.; CAVALCANTE, G.T. et al. Seroprevalence of *Leptospira* spp in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 2, p. 102-104, 2006.
- AHMAD, A.; KIKUCHI, H.; TAKAMI, Y. et al. Different roles of N-terminal and C-terminal halves of HIRA in transcription regulation of cell cycle-related genes that contribute to control of vertebrate cell growth. **The Journal of Biological Chemistry**, v.37, n.280, p. 32090-32100, 2005a.
- AHMAD, S. N.; SHAH, S.; AHMAD, F. M. Laboratory diagnosis of leptospirosis. **Journal of Postgraduate Medicine**, v. 51, n. 3, p. 195-200, 2005b.
- AHMAD, B.; ALI, N.; BASHIR, S. et al. Parasitocidal, antifungal and antibacterial activities of *Onosma griffithii* Vatke. **African Journal of Biotechnology**, v.8, n.19, p. 5084-5087, 2009.
- ATHANAZIO, D.A.; SILVA, E.F.; SANTOS, C.S. et al. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. **Acta Tropica**, n. 105, p. 176-180, 2008.
- AYRAL, F.C.; BICOUT, D.J.; PEREIRA, H. et al. Short Report: Distribution of *Leptospira* serogroups in cattle herds and dogs in France. The **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 91, n. 4, p. 756-9, 2014.

AZIZI, S.; TAJBAKHS, E.; HAJIMIRZAEI, M. R. et al. Evaluation of 'white-spotted kidneys' associated with leptospirosis by polymerase chain reaction based LipL32 gene in slaughtered cows. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 83, n.1, 2012.

AZIZI, A.; KHEIRANDISH, R.; RAHIMI, E. Comparison of polymerase chain reaction and Warthin-Starry techniques to detect *Leptospira* spp. in kidneys of slaughtered cattle. Onderstepoort. **Journal Veterinary Research**, v. 81, n. 1, p. 1-6, 2014.

BALAKRISHNAN, G.; ROY, P. Comparison of efficacy of two experimental bovine *Leptospira* vaccines under laboratory and field. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.159, n.1-2, p. 11–15, 2014.

BARBOSA, A.S.; ABREU, P.A.E.; VASCONCELLOS, S.A. et al. Immune evasion of *Leptospira* species by acquisition of human complement regulator C4BP. **Infection and Immunity**, v. 77, n. 3, p. 1137-1143, 2009.

BAROCCHI, M.A.; KO, A.; REIS, M.G. et al. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintracellular pathogen. **Infection and Immunity**, n. 70, p. 6926-6932, 2002.

BERNARD, W. Leptospirosis. **Equine Veterinary Education**, v. 21, n. 9, p. 435–444, 2009.

BIELANSKI, A. ; SURUJBALLI, O. E.; GOLSTEYN, T. E. et al. Sanitary status of oocysts and embryos collected from heifers experimentally exposed to *L. Borgpetersenii* serovar Hardjobovis. **Animal Reproduction Science**, v.54, p. 65-73, 1998.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICALDI, J.N. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infectious Diseases**, v.3, n.12, p.757-71. 2003.

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

BOILIN, C.A. Diagnosis and control of bovine leptospirosis. **Western Dairy Management Conference**, n. 6, p. 155-160, 2003.

BOVET, P.; YERSIN, C.; MERIEN, F. et al. Factors associated with clinical leptospirosis: a population-based case-control study in the Seychelles (Indian Ocean). **International Journal of Epidemiology**, v.28, n.3, p.583-90, 1999.

BRANGER, C.; BLANCHARD, B.; FILLONNEAU, C. et al. Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic *Leptospira* based on the gene *hap 1* encoding the hemolysin-associated protein-1. **FEMS Microbiology Letters**, n. 243, p. 437-445, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Brasília, 1952.

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

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia leptospirose: Diagnóstico e Manejo clínico**. Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Animais. **Espécies Bovinos e Bubalinos**. <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos> Acessado em 11 de outubro de 2014.

CASTRO, V.; AZEVEDO, S.S.; GOTTI, T.B. et al. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 1, p. 3-11, 2008.

CERQUEIRA, G.M.; PICARDEAU, M. A century of *Leptospira* strain typing. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 9, n. 5, p. 760–768, 2009.

CHIRATHAWORN, C.; JANWITTHAYANAN, W.; SEREEMASPUN, A. et al. Development of an immunochromatographic test with anti-LipL32-coupled gold nanoparticles for *Leptospira* detection. **New Microbiologica**, v. 37, n. 2, p. 201-207, 2014.

COELHO, E.L.M.; CHAVES, N.P.; SÁ, J.C. et al. Prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 36, n.2, p. 111-115, 2014.

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

COSTA, F.; RIBEIRO, G.S.; FELZEMBURGH, R.D.M. et al. Influence of Household Rat Infestation on *Leptospira* Transmission in the Urban Slum Environment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n.12, p. 1-8, 2014.

COSTA, F.; HAGAN, J.E.; CALCAGNO, J. et al. Global morbidity and mortality of leptospirosis: A systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, p. 3-19, 2015.

CRODA, J.N.; BARSIL, A.N.; PAGLIARI, C. et al. Leptospirosis pulmonary haemorrhage syndrome is associated with linear deposition of immunoglobulin and complement on the alveolar surface. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, n. 6, p. 593-599, 2009.

CULLEN, P.A.; XU, X.; MATSUNAGA, J. et al. Surfaceome of *Leptospira* spp. **Infection and Immunity**, v.73, n.8, p. 4853-4863, 2005.

CUMBERLAND, P.; EVERARD, C.O.; LEVETT, P.N. Assessment of the efficacy of an IgM-elisa and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.61, n.5, p.731-734. 1999.

ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.10, n.3, p.463 – 478, 1994.

ESFANDIARI, B.; POURSHAFIE, M.R.; GOUYA, M.M. et al. An epidemiological comparative study on diagnosis of rodent leptospirosis in Mazandaran Province, northern Iran. **Epidemiology and Health** , v. 37, p. 1-7, 2015.

EVANGELISTA, K. V.; COBURT, J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. **Future Microbiology**, v. 5, n. 9, p. 1413-1425, 2010.

EVERARD C.O.; BENNETT S.; EDWARDS C.N. et al. An investigation of some risk factors for severe leptospirosis on Barbados. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, p. 13–22, 1995.

FAINE, S. Virulence in *Leptospira* II. The growth in vivo of virulent *Leptospira icterohaemorrhagiae*. **British Journal of Experimental Pathology**, n. 38, p.8-14, 1957.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C. et al. *Leptospira* and leptospirosis. **Medicine and Science**, 2nd ed., Melbourne, Austrália:, 1999.

FAVERO, M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A. et al. Leptospirose bovina - variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.

FELZEMBURGH, R. D. M.; RIVEIRO, G.S.; COSTA, F. et al. Prospective Study of Leptospirosis Transmission in an Urban Slum Community: Role of Poor Environment in Repeated Exposures to the *Leptospira* Agent. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 5, p. 1–9, 2014.

FIGUEIREDO, A.O.; PELLEGRIN, A.O.; GONÇALVES, V.S.P. et al. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 29, v. 5, p. 375-381, 2009.

FREITAS, D. C.; LACERDA, J. R.; VEIGA, J. S. et al. 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.

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

GONÇALVES, D. D.; TELES, P. S.; REIS, C. R. ET AL. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 135-140, 2006.

GOUVEIA E., METCALFE, J.; CARVALHO, A.L.F. et al. Leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Diseases journal**, v. 14, n. 3, p. 505–508, 2008.

GUIMARÃES, M. C. Dissertação Epidemiologia e controle de leptospirose em bovinos. Papel do portador e o seu controle terapêutico. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 6-7, n. 1-4, p. 21-34, 1982.

(<http://www.posepidemiovps.fmvz.usp.br/pesquisa/dissertacoes-e-teses-sobre-leptospirose>)

HAAKE, D.A.; DUNDOO, M.; CADER, R. et al. Leptospirosis, water sports, and chemoprophylaxis. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, n.9, p.40-3. 2002.

HASHIMOTO, V.Y.; DIAS, J.A.; SPOHR, K.A.H. et al. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 99-105, 2012.

HERRMANN, G.O.; RODRIGUES, R.O.; CADER, R. et al. Soroprevalencia de leptospirose em bovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 131-138, 2012.

HESTERBERG, U.W.; BAGNALL, R., BOSCH, B, et al. A serological survey of leptospirosis in cattle of rural communities in the province of KwaZulu-Natal, South Africa. **The Journal of the South African Veterinary Association**, v.80, p. 45-49, 2009.

HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; MORAES, Z.M. et al. 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.

HOOKE, J.V. Characterization of Leptospiraceae by 16s DNA restriction fragment length polymorphisms. **Journal of General Microbiology**, n.139, p. 1681-1689, 1993.

HOKE, D.E.; EGAN, S.; CULLEN, P.A. et al. LipL32 is an Extracellular Matrix-Interacting Protein of *Leptospira* spp. and *Pseudoalteromonas tunicata*, **Infection And Immunity**, v. 76, n. 5, p. 2063–2069, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. www.ibge.gov.br. Acesso: em 24 mar. 2016.

JORGE,S.; HARTLEBENB,C. P.; SEIXAS, F. K. et al. *Leptospira borgpetersenii* from free-living white-eared opossum (*Didelphis albiventris*): First isolation in Brazil. **Acta Tropica**, v. 124, p. 147–151, 2012.

JULIANO, R.S.; CHAVES, N.S.T.; SANTOS, C.A. dos et al. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microrregião de Goiânia – GO. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 857-862, 2000.

KIKTENKO, V.S.; BALASHOV, N.G.; RODINA, V.N. Leptospirosis infection through insemination of animals. **Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology**, v. 21, n.2, p.207-13, 1976.

KO, A. I.; GOARANT, C.; PICARDEAU, M. "Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen." **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, n.10, p. 736-747, 2009.

KURIBARA, I.Y, LANGONI, H., CABRAL, K.G. *et al.* Serological survey for leptospira and toxoplasma antibodies en capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Sociedade Matogrossense do Sul de Medicina Veterinária, 1996. p.287.

LANGONI, H. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. São Paulo, v.2, p. 52 - 58, 2001.

LAMBERT, A.; PICARDEAU, M., HAAKE, D.A. et al. FlaA proteins in *Leptospira interrogans* are essential for motility and virulence but are not required for formation of the flagellum sheath. **Infection and Immunity**, v.80, n.6, p-2019-2025, 2012.

LEVETT, P.N.; WHITTINGTON, C.U. Evaluation of the indirect hemagglutination assay for diagnosis of acute leptospirosis. **Journal of Clinical Microbiology**, n. 36, p. 11–14, 1998.

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

LEHMANN, J. S.; MATTHIAS, M. A.; VINETZ, J. M. Leptospiral Pathogenomics. **Pathogens**, v. 3, n. 2, p. 280-308, 2014.

LIAO, S.; SUN, A.; OJCIUS, D.M. ET AL. Inactivation of the *fliY* gene encoding a flagellar motor switch protein attenuates mobility and virulence of *Leptospira interrogans* strain Lai. **BMC Microbiology**, v. 9, n. 253, p.1563–1576, 2009.

LILENBAUM, W. Atualização em leptospiroses bovinas. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 9-13, 1996.

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.

LILENBAUM, W.; VARGES, R.; MEDEIROS, L. et al. Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.84, p.14–17, 2008.

LONDEREE, W.A. Leptospirosis: The Microscopic Danger in Paradise. **Hawai'i Journal of Medicine & Public Health**, v.73, n.11, Supl. 2, 2014.

LUX, R.; MILLER, J.N.; PARK, N. et al. Motility and Chemotaxis in Tissue Penetration of Oral Epithelial Cell Layers by *Treponema denticola*. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 10, p. 6276–6283, 2001.

MACIEL, E.A.P.; ATHANAZIO, D.A.; REIS, E.A.G. et al. High serum nitric oxide levels in patients with severe leptospirosis. **Acta Tropica**, v. 100, p. 256-260, 2006.

MACIEL, E.A.P.; CARVALHO, A.L.F.; NASCIMENTO, S.F. et al. Household Transmission of *Leptospira* Infection in Urban Slum Communities. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n.1, p 1-6, 2008.

MAGAJEVSKI, F.S.; GÍRIO, R.J.S.; MEIRELLES, R.B. Pesquisa de leptospira em fetos de vacas abatidas no estado de São Paulo, Brasil. **Arquivo Instituto Biológico**, v. 74, n. 2, p. 67-72, 2007.

MARQUES, A.L.; ROCHA, W.V.; DE BRITO, W.M.E. et al. Prevalência de anticorpos anti-*leptospira* spp. E aspectos epidemiológicos da infecção em bovinos do estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 607-617, 2010.

MARTINS, G.; LILENBAUM, W. The panorama of animal leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil, regarding the seroepidemiology of the infection in tropical regions. **BMC Veterinary Research** v.9, n.237, p. 1-7, 2013.

MARTINS, G.; LOUREIRO, A . P.; HAMOND, C. et al. First isolation of *Leptospira noguchii* serogroups Panama and Autumnalis from cattle. **Epidemiology & Infection**, v. 4, p. 1-4, 2014.

MAXIE, M.G. 1993. **The urinary system**, p.447-538. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (Eds), *Pathology of Domestic Animals*. 4th ed. Academic Press, London.

MCBRIDE, A.J.A.; ATHANAZIO, D.A.; REIS, M.G. et al. Leptospirosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, n. 18, p.376-386, 2005.

MEDEIROS, F.R.; SPICHLER, A.; ATHANAZIO, D.A. Leptospirosis-associated disturbances of blood vessels, lungs and hemostasis. **Acta Tropica**, n. 115, p. 155-162, 2010.

MINEIRO, A.L.B.B.; VIEIRA, R.J.; COSTA, E.A. et al. Serology, polymerase chain reaction and histopathology for leptospirosis in samples collected at slaughter from dairy cows of Parnaíba region, state of Piauí, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 10, p. 859-866, 2011.

MONAHAN, A.M.; MILLER, I.S.; NALLY, J.E. Leptospirosis: risks during recreational activities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n.3, p. 707-716, 2009.

MUGHINI-GRAS, L.; BONFANTI, L.; NATALE, A . et al. Application of an integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds. **Epidemiology & Infection**, n. 142, p. 1172–1181, 2014.

NAKAMURA, S.; ADACHI, Y.; GOTO, T. Improvement in motion efficiency of the spirochete *Brachyspira pilosicoli* in viscous environments. **Biophysical Journal**, v. 90, p. 3019–3026, 2006.

NALLY, J.E.; MULLEN, W.; CALLANAN, J.J. et al. Detection of urinary biomarkers in reservoir hosts of leptospirosis by capillary electrophoresis mass spectrometry. **Proteomics Clinical Applications**, v. 9, n. 5-6, p. 543-551, 2015.

NÁJERA, S.; ALVIS, N.; BABILONIA, D. et al. Leptospirosis ocupacional en una región del Caribe colombiano. **Salud Pública México**, v. 47, n. 3, p. 240-244, 2005.

NARDI JÚNIOR, G.; RIBEIRO, M.G.; VASCONCELLOS, S.A. et al. Perfil de aglutininas anti-*Leptospira* em bezerras búfalas vacinadas com bacterina

pentavalente comercial contra leptospirose. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 58, n. 3, p. 299 – 304, 2006.

OLIVEIRA, F.C.S. **Leptospirose bovina no estado da Bahia, Brasil. Prevalência, sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco.** 2008. 123f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, F.C.S.; AZEVEDO, S.S.; PINHEIR, S.R. et al. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado da Bahia. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 76, n. 4, p. 539-546, 2009.

OLIVEIRA, F.C.S.; AZEVEDO, S.S.; PINHEIRO, S.R et al. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 30, v. 5, p. 398-402, 2010.

PARMA, A.E.; SANZ, M.E.; LUCCHESI, P.M. et al. Detection of na antigenic protein of *Leptospira interrogans* which shares epitopes with the equine córnea and lens. **The Veterinary Journal**, n. 153, p. 75-79, 1997.

PELLEGRIN, A.O.; GUIMARÃES, P.H.S.; SERENO, J.R.B. et al. Prevalência da leptospirose em bovinos do pantanal mato-grossense. **Comunicado técnico, Embrapa**, n. 22, p. 1-9, 1999.

PENA-MOCTEZUMA, A.; BULACH, D.M.; KALAMBAHETI, T. et al. Comparative analysis of the LPS biosynthetic loci of the genetic subtypes of serovar Hardjo: *Leptospira interrogans* subtype Hardjoprajitno and *Leptospira borgpetersenii* subtype Hardjobovis . **FEMS Microbiology Letters**, v. 177, n. 2, p. 319-326, 1999.

PERROCHEAU, A.; PEROLAT P. Epidemiology of leptospirosis in New Caledonia (South Pacific): a one-year survey. **European Journal of Epidemiology**, v. 13, p. 161–167, 1997.

PETRAKOVSKY, J.; BIANCHI, A.; FISUN, H. et al. Animal Leptospirosis in Latin America and the Caribbean Countries: Reported Outbreaks and Literature Review (2002–2014). **International Journal Environmental Reserach Public Health**, v. 11, n. 10, p. 10770-10789 , 2014.

PIMENTA, C.L.R.M.; CASTRO, V.; CLEMENTINO, I.J. et al. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 34, v. 4, p. 332-336, 2014.

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.

REIS, R.B.; RIBEIRO, G.S.; FELZEMBURGH, R.D.M. et al. Impact of Environment and Social Gradient on *Leptospira* Infection in Urban Slums. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 4, p. 1-10, 2008.

RENDE, J.C.; ÁVILA, F.A. Leptospirose bovina: perfil epidemiológico e dinâmica da infecção como zoonose. / Bovine Leptospirosis: epidemiologic profile and infection dynamics as zoonosis. **Ars Veterinaria**, v. 19, n. 1, p. 71-79, 2003.

RICALDI, J.N.; FOUTS, D.E.; SELENGUT, J.D. et al. Whole Genome Analysis of *Leptospira licerasiae* Provides Insight into Leptospiral Evolution and Pathogenicity. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, n. 6, v. 10, p. 1-16, 2012.

RISTOW, P.; BOURHY, P.; KERNEIS, S. et al. Biofilm formation by saprophytic and pathogenic leptospires. **Microbiology**, v. 154, n. 5, p.1309-17, 2008.

RUSSELL, C.J.; PALMER, R. Differentiation Of Pathogenic And Saprophytic Leptospire With 8-Azaguanine. **Journal of Bacteriology** v. 88, n. 6, p. 1618-1623, 1964.

SAKHAEI, E.; ABDOLLAHPOUR, G.R.; BOLOURCHI, M. et al. Serologic and bacteriologic diagnosis of bovine leptospirosis in Tehran suburb dairy farms **Journal of Veterinary Research, University of Shiraz**, v. 8, n. 4, p. 325-332, 2007.

SPICHLER, A., KO, A.I., SILVA, E.F. et al. Reversal of renal tubule transporter downregulation during severe leptospirosis with antimicrobial therapy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, p. 1111-1119, 2007.

SHIMIZU, T., E.; MATSUSAKA, K.; TAKAYANAGI, T. et al.1987. Biological activities of lipopolysaccharide-like substance (LLS) extracted from *Leptospira interrogans* serovar *canicola* strain Moulton. **Microbiology and Immunology**, v. 31, p. 727-735, 1987.

- SILVA F.J., MATHIAS L.A., MAGAJEVSKI F.S. et al. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal/SP. **Ars Veterinária**, v. 26, n. 1, p. 17-25, 2010.
- SILVA, F.J.; CONCEIÇÃO, W.L.F; FAGLIARI, J.J. et al. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 303-312, 2012.
- SMYTHE, L.; SMITH, I. L.; SMITH, G. A. et al. A quantitative PCR (TaqMan) assay for pathogenic *Leptospira* spp. **BMC Infectious Diseases**, v. 2, n. 13, p. 1-7, 2002.
- SONRIER, C.; BRANGER, C.; MICHEL, V. et al. Evidence of cross-protection within *Leptospira interrogans* in an experimental model. **Vaccine**, n. 19, v.1, p. 86-94, 2000.
- SOTO, F. R.; AZEVEDO, S. S.; MORAIS, Z. M. et al. Detection of leptospires in clinically healthy piglets born from sows experimentally infected with leptospira interrogans serovar Canícola. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 582-586, 2006.
- SOUZA, V.K.; PESSÔA-SILVA, M.C.; MINOZZO, J.C. et al. Prevalência da cisticercose bovina no estado do Paraná, sul do Brasil: avaliação de 26.465 bovinos inspecionados no SIF 1710. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 4, p. 675–684, 2007.
- SPICHLER, A.; KO, A.I.; SILVA, E.F. et al. Reversal of renal tubule transporter downregulation during severe leptospirosis with antimicrobial therapy. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 6, n. 77, p. 1111-1119, 2007.
- SUEPAUL, S.M.; CARRINGTON, C.V.; CAMPBELL, M. et al. Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. **Tropical Animal Health and Production**, n. 43, p. 367–375, 2011.
- TABATA R., SCAVINI NETO H., ZUANAZE M.A.F. et al. Cross neutralizing antibodies in hamsters vaccinated with leptospiral bacterins produced with three serovars of serogroup Sejroe. **Brazilian Journal Microbiology**, n. 33, p. 265-268, 2002.

- TALPADA, M.D.; GARVEY, N.; SPROWLS, R. et al. Prevalence of leptospiral infection in Texas cattle: implications for transmission to humans. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 3, n.3, p. 141-147, 2003.
- TAJIKI, H.; SALOMAO R. Association of plasma levels of tumor necrosis factor alpha with severity of disease and mortality among patients with leptospirosis. **Clinical Infectious Diseases**, n. 23, p. 1177-1178, 1996.
- Thiermann A.B. Incidence of leptospirosis in the Detroit rat population. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, n. 26, p. 970-974, 1977.
- THIERMANN, A.B. The Norway rat as a selective chronic carrier of *Leptospira icterohaemorrhagiae*. **Journal of Wildlife Diseases**, n. 17, p. 39-43, 1981.
- VAN DE WEYER, L.M.; HENDRICK, S.; ROSENGREN, L. et al. Leptospirosis in beef herds from western Canada: Serum antibody titers and vaccination practices. **Canadian Veterinary Journal**, v. 52, n. 6, p. 619–626, 2011.
- VASCONCELLOS S.A. Laboratory diagnosis of leptospirosis in animals. In: Anais Eletrônicos Simpósio Internacional sobre leptospira y leptospirosis en las Americas, México. 2004. Disponível em: <<http://www.vps.fmvz.usp.br/>>. Acesso em: 24 mar. 2015.
- VIEGAS, S.A.R.A.; CALDAS, E.M.; OLIVEIRA, E.M.deD. 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.
- VINETZ, J. M. Leptospirosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.14, n.5, Oct, p.527-38. 2001.
- VIJAYACHARI, P.; SEHGAL, S.C.; GORIS, M.G.A. et al. *Leptospira interrogans* serovar Valbuzzi: a cause of severe pulmonary haemorrhages in the Andaman Islands. **Journal of Medical Microbiology**, v. 52, n. 10, p. 913-918. 2003.
- VIJAYACHARI, P.; SUGUNAN, A .P.; SHRIRAM, A.N. Leptospirosis: an emerging global public health problem. **Journal of Biosciences**, v. 33, n. 4, p. 557–569, 2008.

XIÃO, D.; ZHANG, C.; ZHANG, H.; LI, X. et al. A novel approach for differentiating pathogenic and non-pathogenic *Leptospira* based on molecular fingerprinting.

Journal of Proteomics, v. 119, p.1–9, 2015.

ZACARIAS, F.G.S.; VASCONCELLOS, S.A.; ANZAI, E.K. et al. Isolation of leptospira Serovars Canicola and Copenhageni from cattle urine in the state of Paraná, Brazil.

Brazilian Journal of Microbiology., v. 39, n.4, p. 744–748, 2008.

WILLIAMS, H.A.; BERNARD, D.V.M. Leptospirosis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 9, n. 2, p. 435 – 443, 1995.

WHO. World Health Organization. **Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control.** Malta, WHO 2003.

WOHL J.S. Canine leptospirosis. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v. 18, p. 1215-1241, 1996.

YAN, K.T.; ELLIS, W.A.; MACKIE, D.P. et al. Development of Elisa to detect antibody to a protective lipopolysaccharide fraction of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo in cattle. **Veterinary Microbiology.** v. 69, p. 173 – 187, 1999.

YENER, Z.; KELES, H. Immunoperoxidase and histopathological examinations of leptospiral nephritis in cattle. **Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine**, v. 48, n. 7, p. 441 – 447, 2001.

ANEXOS

ANEXO I

Leptospirose Bovina – Questionário Epidemiológico.

1 – Identificação

Município: _____

Região _____ UF: _____

Proprietário: _____ Propriedade:

Coordenadas: Lat ___ ° ___ ' Lon ___ ° ___ ' Altitude: _____

Data da visita: ___ / ___ / _____ Outros:

2 – Características da criação

2.1 Bovinos existentes:

Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)			
	0-6	6-12	12-24	>24	0-6	6-12	12-24	>24
Total								

2.2 Raça Predominante: _____

2.3 Tipo de exploração: ___ Corte ___ Leite ___ Mista

Caso tenha vacas leiteiras qual o número de ordenhas diárias? _____

Qual o tipo de ordenha? _____

Produção leiteira: N° de vacas em lactação: _____

Produção diária em litros: _____

2.4 Tipo de criação: ___ Confinamento ___ Semi-confinamento ___ Extensivo

Caso tenha algum tipo de confinamento qual a suplementação?

2.5 Tipo de reprodução: Monta natural I.A. I.A. + Monta natural
Outro

2.6 Outras espécies na propriedade: Ovino/Caprino Equídeos
Suínos

Aves Cão/Gato

2.7 Espécies silvestres de vida livre: Não Sim

Qual(is)? _____

2.8 Casos de aborto? Não Sim Quando? _____ Período de
gestação? _____

2.9 O que fez com a placenta/feto? enterra/fossa/queima alimenta outros
animais

Outro O

que? _____

2.10 Vacinação, quais? Aftosa Brucelose Raiva Leptospirose
BVD/RVB

2.11 Onde compra os animais? Exposição Leilão/Feira Comerciante
comum

Diretamente de outra fazenda.

2.12 Local de abate dos animais: Na fazenda Abatedouro sem fiscalização

Abatedouro com fiscalização Não
abate.

2.13 Fonte de água da fazenda: aguada natural represa rio/riacho

bebedouro áreas alagadiças.

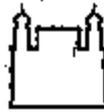
2.14 Compartilha pasto com outras fazendas? Não Sim

Qual?

2.15 Aluga pasto em alguma época do ano? ____ Não ____ Sim

Onde?

2.16 Tem assistência veterinária? ____ Não ____ Sim De que tipo? ____
Cooperativa ____ Particular



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

PROTOCOLO: 012/2014

PROJETO: "OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM BOVINOS ABATIDOS EM ABATEDOURO FRIGORÍFICO NO ESTADO DA BAHIA"

COORDENADOR: Dr. Daniel Abenaur Athenázio

Quantitativo de Animais Aprovados	
Espécie/Linhagem	Nº de Animais
Bovinos	400

Certificamos que na presente versão este projeto está de acordo com os princípios de ética na pesquisa com animais adotado pela Lei 11.784/2008, foi aprovado e licenciado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-CPqGM) em 01/08/2014, a ter validade até 01/08/2016.

The present version of the above referenced project agrees with the ETHICAL PRINCIPLES IN ANIMAL RESEARCH adopted by the Brazilian law 11 784/2008 and was approved and licensed by the ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH of the CPqGM-FIOCRUZ at 08/01/2014, being valid until 08/01/2016.

Salvador, 04 de agosto de 2014.

Maria da Conceição Chagas de Almeida
MARIA DA CONCEIÇÃO CHAGAS DE ALMEIDA
 Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Maria da Conceição C. Almeida
 Pesquisadora Associada
 Matr. 133688E
 CPqGM - FIOCRUZ