

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DE LEPTOSPIROSE
BOVINA NO ESTADO DO MARANHÃO**

Felipe Jorge da Silva
Médico Veterinário

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL
2011

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE
MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DE LEPTOSPIROSE
BOVINA NO ESTADO DO MARANHÃO**

Felipe Jorge da Silva

Orientador: Prof. Dr. Luis Antonio Mathias

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva).

Jaboticabal - São Paulo
2011

S586p Silva, Felipe Jorge
Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão / Felipe Jorge Silva. -- Jaboticabal, 2011
xiii, 53 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2001
Orientador: Luis Antonio Mathias
Banca examinadora: José Jurandir Fagliari, Fernanda Senter Magajevski
Bibliografia

1. Bovinos. 2. Estado do Maranhão. 3. Prevalência. 4. *Leptospira* spp. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619.614.4:636.2

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

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FELIPE JORGE DA SILVA - nascido em 13 de janeiro de 1984, no município de Campinas - SP, filho de Francisco Antonio da Silva e Magali Aparecida Jorge da Silva. Ingressou em fevereiro de 2004 no Curso de Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal (FCAV - Unesp - Jaboticabal), concluindo-o em dezembro de 2008. Em março de 2009 iniciou o Curso de Mestrado em Medicina Veterinária, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV - Unesp - Jaboticabal.

Eternas lembranças

Infância vivida até o último raio de sol,
infância sonhada até a última luz do luar.

Caminho eterno, dos sonhos, caminhos do amor,
estrada da vida, momentos de pura emoção.

Brisa serena, alvorada que vive a cantar
sons de alegria, vozes, sorrisos de paz.

Vento a galope, alegria disposta a chorar,
estrada querida, tristeza esquecida ao andar.

Estrelas que guiam para uma passagem feliz,
luz na estrada, por traz da curva sorrir.

Dores curadas, vidas marcadas de cor,
cores semeiam flores e frutos do amor.

Águas correntes, silêncio pacificador,
rio que transborda, embeleza a imaginação.

Olhos olhando olhares, paraíso de olhar,
vista de um único mundo, reflexo, calor.

Infância vivida até o último raio de sol,
infância sonhada até a última luz do luar.

Águas transportam momentos para nunca esquecer.
Caminhos eternos, lembranças da infância feliz.

Felipe Jorge da Silva

**Dedico esse trabalho a minha avó
Emily, que durante meu mestrado deixou
o céu muito mais estrelado.**

AGRADECIMENTOS

A meus pais e a minha irmã, eternos e fiéis companheiros, sem os quais minha caminhada nunca existiria.

Ao professor Mathias. Sinto-me honrado em ter como orientador um Médico Veterinário de tamanha inteligência, ética e capacidade profissional.

À AGED-MA, por ter proporcionado a realização deste trabalho.

À CAPES, pelo apoio durante todo o mestrado.

Ao técnico Assis, pela paciência e pela companhia extremamente agradável no dia a dia das atividades de laboratório.

À Talita, pela importante presença até mesmo nos momentos mais difíceis do mestrado.

Aos meus amigos Ibrahim e Leonardo. Fiéis e divertidos companheiros de apartamento, de graduação, de pós-graduação e de toda a vida.

Ao meu amigo Carlos, "Cuiabano". Longos momentos de inspiração científica.

Ao professor Jurandir e família. Saudável amizade.

Aos professores e funcionários do departamento de Medicina Veterinária Preventiva da FCAV-Unesp Jaboticabal.

A todos que, direta ou indiretamente, participaram na realização deste trabalho.

À FCAV-Unesp Jaboticabal. Minha faculdade, meu orgulho, minha vida.

SUMÁRIO	Página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE SIGLAS.....	xi
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
3 OBJETIVO.....	10
3.1 Geral.....	10
3.2 Específicos.....	10
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1 Área do estudo.....	11
4.2 Marco amostral.....	11
4.2.1 Municípios e propriedades amostradas.....	12
4.2.2 Escolha das amostras.....	14
4.2.3 Colheita das amostras.....	14
4.3 Exames sorológicos.....	15
4.3.1 Preparo dos antígenos de <i>Leptospira</i> spp.....	15
4.3.2 Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM).....	15
4.4 Questionário e análise dos fatores de risco.....	17
4.5 Banco de dados.....	18
4.6 Análise dos dados.....	18
4.6.1 Caracterização epidemiológica.....	18
4.6.2 Prevalência de focos de leptospirose bovina no Estado do Maranhão.....	19
4.6.3 Prevalência de animais sororreagentes no Estado do Maranhão.....	20
4.6.4 Diferença entre os circuitos pecuários no que se refere à prevalência da leptospirose em bovinos e em rebanhos do Estado do Maranhão.....	21

4.6.5 Estudo dos fatores de risco de leptospirose bovina.....	21
5 RESULTADOS.....	23
6 DISCUSSÃO.....	32
7 CONCLUSÃO.....	41
8 BIBLIOGRAFIA.....	44
Anexo I.....	52
Anexo II.....	53

LISTA DE TABELAS		Página
TABELA 1.	Propriedades amostradas do total de propriedades com atividade reprodutiva e fêmeas amostradas do total de fêmeas com idade \geq 24 meses por circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	13
TABELA 2.	Propriedades analisadas do total de propriedades amostradas por circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	13
TABELA 3.	Soroprevalência (animais reagentes na SAM a pelo menos uma sorovariedade) de <i>Leptospira</i> spp. em fêmeas bovinas em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	23
TABELA 4.	Diferenças entre as prevalências de leptospirose em fêmeas bovinas dos circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	24
TABELA 5.	Soroprevalência (pelo menos quatro animais reagentes na SAM) de <i>Leptospira</i> spp. em propriedades em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	24
TABELA 6.	Diferenças entre as prevalências de leptospirose em propriedades dos circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	25
TABELA 7.	Animais positivos na SAM às sorovarietades Wolffii e/ou Hardjo do total de animais testados e prevalência dessas sorovarietades nos animais em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	27
TABELA 8.	Diferenças entre as prevalências das sorovarietades de <i>Leptospira</i> spp. Wolffii e/ou Hardjo em fêmeas bovinas dos circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	27
TABELA 9.	Propriedades positivas na SAM às sorovarietades Wolffii e/ou Hardjo do total de propriedades testadas e prevalência dessas sorovarietades nas propriedades em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	28
TABELA 10.	Diferenças na prevalência das sorovarietades de <i>Leptospira</i> spp. Wolffii e/ou Hardjo em propriedades entre os circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009)	29
TABELA 11.	Análise univariada dos possíveis fatores de risco de leptospirose bovina em rebanhos com atividade reprodutiva no Estado do Maranhão (2005 - 2009)	30
TABELA 12.	Modelo final de regressão logística multivariada para os possíveis fatores de risco de leptospirose bovina em rebanhos com atividade reprodutiva no Estado do Maranhão (2005 - 2009)	31

	LISTA DE QUADROS	Página
QUADRO 1.	Soroviedades de <i>Leptospira</i> spp. utilizadas neste trabalho, de acordo com seu sorogrupo e a sigla utilizada nas tabelas de resultados	17
QUADRO 2.	Circuitos produtores do Estado do Maranhão e seus respectivos pesos estatísticos. Maranhão (2005 - 2009).	21

LISTA DE FIGURAS**Página**

FIGURA 1.	Soroviedades de <i>Leptospira</i> spp. contra as quais se encontrou título de anticorpos pela SAM no Estado do Maranhão e suas respectivas porcentagens de ocorrência. Maranhão (2005 - 2009)	26
-----------	---	----

LISTA DE SIGLAS

AGED-MA	Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão
EMJH	Ellighausen, McCullough, Johnson e Harris
FCAV	Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal
GL	Grau de liberdade
IA	Inseminação artificial
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
OR	<i>Odds ratio</i>
PIB	Produto Interno Bruto
PNCETB	Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose
SAM	Soroaglutinação microscópica
SUS	Sistema Único de Saúde
Uema	Universidade Estadual do Maranhão
Unesp	Universidade Estadual Paulista
χ^2	Qui-quadrado

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO DE LEPTOSPIROSE BOVINA NO ESTADO DO MARANHÃO

RESUMO - Foram investigados a prevalência e os fatores de risco da leptospirose bovina no Estado do Maranhão. O Estado foi dividido em quatro circuitos amostrais com base em parâmetros de produção distintos que variam conforme os diferentes sistemas de produção, as práticas de manejo, a finalidade de exploração, o tamanho médio dos rebanhos e os sistemas de comercialização. Objetivou-se estudar as características epidemiológicas da leptospirose bovina no Estado do Maranhão, de modo a determinar a prevalência em bovinos e em rebanhos, detectar as sorovariedades de *Leptospira* spp. presentes, identificar os fatores de risco eventualmente associados à leptospirose em bovinos e diferenciar os circuitos pecuários entre si no que se refere à prevalência de leptospirose. A pesquisa foi realizada em 136 propriedades rurais pertencentes ao circuito I, no qual 841 fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses foram analisadas; 238 do circuito II, com 2.582 fêmeas analisadas; 122 do circuito III, com 869 fêmeas analisadas; e 77 do circuito IV, com 540 fêmeas analisadas; no total, 573 propriedades e 4.832 fêmeas foram estudadas. A presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi verificada pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM). Das 4.832 fêmeas bovinas analisadas, 1.904 (35,94%; IC 95% = 33,01% - 38,98%) foram reagentes. Das 573 propriedades analisadas, 380 (64,81%; IC 95% = 61,10% - 68,35%) foram consideradas positivas. As sorovariedades Hardjo e Wolffi foram as mais frequentes em todo o Estado. O circuito III foi o que apresentou menor prevalência de leptospirose em todas as comparações. As variáveis identificadas como fatores de risco de leptospirose foram: presença de equinos ($p = 0,000$), presença de capivaras ($p = 0,034$) e rebanhos bovinos com 32 ou mais fêmeas adultas ($p = 0,002$).

Palavras-Chave: Bovinos, Estado do Maranhão, fatores de risco, *Leptospira* spp., prevalência, soroaglutinação microscópica

PREVALENCE AND RISK FACTORS OF BOVINE LEPTOSPIROSIS IN THE STATE OF MARANHÃO

SUMMARY - Prevalence and risk factors of bovine leptospirosis in the state of Maranhão were investigated. Based on production parameters that vary across different production systems, management practices, the purpose of exploitation, the average size of herds and market systems, the state was divided in four sampling circuits. The study aimed to investigate the epidemiological features of bovine leptospirosis in the state of Maranhão, in order to determine the prevalence of the infection in cattle and herds, to determine the occurrence of serovars of *Leptospira* spp., to identify risk factors associated with leptospirosis in cattle and to differentiate the livestock circuits itself regarding the prevalence of leptospirosis. The survey was conducted in 136 herds in the circuit I, in which 841 \geq 24 months old females were analyzed; 238 in the circuit II and 2,582 females were analyzed; 122 in the circuit III and 869 females were analyzed; 77 in the circuit IV and 540 females were analyzed; a total of 573 herds and 4,832 females were analyzed. The presence of antibodies against *Leptospira* spp. was verified by microscopic agglutination test (MAT). Of the 4,832 cows examined, 1,904 (35.94%, CI 95% = 33.01% - 38.98%) were positive. Of the 573 herds, 380 (64.81%, CI 95% = 61.10% - 68.35%) were positive. Serovars Hardjo and Wolffi were the most frequent in the state. The circuit III showed the lowest prevalence of leptospirosis in all comparisons. The variables presence of horses ($p = 0.000$), presence of capybaras ($p = 0.034$) and herds with up to 32 adult females ($p = 0.002$) were identified as risk factors for leptospirosis.

Keywords: Cattle, Maranhão, risk factors, leptospirosis, prevalence, microscopic agglutination

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma importante zoonose em termos de saúde pública, com uma incidência elevada em períodos chuvosos, principalmente em regiões com baixos níveis socioeconômicos, nas quais a população humana tem maior contato com água de esgoto, inundações, ou seja, grandes chances de se infectar pelo contato com urina de animais infectados, disseminada facilmente pela água. Dados do Sistema Único de Saúde (SUS) apontam um gasto anual de R\$ 1,2 milhão para o tratamento da leptospirose humana.

Além da saúde pública, a leptospirose é uma zoonose de grande relevância na saúde animal, pois se reflete em queda de produção, abortamentos, nascimento de crias fracas, natimortos e elevadas perdas econômicas com o tratamento dos doentes.

Mesmo existindo um grande número de trabalhos sobre a frequência de bovinos reagentes à leptospirose bovina em diversos estados brasileiros, são poucos os que utilizam amostras aleatórias. Além disso, ainda não há estudos sobre a prevalência e os fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão.

O Maranhão é uma das 27 unidades federativas do Brasil. Está localizado no oeste da região Nordeste e tem como limite norte o Oceano Atlântico, o Piauí a leste, Tocantins ao sul e sudoeste, e o Pará a oeste. O Estado ocupa uma área de 331.983,293 Km², com uma população estimada de 6.367.138 de pessoas, distribuídas em 217 municípios. É o 4º estado mais rico (PIB) do Nordeste e a 16ª maior economia (PIB) do Brasil (IBGE, 2009). A economia do Maranhão está baseada em uma agricultura tradicional, porém com baixo padrão tecnológico. A pecuária bovina destaca-se como a principal atividade econômica do setor agrícola. O efetivo bovino do Estado era, conforme o Censo Agropecuário de 2006, composto por 5.645.657 cabeças, distribuídas em 92.691 estabelecimentos, e o efetivo bubalino era formado por 51.153 animais, em 1.616 propriedades (IBGE, 2006). Mesmo assim, dados do Censo Agropecuário de 1995-1996 revelaram que somente 16,8% dos estabelecimentos efetuavam controle de doenças em seus animais. O fato de o Maranhão não dispor de um sistema de defesa e sanidade animal mais eficiente tem sido um fator limitante para a exportação de carne para outros estados e para o exterior. Neste contexto, um estudo

da situação epidemiológica da leptospirose em rebanhos bovinos no Estado do Maranhão assume importância na busca de informações que possam reduzir os prejuízos econômicos causados por essa doença.

O presente estudo foi realizado com base em uma metodologia amostral, que permitiu representar a prevalência da leptospirose bovina no Estado do Maranhão de maneira fidedigna.

2.REVISÃO DE LITERATURA

A leptospirose é uma zoonose infectocontagiosa causada por espécies patogênicas de bactérias do gênero *Leptospira* spp. (OIE, 2006). Já foi diagnosticada em todos os continentes, porém taxas elevadas de ocorrência são observadas na América Latina, África e Ásia, pois as condições ambientais favorecem a persistência e a disseminação desse agente etiológico (BLENDEN, 1976).

Para a saúde animal, as consequências dessa infecção estão relacionadas à esfera econômica, tendo em vista o envolvimento de animais de produção como bovinos, ovinos, caprinos, suínos e equinos (BRASIL, 1995). Nessas espécies, as perdas econômicas decorrem principalmente de transtornos reprodutivos como infertilidade, abortamento, nascimento de crias fracas e diminuição temporária da produção leiteira (CERVANTES et al., 2002).

Sua ocorrência está relacionada às precárias condições de infraestrutura sanitária, reflexo da baixa condição socioeconômica observada em nosso país (BRASIL, 2005). Além de ser uma doença de grande relevância para a saúde pública, é propensa a ocorrer em veterinários, trabalhadores de abatedouro e tratadores de animais, devido ao estreito contato com as fontes de infecção (ACHA & SZYFRES, 2001). As inundações favorecem a disseminação e a persistência do agente causal no ambiente, facilitando a ocorrência de surtos, uma vez que as águas das chuvas e dos rios misturam-se às águas de esgoto geralmente contaminadas com urina de roedores (BRASIL, 2005).

Num estudo da distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, BARCELLOS et al. (2003) identificaram áreas de maior risco e possíveis componentes ecológicos que interferiam na transmissão da leptospirose. As maiores taxas de ocorrência da doença foram verificadas em áreas litorâneas, de baixa altitude e em áreas com uso do solo predominantemente agrícola, de lavoura irrigada. Esses locais, segundo o estudo, possuem características ecológicas favoráveis à proliferação de roedores, favorecendo a transmissão de *Leptospira* spp.

Com o objetivo de analisar os fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas, DELBEM et al. (2004) apontaram a existência de áreas alagadiças próximas às instalações, o uso de bebedouro tipo canaleta e a inexistência de higienização do reservatório de água.

Por provocar manifestações bastante inespecíficas, o diagnóstico clínico é dificultado, exigindo, usualmente, a confirmação laboratorial (PINTO, 1997). O método de diagnóstico laboratorial preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) é a soroglutinação microscópica (SAM) (CUBAS et al., 2007).

SOUZA-JUNIOR et al. (2006), pesquisando anticorpos da classe IgM contra *Leptospira interrogans* em animais silvestres de vida livre do Estado do Tocantins, observaram que 16,1% (46 de 286) das amostras de soro de macacos-prego (*Cebus apella*) foram positivas às sorovarietades Pomona, Brasiliensis, Mini, Swajizak, Grippothyposa, Sarmin, Fluminense, Autumnalis, Hebdomandis, Guaratuba, Javanica e Icterohaemorrhagiae; entre as 82 amostras de soro de bugios (*Alouatta caraya*), duas (2,4%) foram positivas às sorovarietades Mangus e Fluminense. Das 31 de quatis (*Nasua nasua*), quatro (12,9%) foram positivas às sorovarietades Javanica e Fluminense. Duas das 10 (20%) amostras de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) foram positivas às sorovarietades Brasiliensis e Fluminense.

Em relação à ordem Rodentia, o rato-de-esgoto (*Rattus norvegicus*) é importante reservatório da sorovarietade Icterohaemorrhagiae, sorovarietade esta que também é frequentemente encontrada no preá (*Cavia aperae azarae*). O rato-d'água (*Nectomys squamipes*) é o principal reservatório da sorovarietade Australis. Já em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), as sorovarietades Hardjo, Pomona e Grippotyphosa são

as mais verificadas. Em cutias (*Dasyprocta spp.*), observa-se predominantemente a sorovariedade Castellonis (CUBAS et al., 2007).

Entre os marsupiais, os gambás (*Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Didelphis marsupialis*) são reservatórios de várias sorovariedades, tais como Ballum, Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Szwajizam e Grippytyphosa (CUBAS et al., 2007). SILVA et al. (2010), em um levantamento de anticorpos contra *Leptospira spp.* em animais domésticos e silvestres presentes no Campus universitário da FCAV Unesp de Jaboticabal, encontraram as sorovariedades Patoc, Autumnalis e Icterohaemorrhagiae em gambás (*Didelphis albiventris*).

Sorovariedades como Patoc, Shermani, Hebdomadis, Autumnalis, Pyrogenes, Australis, Castellonis, Sentot e Andamana são relacionadas com animais silvestres (SANTA ROSA et al., 1975; SANTA ROSA et al., 1980).

Num estudo sobre a soroprevalência de aglutininas contra *Leptospira spp.* em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, HERRMANN et al. (2004) verificaram que, das 1.360 amostras de soro testadas, 466 (34,26%) foram reagentes pela prova de soroaglutinação microscópica SAM. As sorovariedades encontradas foram: Hardjo (28,4%), Sentot (16,8%), Hardjoprjitno (14,5%), Fortbragg (6,3%), Wolffii (4,7%), Pyrogenes (1,8%), Australis (1,6%), Pomona (1,6%), Serjoe (2,2%), Castellonis (1,8%), Hebdomadis (1,3%), Icterohaemorrhagiae (0,5%), Grippytyphosa (0,7%), Canicola (0,6%), Tarassovi (0,6%), Bratislava (0,29%) e Autumnalis (0,2%).

No intuito de investigar a prevalência de leptospirose em cães da cidade de Campina Grande, Paraíba, BATISTA et al. (2005) examinaram amostras de soro sanguíneo de cães colhidas durante uma campanha de vacinação antirrábica animal. A prevalência encontrada foi de 21,4%, e as sorovariedades mais encontradas foram: Autumnalis (7,4%), Copenhageni (6%) e Canicola (2,1%).

Ao realizarem um levantamento de anticorpos contra *Leptospira spp.* em animais domésticos e silvestres presentes no Campus universitário da FCAV Unesp de Jaboticabal, SILVA et al. (2010) encontraram as sorovariedades Patoc, Autumnalis, Pyrogenes, Canicola e Icterohaemorrhagiae em equinos, Autumnalis, Patoc, Pomona e

Icterohaemorrhagiae em suínos, Andamana, Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Canicola e Patoc em caprinos, Autumnalis, Patoc, Pomona, Pyrogenes e Icterohaemorrhagiae em ovinos, Andamana, Icterohaemorrhagiae, Patoc e Pyrogenes em bovinos, Patoc, Autumnalis e Pyrogenes em cães e Patoc em coelhos.

Em diversas regiões do Brasil estudos demonstram prevalências em rebanhos que variam de 74% a 100% (HOMEM et al., 2001; FAVERO et al., 2001, THOMPSON et al., 2006; LAGE et al., 2007) e, em animais, de 45,56% a 62,3% (LANGONI et al. 2000; FAVERO et al., 2001). No Brasil, inquéritos sorológicos realizados em rebanhos bovinos evidenciam as sorovariedades Hardjo, Wolffi, Pomona, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae e Canicola, sendo a sorovariedade Hardjo a mais prevalente (FAVERO et al., 2001; LILENBAUM & SOUZA, 2003; ARAÚJO et al., 2005; THOMPSON et al., 2006; LAGE et al., 2007). No Mato Grosso do Sul, a sorovariedade Hardjo também é a mais observada na sorologia (MADRUGA et al., 1980; PELLEGRIN et al., 1992; PELLEGRIN & SERENO, 1994; PELLEGRIN et al., 1999; FAVERO et al., 2001).

VASCONCELLOS et al. (1997), em uma análise de soros bovinos procedentes de diversos estados brasileiros, verificaram que a sorovariedade Hardjo foi a predominante.

Em um frigorífico do Estado de São Paulo, MAGAJEVSKI et al. (2007) encontraram alta prevalência de reagentes à sorovariedade Hardjo (44,7%) nas vacas analisadas, seguida pelas sorovariedades Wolffi, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Grippytyphosa.

Em bovinos há uma maior ocorrência das sorovariedades Hardjo e Wolffi, porém não deve ser descartada a possibilidade de reação cruzada na soroaglutinação microscópica, pois essas sorovariedades pertencem ao mesmo sorogrupo, *serjoe* (COSTA et al., 1998)

JULIANO et al. (2000), ao pesquisarem a prevalência e os aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanhos leiteiros na microrregião de Goiânia, observaram que 81,90% de um total de 426 amostras de soros sanguíneos analisadas pela prova de soroaglutinação microscópica (SAM) foram reagentes. As

principais sorovariedades encontradas foram Wolffi (36,10%), Icterohaemorrhagiae (20,50%), Hardjo (5,20%) e Tarassovi (4,90%). Foram analisados os seguintes fatores de risco: presença de roedores, prática de inseminação artificial (IA), tipo de fonte de água, ocorrência de abortos e sistema de produção. Pelo teste de χ^2 , demonstraram que não houve correlação estatística entre nenhum dos fatores de risco acima citados e a ocorrência da doença.

Num estudo de soroprevalência da leptospirose em bovinos e humanos em propriedades familiares na região da fronteira agrícola Transamazônica, na Amazônia Oriental, foi encontrada uma prevalência de 97,0% de rebanhos com pelo menos um bovino positivo na técnica de soroaglutinação microscópica, sendo a sorovariedade Hardjo encontrada em 61,2% dos rebanhos. Em humanos, 32,8% áreados núcleos familiares tiveram pelo menos um indivíduo reagente, sendo as sorovariedades Bratislava (9,0%), Hardjo (6,0%) e Grippotyphosa (4,5%) as mais encontradas (HOMEM et al., 2001).

OLIVEIRA et al. (2001), num estudo da soroprevalência da leptospirose bovina no Município de Garanhuns, Pernambuco, encontraram uma prevalência de 47,63% em animais e de 100% em rebanhos.

Com o objetivo de estudar a situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana nas propriedades rurais do Município de Pirassununga, SP, partiu-se de um banco de soros e um banco de dados já estruturados de 86 propriedades amostradas. As prevalências aparentes de focos de leptospirose nas propriedades rurais de Pirassununga, segundo as espécies examinadas, foram: 88,4% [79,7% - 94,3%] para os bovinos, sendo Hardjo a sorovariedade mais comum, com 43,4% [32,1% - 55,3%], seguida da Wolffi, com 11,8% [5,6% - 21,3%], Autumnalis e Patoc, empatadas em 5,3% [1,5% - 12,9%], Australis, com 3,9% [0,8% - 11,1%], Hebdomadis, com 2,6% [0,3% - 9,2%], e Shermani, com 1,3% [0% - 7,1%]. A prevalência aparente da leptospirose nos bovinos da área rural do Município de Pirassununga foi de 30,3% [28,4% - 32,2%]. Os fatores de risco associados à condição de foco de leptospirose bovina por qualquer sorovariedade foram ter mais de 21 cabeças no rebanho, OR = 14,354 [1,535 - 134,215] e presença de cocho para sal mineral, OR = 6,995 [1,180 -

41,470]. Os fatores de risco associados à condição de foco pelas sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi foram ter mais de 21 cabeças no rebanho, OR = 15,750 [1,264 - 196,269], e presença de cocho para sal mineral, OR = 6,537 [1,008 - 42,397]. Foram discutidas as implicações desses resultados para o entendimento da epidemiologia da leptospirose na área rural de Pirassununga e também foram feitas recomendações para o controle da doença no rebanho bovino (MARTINS, 2005).

Ao estudar a soroprevalência da *Leptospira* spp. em bovinos do Município de Monte Negro, Amazônia ocidental, AGUIAR et al. (2006) observaram uma prevalência de 52,8% em animais e de 95,3% em rebanhos.

CASTRO et al. (2008) objetivaram determinar a soroprevalência da leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva do Estado de São Paulo, estratificado em sete regiões produtoras. Foram utilizados o delineamento estatístico, as amostras sorológicas e as informações contidas nos questionários empregados no Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCETB), instituído pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, considerando-se a utilização de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, diferentes tipos de produção, práticas de manejo, finalidades de reprodução, tamanho dos rebanhos e sistema de comercialização. De acordo com os resultados obtidos, a infecção por *Leptospira* spp. ocorre em todo o Estado de São Paulo, com soroprevalência de 49,4% [IC 95% = 44,4% - 54,4%] nas fêmeas bovinas em idade reprodutiva e em 71,3% [IC 95% = 68,5% - 74%] dos rebanhos analisados. A sorovariedade Hardjo (46%) e sua associação com a sorovariedade Wolffi (21%) foram prevalentes entre o total de animais sororreagentes, seguidas pelas sorovariedades Shermani (8,9%), Autumnalis (4,4%) e Grippytyphosa (3,9%). *Leptospira* spp. está distribuída por todo o Estado e independe do tipo de exploração, do manejo e das práticas de reprodução adotadas nos rebanhos.

FIGUEIREDO et al. (2009) investigaram a prevalência de anticorpos antileptospira em fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, provenientes de 178 rebanhos de 22 municípios do Estado de Mato Grosso do Sul, bem como identificaram fatores de risco associados à infecção. Títulos iguais ou superiores

a 100 contra um ou mais sorovares foram detectados em 1.801 fêmeas (98,8%) de 161 (96,5%) rebanhos. A sorovariedade Hardjo (65,6%) foi apontada como a mais comum, seguida da sorovariedade Wolffi (12,3%). Os resultados demonstraram que a leptospirose bovina se encontrava presente em todos os municípios estudados, com alta prevalência, tanto em animais como em rebanhos. Os fatores de risco identificados nesse estudo e associados à infecção por bactérias do gênero *Leptospira* foram o tipo de exploração pecuária de corte e a raça Zebu.

OLIVEIRA et al. (2009) determinaram a soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia. O Estado foi dividido em quatro regiões ou estratos amostrais, nos quais foram examinadas 10.823 fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses distribuídas em 1.414 propriedades. O rebanho foi considerado foco quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. As prevalências de foco e de animais soropositivos no Estado foram de 77,93% [IC 95% = 75,73% - 79,99%] e 45,42% [IC 95% = 42,00% - 48,88%], respectivamente. A sorovariedade mais frequente foi a Hardjo (Hardjoprajitno), em 34,49% [IC 95% = 31,93% - 37,14%] das propriedades consideradas positivas e 14,95% [IC 95% = 12,59% - 17,67%] de animais soropositivos de diferentes regiões.

OLIVEIRA et al. (2010), ao analisarem possíveis fatores de risco de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, concluíram que a presença de mais de 28 fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses (OR = 2,11; IC 95% = 1,27 - 3,52; $p < 0,001$) é fator de risco de leptospirose. OLIVEIRA et al. (2010) também identificaram a participação de animais selvagens como fator de risco para a enfermidade. Nesse trabalho, constataram que a presença de cervídeos foi fator de risco de leptospirose (OR = 2,02; IC 95% = 1,16 - 3,50; $p = 0,01$).

A profilaxia da leptospirose inclui a adoção de importantes procedimentos, como: controle de roedores, os quais são os maiores disseminadores do agente etiológico; eliminação do excesso de água estagnada no ambiente; isolamento e tratamento dos animais doentes; detecção e tratamento dos portadores sãos; e imunização sistemática dos animais (GUIMARÃES et al., 1982/1983). Sobre os reservatórios, que são principalmente os roedores sinantrópicos, devem ser tomadas

medidas de saneamento e antirratização, tais como destinação adequada do lixo, armazenamento correto dos alimentos de uso humano e animal, não armazenamento de entulhos, que servem como abrigo, e uso racional de rodenticidas (BRASIL, 1995).

A leptospirose humana é uma doença de notificação compulsória no Brasil (BRASIL, 2005). A leptospirose animal possui grande importância do ponto de vista socioeconômico e sanitário, tendo considerável repercussão no comércio internacional de animais e seus produtos (BLAHA, 1989).

3. OBJETIVO

3.1. Geral

Estudar as características epidemiológicas da leptospirose bovina no Estado do Maranhão.

3.1.1. Específicos

Determinar as sorovariedades de *Leptospira* spp. presentes no Estado do Maranhão.

Determinar a prevalência da leptospirose em bovinos e em rebanhos do Estado do Maranhão.

Diferenciar os circuitos pecuários entre si no que se refere à prevalência da leptospirose em bovinos e em rebanhos do Estado do Maranhão.

Identificar fatores de risco eventualmente associados à leptospirose em bovinos no Estado do Maranhão.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Área do estudo

Com base em parâmetros de produção distintos que variam conforme os diferentes sistemas de produção, as práticas de manejo, a finalidade de exploração, o tamanho médio dos rebanhos e o sistema de comercialização, o Estado foi dividido em quatro circuitos amostrais (Anexo I) pela coordenação estadual do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), sob a orientação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portanto, levando-se em consideração os fatores acima citados, estratificou-se o Estado do Maranhão em quatro circuitos, a fim de conhecer essas diferenças regionais. Cada um desses grupos de produção e sistemas comerciais configura um circuito produtor praticamente independente dos demais, nos vários estágios da cadeia produtiva, e a probabilidade de um animal passar por todos os estágios da produção (cria, recria e engorda) dentro do mesmo circuito é elevada.

4.2. Marco amostral

A metodologia foi baseada no inquérito soroepidemiológico para brucelose proposto pelo MAPA às unidades federativas, visando traçar o diagnóstico situacional da doença. Dessa forma, a ocorrência da leptospirose foi estimada por um processo amostral aleatório que detectou a prevalência de rebanhos e de animais com a infecção, e os resultados foram extrapolados para cada circuito estudado. Em cada circuito, o tamanho da amostra foi determinado pelo grau de confiança do resultado, pelo nível de precisão desejado e pelo valor de prevalência esperado (NOORDHUIZEN et al., 1997) e utilizando a fórmula para amostra simples aleatória, de acordo com THRUSFIELD (1995) e NOORDHUIZEN et al. (1997):

$$n = \frac{Z^2_{\alpha} \cdot \sqrt{p(1-p)}}{d^2}$$

Em que:

n = número de propriedades amostradas por circuito produtor;

Z_{α} = valor da distribuição normal para o grau de confiança de 95%;

p = prevalência esperada, fixada em 20%;

d = erro absoluto, fixado em 6%.

Esses cálculos serviram de base para obtenção das unidades secundárias de amostragem.

4.2.1. Propriedades amostradas

Cada município que explora a produção de bovinos recebeu o Código da Unidade Federativa do Estado do Maranhão, cadastrado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, que corresponde a sete dígitos, e as propriedades foram numeradas com dois ou mais dígitos. A pesquisa foi realizada em 149 propriedades pertencentes aos municípios que compõem o circuito I, 292 no circuito II, 149 no circuito III e 158 pertencentes aos municípios que compõem o circuito IV do Estado do Maranhão, perfazendo um total de 748 propriedades analisadas. As divisões dos circuitos amostrais estão detalhadas no anexo I.

O circuito I, localizado na região norte do estado, tem como cidade principal São Luís e seu bioma característico é a zona costeira. O circuito II, localizado a oeste do estado, tem como cidade principal Santa Inês e o bioma característico é amazônico. O circuito III, a leste do estado, tem como cidade principal Caxias e o bioma característico é a caatinga. O circuito IV, localizado a sul do estado, tem como cidade principal Carolina e o bioma característico é o cerrado. O circuito III é o que possui menores índices pluviométricos dos quatro circuitos, pois tem características marcantes do bioma caatinga. Os demais circuitos possuem índices pluviométricos maiores, principalmente entre os meses de dezembro a março.

A Tabela 1 mostra o número de propriedades amostradas do total de propriedades com atividade reprodutiva e o número de fêmeas amostradas do total de fêmeas com idade igual ou maior que 24 meses por circuito produtor no Estado do Maranhão.

Tabela 1. Propriedades amostradas do total de propriedades com atividade reprodutiva e fêmeas amostradas do total de fêmeas com idade \geq 24 meses por circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuitos produtores	Total de propriedades com atividade reprodutiva	Total de propriedades amostradas	Fêmeas com idade \geq 24 meses	Fêmeas amostradas
Nº				
I	18.957	149	175.355	841
II	46.261	292	1.569.915	2.582
III	24.937	149	361.559	869
IV	10.311	158	273.726	540
MA	100.466	748	2.380.555	4.832

Fonte: Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão, 2005.

Devido à perda de amostras durante o transporte até o Laboratório de Diagnóstico de Brucelose e Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV, Unesp) de Jaboticabal, o número de propriedades analisadas neste estudo é inferior ao número de propriedades amostradas, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Propriedades analisadas do total de propriedades amostradas por circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuitos produtores	Propriedades amostradas	Propriedades analisadas
I	149	136
II	292	238
III	149	122
IV	158	77
MA	748	573

As propriedades são as unidades primárias ou unidades epidemiológicas de amostragem e foram escolhidas de forma aleatória, seguindo a listagem das fichas sanitárias fornecidas pela Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Estado do

Maranhão (AGED-MA), após o cálculo do intervalo amostral, que foi dado por meio da divisão do número total de propriedades pelo número de propriedades a serem amostradas. Nas propriedades, foi alvo do inquérito o principal rebanho (aquele de maior valor econômico ou que fosse o principal objetivo de produção), no qual os animais estivessem submetidos às mesmas condições de manejo (fatores de risco).

Dentro das propriedades, unidades primárias de amostragem, determinaram-se as unidades amostrais secundárias, que são as fêmeas bovinas maiores de dois anos de idade, ou seja, os animais sob estudo.

4.2.2. Escolha das amostras

Após o sorteio das propriedades, foram selecionadas as fêmeas, de idade igual ou superior a 24 meses, cujo sangue foi colhido. Em cada propriedade sorteada, onde existiam até 99 fêmeas na faixa etária igual ou superior a dois anos, foram amostradas dez fêmeas, ou todas as fêmeas dessa faixa etária, se elas fossem menos do que dez. Naquelas onde o número de fêmeas de idade igual ou superior a dois anos era superior a 99, foram amostradas 15 fêmeas dessa faixa etária. O programa de computador Herdacc version 3 foi empregado para a realização do cálculo do tamanho das unidades secundárias de amostragem, por meio de simulações de sensibilidade e especificidade do teste para detectar rebanhos positivos. A seleção das fêmeas foi feita pelo método de amostragem aleatória simples.

Foram excluídas das amostras as fêmeas que estavam no período de periparto, ou seja, aproximadamente 15 dias antes do parto e 15 dias após o parto.

4.2.3. Colheita das amostras

O estudo foi planejado por técnicos do MAPA, da Universidade de São Paulo e da Universidade de Brasília, em colaboração com os técnicos da Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão (AGED-MA). O trabalho de campo foi realizado por técnicos da AGED-MA, no período de fevereiro de 2005 a março de 2009, após receberem treinamento. Em cada propriedade amostrada, além da colheita de sangue para o sorodiagnóstico, foi também aplicado um questionário epidemiológico, elaborado

para obter informações sobre a tipologia e as práticas de manejo, de forma a permitir a realização do estudo de fatores de risco associados à presença da leptospirose.

As colheitas das amostras de sangue foram realizadas por meio de punção da veia jugular, utilizando tubos a vácuo de 10 mL, devidamente esterilizados e identificados. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente até ocorrer coagulação e retração do coágulo, sendo conduzidas posteriormente sob refrigeração até o Laboratório do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, onde foram centrifugadas a 1.000G, durante 15 minutos. As alíquotas de soro obtidas foram transferidas para tubos plásticos de polipropileno com capacidade de 2,0 mL e mantidas sob temperatura de congelamento (-20°C) até o momento da realização dos exames.

4.3. Exames Sorológicos

4.3.1. Preparo dos antígenos de *Leptospira* spp.

As sorovariedades de *Leptospira* spp. utilizadas como antígenos, listadas no Quadro 1, foram provenientes de matrizes, replicadas semanalmente em meio de cultura líquido de EMJH (Ellighausen, McCullough, Johnson e Harris – Difco^R), tendo como inóculo 10% do volume do meio a semear, e mantidas em estufa bacteriológica BOD a 28°C. Todos os antígenos foram utilizados ao redor do sexto dia de incubação. Foram utilizados apenas antígenos puros. A concentração considerada ideal foi padronizada de forma a corresponder à metade da turvação do tubo número 1 da escala de MacFarland (cerca de 100 a 200 leptospiros por campo microscópico), segundo a técnica de SULZER & JONES (1980). As culturas estavam isentas de contaminação e de autoaglutinação.

4.3.2. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)

As amostras de soro, devidamente armazenadas e congeladas, foram encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico de Brucelose e Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV-Unesp).

A presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. nos soros foi verificada pela SAM, a partir de uma diluição 1/50, sendo uma parte de soro sanguíneo para 49 partes de solução salina 0,85%. Dessa diluição foram colocadas alíquotas de 25 µL em placas de polietileno, com fundo plano, e adicionada igual quantidade do antígeno, o que resultou em uma diluição 1/100. As placas foram então incubadas em estufa bacteriológica BOD à temperatura de 28°C por uma hora. A leitura foi realizada em microscópio de campo escuro, diretamente na placa, utilizando a objetiva de 10x e ocular de 10x.

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

As sorovariedades de *Leptospiras* spp. empregadas como antígeno, bem como suas respectivas siglas, estão apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1. Sorovariedades de *Leptospira* spp. utilizadas neste trabalho, de acordo com seu sorogrupo e a sigla utilizada nas tabelas de resultados.

Sorogrupo	Sorovariedades	Siglas das sorovariedades
<i>australis</i>	Australis	Aus
<i>australis</i>	Bratislava	Bra
<i>autumnalis</i>	Autumnalis	Aut
<i>autumnalis</i>	Butembo	But
<i>ballum</i>	Castellonis	Cas
<i>bataviae</i>	Bataviae	Bat
<i>canicola</i>	Canicola	Can
<i>celledoni</i>	Whitcombi	Whi
<i>cynopteri</i>	Cynopteri	Cyn
<i>grippotyphosa</i>	Grippotyphosa	Gri
<i>hebdomadis</i>	Hebdomadis	Heb
<i>icterohaemorrhagiae</i>	Copenhageni	Cop
<i>icterohaemorrhagiae</i>	Icterohaemorrhagiae	Ict
<i>javanica</i>	Javanica	Jav
<i>panama</i>	Panama	Pan
<i>pomona</i>	Pomona	Pom
<i>pyrogenes</i>	Pyrogenes	Pyr
<i>sejroe</i>	Hardjo	Har
<i>sejroe</i>	Wolffi	Wol
<i>shermani</i>	Shermani	She
<i>tarassovi</i>	Tarassovi	Tar
<i>andamana</i>	Andamana	And
<i>seramanga</i>	Patoc	Pat
<i>djasiman</i>	Sentot	Sen

4.4. Questionário e análise dos fatores de risco

Durante as colheitas de sangue, foram realizadas entrevistas com aplicação de questionário investigativo, desenvolvido pela AGED-MA e pelo MAPA, contendo perguntas referentes a sistema de produção, presença de ovinos/caprinos, presença de equinos, presença de suínos, presença de cães, presença de animais selvagens, presença de cervídeos, presença de roedores, presença de outros animais selvagens, venda de reprodutores, compra de reprodutores, aluguel de pasto, pasto em comum com outras propriedades, áreas alagadiças nas pastagens, piquete de parição e assistência veterinária. As entrevistas e os questionários foram aplicados por pessoa

treinada anteriormente para realizar essa tarefa. O questionário está representado no Anexo II.

As variáveis de risco associadas à soropositividade do rebanho para pelo menos uma sorovariante foram analisadas por meio da estimativa pontual e intervalar da *odds ratio* (OR), com intervalo de confiança de 95%. O teste de hipóteses foi realizado com o teste de qui-quadrado (χ^2) ou teste exato de Fisher, quando indicado (SAMPAIO, 2007).

4.5. Banco de dados

O resultado dos testes de diagnóstico e as informações do questionário aplicado em cada propriedade foram armazenados em um banco de dados, utilizando o programa Microsoft Access 97®, desenvolvido para o PNCEBT.

4.6. Análise dos dados

Foi feito o cálculo de prevalência de leptospirose bovina em fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses e em rebanhos e, com base nos dados obtidos na aplicação de questionário, foi feita a caracterização epidemiológica da leptospirose bovina no Estado do Maranhão.

4.6.1. Caracterização epidemiológica

Esta etapa do projeto teve como objetivo identificar a tipologia das propriedades amostradas. As frequências das variáveis, quantitativas e qualitativas, presentes no questionário epidemiológico foram calculadas para os quatro circuitos produtores e posteriormente para o Estado do Maranhão, permitindo a verificação das semelhanças e diferenças entre cada circuito. A importância desta atividade está no planejamento das ações futuras, pois cada área poderá adotar estratégias de controle específicas.

A variável quantitativa analisada foi o número de bovinos na propriedade. Para essa variável foi realizada uma análise estatística descritiva (cálculo da mediana e intervalo interquartil) para a comparação dos resultados entre os circuitos. Os cálculos foram feitos com o programa de análise estatística SPSS 9.0 (SPSS, 1999).

As variáveis qualitativas analisadas foram: tipo de exploração, utilização de inseminação artificial, presença de outras espécies domésticas, presença de animais silvestres de vida livre na propriedade, presença de aborto nos últimos 12 meses, destino dos fetos abortados e seus anexos, compra de animais, local de abate, aluguel de pasto, pasto em comum com outras propriedades, presença de áreas alagadiças, presença de piquetes de parição, assistência veterinária. Nesta etapa foram calculadas as frequências e os respectivos intervalos de confiança (95%) para cada variável e posterior comparação entre os circuitos produtores por meio do teste do qui-quadrado, com um nível de significância de 5% (ZAR, 1999). Os cálculos foram feitos com os programas SPSS 9.0 (SPSS, 1999) e Epi Info 6.04 (EPI INFO, 2001).

4.6.2. Prevalência de focos de leptospirose bovina no Estado do Maranhão

Para o cálculo da prevalência de focos de leptospirose no Estado do Maranhão, foi considerada a amostra aleatória estratificada como desenho amostral, e cada um dos quatro circuitos foi considerado um estrato.

Os parâmetros necessários para o cálculo foram: o diagnóstico (positivo ou negativo) da propriedade, a área da propriedade e o peso estatístico (Quadro 2). Este último foi calculado da seguinte forma:

$$\text{Peso estatístico} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de propriedades no estrato}}{\text{n}^\circ \text{ de propriedades amostradas no estrato}}$$

Portanto, para o cálculo da prevalência de focos de leptospirose, tem-se:

$$\text{Prevalência} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de propriedades foco}}{\text{n}^\circ \text{ de propriedades analisadas}} \times \text{peso estatístico}$$

Foi considerada a amostra aleatória simples como desenho amostral para o cálculo da prevalência de focos de leptospirose bovina em cada um dos quatro circuitos do Estado do Maranhão.

Os parâmetros necessários para o cálculo foram o número de focos e o número de propriedades amostradas na área.

Foi considerada foco a propriedade que continha pelo menos quatro animais sororreagentes a leptospirose, ou seja, o achado de quatro ou mais animais reagentes no rebanho classificava a propriedade como positiva, de um a três animais como inconclusiva, e nenhum animal reagente, como negativa (FIGUEIREDO et al., 2009).

4.6.3. Prevalência de leptospirose em animais no Estado do Maranhão

Para o cálculo da prevalência de leptospirose em animais, foi considerada a amostra estratificada e por “cluster” como desenho amostral. Em cada um dos quatro circuitos, o desenho amostral considerado, para o cálculo de prevalência, foi a amostragem por “cluster”.

Cada um dos quatro circuitos do Estado do Maranhão foi considerado como sendo um estrato, e cada propriedade como sendo um “cluster”.

Os parâmetros utilizados foram: o diagnóstico (positivo ou negativo) do animal, a área a que o animal pertence e o peso estatístico. Este último foi calculado da seguinte forma:

$$\text{Peso estatístico} = \text{fração A} \times \text{fração B}$$

$$\text{Fração A} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de fêmeas} \geq 24 \text{ meses no estrato}}{\text{n}^\circ \text{ total de fêmeas} \geq 24 \text{ meses nas propriedades amostradas no estrato}}$$

$$\text{Fração B} = \frac{\text{n}^\circ \text{ total de fêmeas} \geq 24 \text{ meses na propriedade}}{\text{n}^\circ \text{ total de fêmeas} \geq 24 \text{ meses amostradas na propriedade}}$$

A fração A indica o número de animais que cada animal selecionado em uma propriedade representa na população.

A fração B indica o número de animais que cada animal selecionado representa na propriedade.

O quadro 2 abaixo relaciona os circuitos produtores do Estado do Maranhão e seus respectivos pesos estatísticos.

Quadro 2. Circuitos produtores do Estado do Maranhão e seus respectivos pesos estatísticos. Maranhão (2005 - 2009).

Circuito	Peso estatístico
I	139,3897
II	197,3739
III	204,4016
IV	133,9091

Portanto, para o cálculo da prevalência de leptospirose em animais, tem-se:

$$\text{Prevalência} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ de animais reagentes}}{\text{n}^{\circ} \text{ de animais analisados}} \times \text{peso estatístico (fração A x fração B)}$$

4.6.4. Diferença entre os circuitos pecuários no que se refere à prevalência da leptospirose em bovinos e em rebanhos do Estado do Maranhão

As diferenças na prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses e em rebanhos entre os circuitos produtores do Estado do Maranhão foram calculadas pelo método qui-quadrado (χ^2) (SAMPAIO, 2007). O valor exato de “p” foi calculado pelo programa Excel 2010.

4.6.5. Estudo dos fatores de risco de leptospirose bovina

As variáveis de caracterização epidemiológica permitiram identificar os fatores de risco de ocorrência de leptospirose bovina nas propriedades. Foram estudados como possíveis fatores de risco: tipo de exploração ou sistema de produção (carne, leite, misto), tipo de criação (intensivo, semiextensivo, extensivo), número de bovinos na propriedade, prática de inseminação artificial, presença de outras espécies domésticas, presença de animais silvestres, compra de animais, abate de reprodutores, aluguel de pastos, pastos comuns com outras propriedades, piquete de parição, pastos alagados e assistência veterinária.

Inicialmente foi realizada uma análise univariada, utilizando-se os testes qui-quadrado (χ^2) e exato de Fisher, a fim de verificar a associação de cada um dos possíveis fatores de risco com a variável dependente (rebanho livre ou infectado por leptospirose). Posteriormente foi realizada uma análise multivariada, na qual foi

construído um modelo de regressão ($y=B_0 + B_1x + B_2x + B_2x\dots$). Quando se insere uma variável, ela não está sozinha no modelo (interage com a variável $B_0 =$ intersecção). A partir daí, todas as variáveis inseridas interagem com as variáveis presentes no modelo (SAMPAIO, 2007).

5. RESULTADOS

Das 4.832 fêmeas bovinas analisadas no Estado do Maranhão, 1.904 (35,94%; IC 95% = 33,01% - 38,98%) foram reagentes na SAM a pelo menos uma sorovariedade de *Leptospira* spp., com títulos variando de 100 a 6.400.

No circuito I, das 841 fêmeas bovinas analisadas, 499 (58,30%; IC 95% = 53,16% - 63,28%) foram positivas. No circuito II, das 2.582 fêmeas analisadas, 973 (33,41%; IC 95% = 29,49% - 37,58%) foram reagentes. No circuito III, das 869 fêmeas analisadas, 153 (15,53%; IC 95% = 11,05% - 21,39%) foram positivas. No circuito IV das 540 fêmeas analisadas, 279 (63,14%; IC 95% = 56,84% - 69,03%) foram reagentes. Esses dados estão representados na Tabela 3.

Tabela 3. Soroprevalência (animais reagentes na SAM a pelo menos uma sorovariedade) de *Leptospira* spp. em fêmeas bovinas em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuito Produtor	Animais		Prevalência (%)	IC 95% (%)
	Analisados	Reagentes		
I	841	499	58,30	[53,16 - 63,28]
II	2.582	973	33,41	[29,49 - 37,58]
III	869	153	15,53	[11,05 - 21,39]
IV	540	279	63,14	[56,84 - 69,03]
MA	4.832	1.904	35,94	[33,01 - 38,98]

Pela análise da Tabela 3, observa-se maior soroprevalência em fêmeas bovinas no circuito IV, seguido pelo circuito I, circuito II e circuito III.

As diferenças entre as prevalências de leptospirose em fêmeas bovinas do circuito I e do circuito II, do I e do III, do II e do III, do II e do IV, do circuito III e do circuito IV foram altamente significativas ($p = 5,09 \times 10^{-28}$; $p = 3,44 \times 10^{-70}$; $p = 1,47 \times 10^{-27}$; $p = 2,22 \times 10^{-9}$ e $p = 4,54 \times 10^{-41}$, respectivamente). A diferença entre as prevalências do circuito I e do circuito IV também foi significativa ($p = 0,006$) (Tabela 4).

Tabela 4. Diferenças entre as prevalências de leptospirose em fêmeas bovinas dos circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuitos	Qui-quadrado (χ^2)	Grau de liberdade (GL)	Valor de p
I x II	120,43	1	$5,09 \times 10^{-28}$
I x III	313,68	1	$3,44 \times 10^{-70}$
I x IV	7,55	1	0,006
II x III	118,32	1	$1,47 \times 10^{-27}$
II x IV	35,77	1	$2,22 \times 10^{-9}$
III x IV	180,13	1	$4,54 \times 10^{-41}$

Das 573 propriedades analisadas, 380 (64,81%; IC 95% = 61,10% - 68,35%) foram consideradas positivas, ou seja, foram propriedades que tiveram quatro ou mais fêmeas bovinas reagentes a pelo menos uma sorovariedade de *Leptospira* spp., com títulos variando de 100 a 6.400.

No circuito I, das 136 propriedades analisadas, 101 (74,26%; IC 95% = 66,22% - 80,95%) foram positivas. No circuito II, das 238 propriedades analisadas, 183 (76,89%; IC 95% = 71,08% - 81,83%) foram positivas. No circuito III, das 122 propriedades analisadas, 37 (30,33%; IC 95% = 22,79% - 39,10%) foram positivas. No circuito IV, das 77 propriedades analisadas, 59 (76,62%; IC 95% = 65,81% - 84,81%) foram positivas. Esses dados estão representados na Tabela 5.

Tabela 5. Soroprevalência (pelo menos quatro animais reagentes na SAM) de *Leptospira* spp. em rebanhos em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuito	Propriedades		Prevalência (%)	IC 95% (%)	
	Produtor	Analisadas			Reagentes
I		136	101	74,26	[66,22 - 80,95]
II		238	183	76,89	[71,08 - 81,83]
III		122	37	30,33	[22,79 - 39,10]
IV		77	59	76,62	[65,81 - 84,81]
MA		573	380	64,81	[61,10 - 68,35]

Pela análise da Tabela 5, nota-se que houve maior soroprevalência em rebanhos no circuito II, seguido pelo circuito IV, pelo circuito I e pelo circuito III. Ainda na mesma análise, nota-se que o circuito II passou a ser o de maior soroprevalência em rebanhos, enquanto o circuito IV foi o de maior soroprevalência em fêmeas bovinas. O circuito III foi o de menor soroprevalência tanto em rebanhos quanto em fêmeas bovinas.

As diferenças entre as prevalências de leptospirose em rebanhos do circuito I e do circuito II, do I e do IV, do II e do IV não foram significativas ($p = 0,66$; $p = 0,84$; e $p = 0,89$, respectivamente). Já as diferenças entre as prevalências do circuito I e do circuito III, do II e do III, do III e do IV foram altamente significativas ($p = 3,94 \times 10^{-12}$; $p = 71,64 \times 10^{-17}$ e $p = 4,99 \times 10^{-10}$) (Tabela 6).

Tabela 6. Diferenças entre as prevalências de leptospirose em rebanhos dos circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuitos	Qui-quadrado (χ^2)	Grau de liberdade (GL)	Valor de p
I x II	0,19	1	0,66
I x III	48,15	1	$3,94 \times 10^{-12}$
I x IV	0,04	1	0,84
II x III	71,64	1	$2,58 \times 10^{-17}$
II x IV	0,017	1	0,89
III x IV	38,68	1	$4,99 \times 10^{-10}$

Conforme observado na Figura 1, a sorovariedade Hardjo foi a mais encontrada no Estado do Maranhão (24,32%) entre os animais reagentes na SAM, seguida pelas sorovariedades Wolffi (22,00%), Patoc (12,42%), Shermani (8,85%), Grippotyphosa (8,21%), Hebdomadis (7,35%), Tarassovi (2,96%), Autumnalis (2,87%), Pyrogenes (2,58%), Pomona (2,26%), Copenhageni (1,59%), Australis (1,24%), Canicola (1,15%), Castellonis (1,05%), Icterohaemorrhagiae (0,48%), Panama (0,38%), Sentot (0,22%) e Andamana (0,06%).

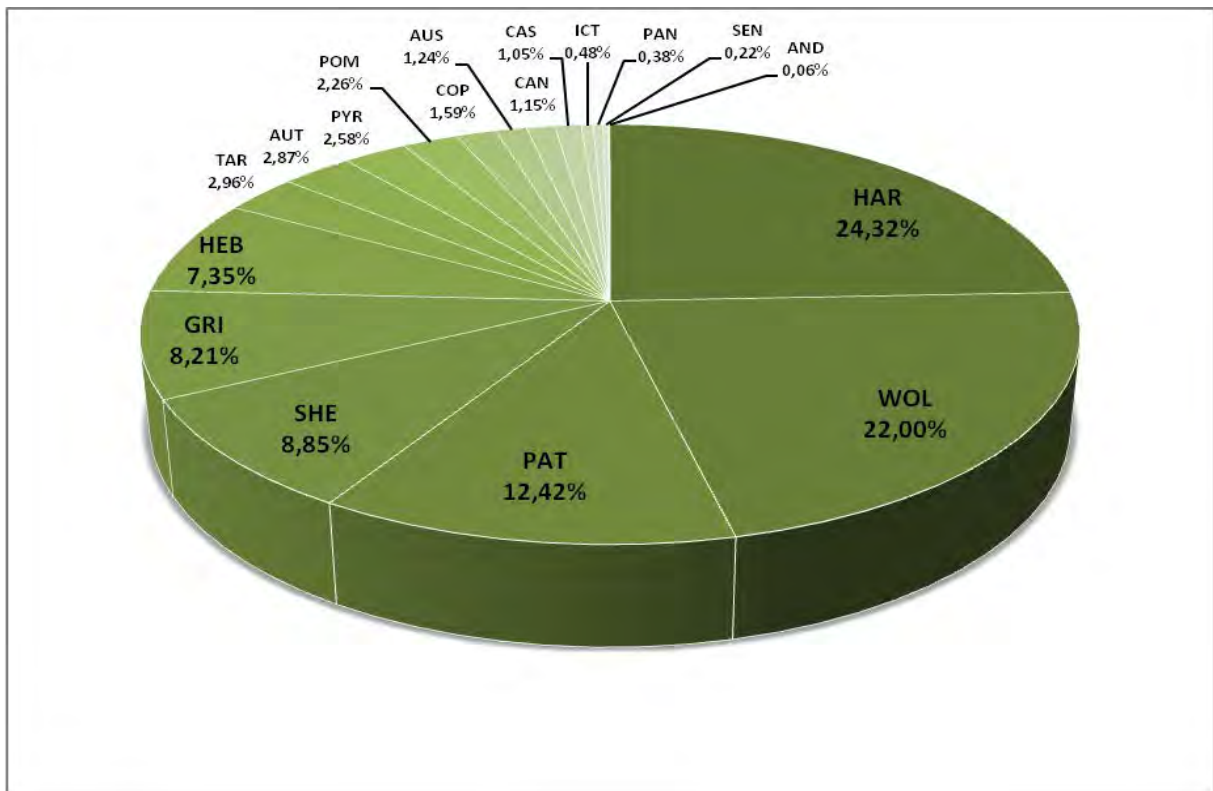


Figura 1. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais se encontrou título de anticorpos pela SAM no Estado do Maranhão e suas respectivas porcentagens de ocorrência. Maranhão (2005 - 2009).

Nota-se, pela análise da Figura 1, que a sorovariedade Icterohaemorrhagiae teve pouca ocorrência em fêmeas bovinas no Estado do Maranhão. Já as sorovariedades Hardjo e Wolffi foram as que tiveram maior ocorrência entre os animais reagentes (24,32% e 22,00%, respectivamente).

Das 4.832 fêmeas bovinas analisadas, 989 (20,52%; IC 95% = 17,94% - 23,37%) foram reagentes na SAM às sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi, com títulos variando de 100 a 6.400.

No circuito I, das 841 fêmeas bovinas analisadas, 347 (41,63%; IC 95% = 36,66% - 46,78%) foram reagentes às sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi. No circuito II, das 2.582 fêmeas analisadas, 523 (22,20%; IC 95% = 18,58% - 26,30%) foram reagentes. No circuito III, das 869 fêmeas analisadas, 26 (2,63%; IC 95% = 0,96% -

6,99%) foram positivas. No circuito IV, das 540 fêmeas analisadas, 93 (20,97%; IC 95% = 16,14% - 26,79%) foram reagentes. Esses dados estão representados na Tabela 7.

Tabela 7. Animais positivos na SAM às sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi do total de animais testados e prevalência dessas sorovariedades nos animais em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuito produtor	Animais		Prevalência (%)	IC 95% (%)
	Analisados	Reagentes		
I	841	347	41,63	[36,66 - 46,78]
II	2.582	523	22,20	[18,58 - 26,30]
III	869	26	2,63	[0,96 - 6,99]
IV	540	93	20,97	[16,14 - 26,79]
MA	4.832	989	20,52	[17,94 - 23,37]

Pela análise da Tabela 7, observa-se que houve maior soroprevalência das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em fêmeas bovinas no circuito I, seguido pelo circuito II, pelo circuito IV e pelo circuito III.

As diferenças entre as prevalências das sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi em fêmeas bovinas do circuito I e do circuito II, do I e do III, do I e do IV, do II e do III, do III e do IV foram altamente significativas ($p = 9,89 \times 10^{-34}$; $p = 2,6 \times 10^{-81}$; $p = 1,44 \times 10^{-20}$; $p = 4,43 \times 10^{-33}$ e $p = 2,46 \times 10^{-20}$, respectivamente). Já a diferença entre as prevalências do circuito II e do circuito IV não foi significativa ($p = 0,12$) (Tabela 8).

Tabela 8. Diferenças entre as prevalências das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em fêmeas bovinas dos circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuitos	Qui-quadrado (x^2)	Grau de liberdade (GL)	Valor de p
I x II	146,54	1	$9,89 \times 10^{-34}$
I x III	364,75	1	$2,6 \times 10^{-81}$
I x IV	86,43	1	$1,44 \times 10^{-20}$
II x III	143,56	1	$4,43 \times 10^{-33}$
II x IV	2,41	1	0,12
III x IV	85,38	1	$2,46 \times 10^{-20}$

Das 573 propriedades analisadas, 227 (38,18%; IC 95% = 34,66% - 41,84%) foram reagentes às sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi, com títulos variando de 100 a 6.400.

No circuito I, das 136 propriedades analisadas, 78 (57,35%; IC 95% = 34,57% - 51,14%) foram positivas. No circuito II, das 238 propriedades analisadas, 120 (50,42%; IC 95% = 44,07% - 56,76%) foram positivas. No circuito III, das 122 propriedades analisadas, 4 (3,28%; IC 95% = 1,23% - 8,46%) foram positivas. No circuito IV, das 77 propriedades analisadas, 25 (32,47%; IC 95% = 22,91% - 43,75%) foram positivas. Esses dados estão representados na Tabela 9.

Tabela 9. Propriedades positivas na SAM às sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi do total de propriedades testadas e prevalência dessas sorovariedades nos rebanhos em cada circuito produtor do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuito produtor	Propriedades		Prevalência (%)	IC 95% (%)
	Analisadas	Reagentes		
I	136	78	57,35	[34,57 - 51,14]
II	238	120	50,42	[44,07 - 56,76]
III	122	4	3,28	[1,23 - 8,46]
IV	77	25	32,47	[22,91 - 43,75]
MA	573	227	38,18	[34,66 - 41,84]

Pela análise da Tabela 9, nota-se que houve maior soroprevalência das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em rebanhos no circuito I, seguido pelo circuito II, pelo circuito IV e pelo circuito III. Observa-se, ainda na mesma análise, a baixa soroprevalência das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em fêmeas bovinas e em rebanhos no circuito III.

A diferença entre as prevalências das sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi em rebanhos do circuito I e do circuito II não foi significativa ($p = 0,23$). As diferenças entre as prevalências das sorovariedades Hardjo e/ou Wolffi do circuito I e do circuito III, do I e do IV, do II e do III, do circuito III e do circuito IV foram altamente significativa ($p = 4,33 \times 10^{-20}$; $p = 8,1 \times 10^{-4}$; $p = 1,46 \times 10^{-18}$ e $p = 4,32 \times 10^{-8}$). A diferença entre as

prevalências do circuito II e do circuito IV também foi significativa ($p = 0,009$) (Tabela 10).

Tabela 10. Diferenças na prevalência das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em rebanhos entre os circuitos produtores do Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Circuitos	Qui-quadrado (χ^2)	Grau de liberdade (GL)	Valor de p
I x II	1,4	1	0,23
I x III	84,26	1	$4,33 \times 10^{-20}$
I x IV	11,22	1	$8,1 \times 10^{-4}$
II x III	77,31	1	$1,46 \times 10^{-18}$
II x IV	6,84	1	0,009
III x IV	30	1	$4,32 \times 10^{-8}$

Pela análise das Tabelas 11 e 12 observa-se que as variáveis presença de equinos, presença de capivaras e rebanhos bovinos com fêmeas com idade igual ou maior que 24 meses acima de 32 cabeças foram identificadas como fatores de risco de leptospirose ($p < 0,05$).

Tabela 11. Análise univariada dos possíveis fatores de risco de leptospirose bovina em rebanhos com atividade reprodutiva no Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Variável	Casos/Expostos	Casos/Não expostos	Valor de p
Exploração de corte ¹	162/256	215/313	0,175
Exploração de leite ²	46/70	331/499	0,918
Exploração mista ³	169/243	208/326	0,152
Criação extensiva ⁴	92/152	286/419	0,084
Inseminação artificial ⁵	12/17	363/550	0,694
Presença de ovinos e caprinos	95/125	285/448	0,010
Presença de equinos	312/429	68/144	0,000
Presença de suínos	153/220	227/353	0,197
Presença de cães	280/406	100/167	0,037
Presença de animais silvestres	33/50	347/523	0,960
Presença de cervídeos	54/76	326/497	0,348
Presença de capivaras	24/27	356/546	0,011
Presença de outros silvestres	27/30	353/543	0,005
Compra de reprodutores	230/324	149/248	0,006
Abate de reprodutores ⁶	71/114	306/456	0,330
Aluguel de pastos	93/133	286/439	0,307
Presença de pasto comum	98/142	280/427	0,452
Presença de áreas alagadiças	184/283	192/285	0,554
Ausência de piquete de parição	227/376	150/194	0,000
Ausência de assistência veterinária	311/469	59/88	0,894
Rebanhos bovinos > 83 animais ⁷	151/187	229/386	0,000
Rebanhos bovinos com fêmeas > 24 meses (acima de 32 animais) ⁷	153/189	227/384	0,000

¹ leite + misto x corte (risco)

² corte + misto x leite (risco)

³ corte + leite x misto (risco)

⁴ confinado + semiconfinado x extensivo (risco)

⁵ não usa IA x usa IA + usa IA e touro (risco)

⁶ não abate + abate com inspeção + abate sem inspeção x abate na fazenda (risco)

⁷ 2º tercil

Tabela 12. Modelo final de regressão logística multivariada para os possíveis fatores de risco de leptospirose bovina em rebanhos com atividade reprodutiva no Estado do Maranhão (2005 - 2009).

Variáveis	Valor de p	Odds Ratio	IC 95% (%)
Ausência de piquete de parição	0,090	0,686	[0,444 - 1,060]
Presença de equinos	0,000	2,231	[1,477 - 3,370]
Presença de capivaras	0,034	3,817	[1,110 - 13,132]
Rebanhos bovinos com fêmeas \geq 24 meses (acima de 32 animais)	0,002	2,069	[1,312 - 3,262]

$r^2=12,8\%$

6. DISCUSSÃO

A prevalência de 35,94% (33,01% - 38,98%) de fêmeas bovinas reagentes na SAM a pelo menos uma sorovariedade de *Leptospira* spp. foi bastante alta, porém inferior às encontradas em outros estudos. FIGUEIREDO et al. (2009) encontraram, no Estado do Mato Grosso do Sul, 81,1% (76,3% - 85,9%) de fêmeas bovinas reagentes. Ainda na região Centro-Oeste, estudos realizados por JULIANO et al. (2000), em bovinos leiteiros na microrregião de Goiânia, e por MADRUGA et al. (1980), em bovinos de corte no Estado do Mato Grosso, demonstraram prevalência em animais de 81,9% e 74,5%, respectivamente, o que sugere que a infecção por *Leptospira* spp. se mantém em alta prevalência há décadas nessa região, independentemente do tipo de exploração.

Ainda superior à encontrada no presente estudo, alta prevalência também foi observada no estudo de FAVERO et al. (2001), em 21 estados brasileiros, no qual foi verificada uma proporção de 62,3% de animais reagentes. Especificamente no Estado do Maranhão, FAVERO et al. (2001) encontraram 58,2% de bovinos reagentes a pelo menos uma sorovariedade, sendo desses 42,3% a Hardjo e 33% a Wolffi; 91,6% das propriedades e 100% dos municípios analisados foram positivos nesse estado. LANGONI et al. (2000), em bovinos provenientes de diferentes regiões do Estado de São Paulo, registraram 45,56% de prevalência. Nesse mesmo Estado, CASTRO et al. (2008) encontraram soroprevalência de 49,4% (44,4% - 54,4%) nas fêmeas bovinas em idade reprodutiva. Ainda no Estado de São Paulo, resultado inferior ao da presente investigação foi verificado por MARTINS (2005), num estudo da situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana nas propriedades rurais do Município de Pirassununga, onde foi encontrada prevalência de 30,3% (28,4-32,2) em bovinos e 88,4% (79,7-94,3) em rebanhos.

Em relação ao presente estudo no Estado do Maranhão, resultados superiores de prevalência em animais foram encontrados em outros estados da região Nordeste. No Estado da Bahia, OLIVEIRA et al. (2009) relataram soroprevalência de 45,43%

(42% - 48,88%) de animais soropositivos, e no Estado de Pernambuco, OLIVEIRA et al. (2001) observaram soroprevalência de 47,63% em bovinos no Município de Garanhuns.

Altas porcentagens também foram verificadas na região Norte do país por AGUIAR et al. (2006), que encontraram soroprevalência de 52,8% em bovinos no Município de Monte Negro, Rondônia.

A prevalência de 64,81% (61,10% - 68,35%) em rebanhos encontrada no presente estudo revela-se bastante alta e assemelha-se à encontrada por CASTRO et al. (2008), que observaram prevalência de 71,3% (68,5% - 74%) entre as propriedades analisadas no Estado de São Paulo. Maior taxa de prevalência em rebanhos foi revelada no estudo de OLIVEIRA et al. (2009) no Estado da Bahia, 77,93% (75,73% - 79,99%). Ainda no Nordeste, OLIVEIRA et al. (2001) encontraram pelo menos um animal sororreagente em todas as propriedades analisadas no Município de Garanhuns, Pernambuco.

Na região Centro-Oeste foi observada prevalência de focos superior à encontrada no presente estudo no Estado do Maranhão, onde FIGUEIREDO et al. (2009) relataram prevalência de 90,4% (85,8% - 95,1%) de sororreação a *Leptospira* spp. nos rebanhos bovinos analisados no Estado do Mato Grosso do Sul.

Resultados bastante elevados de prevalência de focos também foram encontrados por HOMEM et al. (2001) no Município de Uruará, Pará, onde 97% (90,9% - 99,5%) dos rebanhos estudados foram considerados positivos. Ainda no Norte do país, no Município de Monte Negro, Rondônia, AGUIAR et al. (2006) relataram prevalência de 95,3% (88,5% - 98,7%) em rebanhos. Ambos os estudos na região Norte do país tiveram resultados de prevalência de focos de leptospirose superiores ao encontrado no presente estudo no Estado do Maranhão.

Ressalta-se a elevada prevalência de focos de leptospirose encontrada no Estado do Maranhão - 64,81% (61,10% - 68,35%) - sendo necessária a imediata elaboração de medidas de prevenção e controle dessa enfermidade, para que o estado consiga atingir melhores indicadores de produção animal, podendo equiparar-se a regiões mais produtivas do país e apresentar bons resultados como estado produtor agropecuário no cenário internacional.

As sorovariedades de *Leptospira* spp. mais encontradas pela SAM no presente trabalho foram Hardjo (24,32%), Wolffi (22,00%), Patoc (12,42%), Shermani (8,85%), Grippotyphosa (8,21%) e Hebdomadis (7,35%). A prevalência das sorovariedades Wolffi e Hardjo em fêmeas bovinas foi de 20,52% (17,94% - 23,37%), e a prevalência dessas sorovariedades em rebanhos do Estado do Maranhão foi de 38,18% (34,66% - 41,84%).

Embora com prevalências distintas, há concordância quanto à predominância das sorovariedades Hardjo e Wolffi, com os achados de diversos estudos, o que reforça a importância dessas sorovariedades infectando bovinos e acarretando prejuízos econômicos por ocasionarem problemas reprodutivos nesses animais. FAVERO et al. (2001), em levantamento realizado em 21 estados brasileiros, encontraram 51,5% de Hardjo e 24,2% de Wolffi. LILENBAUM & SOUZA (2003), no Rio de Janeiro, obtiveram 43,8% de reações a Hardjo e 24,7% a Wolffi. Em Minas Gerais, ARAÚJO et al. (2005) encontraram 19,7% de Hardjo e 13,2% de Wolffi. No Município de Pirassununga, SP, MARTINS (2005) encontrou a sorovariedade Hardjo como a mais frequente em bovinos (43,4%), seguida da sorovariedade Wolffi (11,8%). No Estado da Paraíba, a sorovariedade Hardjo foi a mais frequente, com 16,05% das reações positivas (LAGE et al., 2007). Em São Paulo, CASTRO et al. (2008) relataram as sorovariedades Hardjo (46%) e Wolffi (21%) como as mais presentes. FIGUEIREDO et al. (2009) encontraram como mais frequentes as sorovariedades Hardjo (65,6%) e Wolffi (12,3%). OLIVEIRA et al. (2009) revelaram a sorovariedade Hardjo como a mais frequente, ocorrendo em 14,95% dos animais analisados.

Da mesma forma, os resultados encontrados confirmam achados anteriores em levantamentos realizados por VASCONCELLOS et al. (1997), em uma análise de soros bovinos procedentes de diversos estados brasileiros, na qual verificaram que a sorovariedade Hardjo foi a predominante. PELLEGRIN et al. (1992), PELLEGRIN & SERENO (1994) e PELLEGRIN et al. (1999), na região do Pantanal Sul-Mato-Grossense, constataram a sorovariedade Hardjo como a mais observada, seguida pela sorovariedade Wolffi. No estudo de LANGONI et al. (2000), em SP, as mesmas sorovariedades foram encontrados como prevalentes, porém a sorovariedade Wolffi foi

a mais frequente (70,59%), seguida da Hardjo (67,57%). Já HOMEM et al. (2001), em Uruará, encontraram as sorovariedades Hardjo (61,2%) e Bratislava (9%) como as mais prevalentes, assim como OLIVEIRA et al. (2001), em Pernambuco, constataram Hardjo em 21,98% das reações e Bratislava em 15,73%. Na microrregião de Goiânia, GO, JULIANO et al. (2000) encontraram a sorovariedade Wolffi (36,1%) como a mais prevalente, seguida das sorovariedades Icterohaemorrhagiae (20,50%) e Hardjo (5,2%).

Diferentemente do encontrado nos estudos de HOMEM et al. (2001) e OLIVEIRA et al. (2001) acima citados, a sorovariedade Bratislava, muito frequente nos resultados desses autores, não foi observada neste trabalho.

No presente estudo, embora haja predominância das sorovariedades Hardjo e Wolffi, não deve ser descartada a possibilidade de reação cruzada na soroaglutinação microscópica, pois essas sorovariedades pertencem ao mesmo sorogrupo, *serjoe* (COSTA et al., 1998).

A terceira sorovariedade mais frequente neste estudo foi a Patoc (12,42%). MARTINS (2005) também observou a sorovariedade Patoc como a terceira mais presente (5,3%), ao lado da Autumnalis.

A sorovariedade Shermani foi a quarta mais frequente no presente estudo (8,85%). OLIVEIRA et al. (2009) encontraram a sorovariedade Shermani como a segunda mais frequente, após a sorovariedade Hardjo. HOMEM et al. (2001) colocaram a sorovariedade Shermani como predominante em rebanhos bovinos da Amazônia oriental brasileira.

Os resultados do presente estudo, em relação à presença de sorovariedades, corroboram os achados de CASTRO et al. (2008) em São Paulo, que encontraram, além de Hardjo e Wolffi, as sorovariedades Shermani, Autumnalis e Grippytyphosa como mais presentes.

A sorovariedade Grippytyphosa foi a quinta mais frequentemente (8,21%) encontrada no presente estudo. CASTRO et al. (2008) encontraram a sorovariedade Grippytyphosa (3,95%) como uma das mais frequentes no Estado de São Paulo. Da mesma forma, FIGUEIREDO et al. (2009) relataram essa sorovariedade entre as predominantes (4,3%) no Mato Grosso do Sul.

Entre as seis mais frequentemente (7,35%) observadas no presente estudo, a sorovariedade Hebdomadis também foi encontrada no Estado do Mato Grosso do Sul (2,3%), por FIGUEIREDO et al. (2009).

CASTRO et al. (2008) ressaltaram a importância de possuir ampla composição da bateria antigênica, pois sorovariedades como Shermani, Hebdomadis e Autumnalis, muitas vezes não presentes em baterias de exames de rotina, podem estar presentes infectando rebanhos.

Além da constante presença da sorovariedade Hardjo, cuja transmissão usualmente ocorre entre bovinos, em alguns rebanhos ou regiões podem ocorrer infecções acidentais por outras sorovariedades, cuja transmissão indireta está associada ao contato com o ambiente contaminado por *Leptospira* spp. oriunda de espécies selvagens ou de outras espécies domésticas. Cervídeos, capivaras e outras espécies selvagens podem atuar como reservatórios de *Leptospira* spp. para os rebanhos ao encontrar o habitat satisfatório (CASTRO et al., 2008).

O grande número de sorovariedades de *Leptospira* spp. encontrado no Estado do Maranhão, Patoc, Shermani, Grippotyphosa e Hebdomadis, Tarassovi, Autumnalis, Pyrogenes, Pomona, Copenhageni, Australis, Canicola, Castellonis, Icterohaemorrhagiae, Panama, Sentot, Andamana, reforça a suspeita da presença frequente e intensa de animais selvagens de vida livre nas propriedades rurais. Existem trabalhos que demonstram o grande número de sorovariedades acometendo animais selvagens de vida livre.

SILVA et al. (2010) colocaram que gambás (*Didelphis albiventris*) e cervídeos podem ser reservatórios das sorovariedades Patoc, Autumnalis, Icterohaemorrhagiae, Andamana e Canicola para animais domésticos como bovinos, caprinos, ovinos, suínos, equinos e cães. Sorovariedades acidentais como Patoc, Shermani, Hebdomadis, Autumnalis, Pyrogenes, Australis, Castellonis, Sentot e Andamana, detectadas no presente estudo e cujas descrições são relacionadas com animais silvestres (SANTA ROSA et al., 1975; SANTA ROSA et al., 1980), levantam a suspeita do envolvimento dessas espécies da fauna selvagem como reservatórios dessas sorovariedades para os bovinos.

Ainda em relação aos marsupiais, os gambás (*Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Didelphis marsupialis*) são reservatórios de várias sorovariedades, tais como Ballum, Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Szwajizam e Grippytyphosa (CUBAS et al., 2007). SILVA et al. (2010) encontraram as sorovariedades Autumnalis, Patoc e Icterohaemorrhagiae em gambás (*Didelphis albiventris*) e as sorovariedades Autumnalis, Andamana, Icterohaemorrhagiae, Patoc e Canicola em cervídeos.

SOUZA-JUNIOR et al. (2006), pesquisando anticorpos da classe IgM contra *Leptospira interrogans* em animais silvestres de vida livre do Estado do Tocantins, observaram que 16,1% (46 de 286) das amostras de sangue de macacos-prego (*Cebus apella*) foram positivas às sorovariedades Pomona, Brasiliensis, Mini, Swajizak, Grippythyposa, Sarmin, Fluminense, Autumnalis, Hebdomandis, Guaratuba, Javanica e Icterohaemorrhagiae; entre as 82 amostras de sangue de bugios (*Alouatta caraya*), duas (2,4%) foram positivas às sorovariedades Mangus e Fluminense. Das 31 de quatis (*Nasua nasua*), quatro (12,9%) foram positivas às sorovariedades Javanica e Fluminense. Duas das 10 (20%) amostras de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) foram positivas às sorovariedades Brasiliensis e Fluminense.

Em relação à ordem Rodentia, o rato-de-esgoto (*Rattus norvegicus*) é importante reservatório da sorovariedade Icterohaemorrhagiae, sorovariedade esta que também é frequentemente encontrada no preá (*Cavia aperae azarae*). O rato-d'água (*Nectomys squamipes*) é o principal reservatório da sorovariedade Australis. Já em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), as sorovariedades Hardjo, Pomona e Grippytyphosa são as mais vistas. Em cutias (*Dasyprocta spp.*), observa-se predominantemente a sorovariedade Castellonis (CUBAS et al., 2007).

É importante destacar que a sorovariedade Icterohaemorrhagiae, de grande relevância para a saúde pública (BRASIL, 2005) e frequentemente isolada de roedores (ACHA & SZYFRES, 2001), teve pouca ocorrência em fêmeas bovinas no Estado do Maranhão (0,48%). Resultados diferentes foram obtidos por JULIANO et al. (2000) em Goiânia e por FIGUEIREDO et al. (2009) no Mato Grosso do Sul, os quais relataram ocorrência de 20,6% e 5,8% dessa sorovariedade entre os animais reagentes, respectivamente.

Outras sorovariedades encontradas no presente estudo, além da *Icterohaemorrhagiae*, como Patoc, Shermani, Grippotyphosa e Hebdomadis, podem representar importância para a saúde pública caso o ambiente esteja bastante contaminado com urina de animais infectados e a dose infectante em uma população exposta seja alta. Além disso, uma condição pré-existente de imunodeficiência em um indivíduo ou em um grupo de indivíduos expostos a ambientes contaminados por essas demais sorovariedades pode gerar, nesses indivíduos, um quadro clínico grave, mesmo sendo baixa a dose infectante.

O circuito III foi o que apresentou menor prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas (15,53%; IC 95% = 11,05 - 21,39) e em rebanhos (30,33%; IC 95% = 22,79 - 39,10). Também apresentou menor prevalência das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em fêmeas (2,63%; IC 95% = 0,96 - 6,99) e em rebanhos (3,28%; IC 95% = 1,23 - 8,46). Esse achado se deve, possivelmente, às características climáticas desse circuito, pois é uma região onde ocorrem longas estiagens. O circuito III corresponde a uma região do Estado do Maranhão na qual se observam características marcantes do bioma Caatinga, bioma este que, pelos baixos índices pluviométricos e pela elevada temperatura média anual, não fornece boas condições à sobrevivência de *Leptospira* spp. Já nos circuitos I, II e IV observam-se características dos biomas Zona Costeira, Amazônia e Cerrado, respectivamente, regiões com índices pluviométricos mais altos. Por isso, são necessárias estratégias de controle mais eficientes para a leptospirose nesses três circuitos, principalmente em locais com saneamento precário e presença constante de animais selvagens reservatórios, especialmente roedores, espécies caracterizadas como fatores de risco da enfermidade no presente estudo.

Há estudos relacionando a ocorrência de casos de leptospirose com as condições do ambiente. Num estudo da distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, BARCELLOS et al. (2003) identificaram áreas de maior risco e possíveis componentes ecológicos da transmissão da leptospirose. As maiores taxas de ocorrência da doença foram verificadas em áreas litorâneas, de baixa altitude e uso do solo predominantemente agrícola, de lavoura irrigada. Esses locais, segundo o estudo,

possuem características ecológicas favoráveis à proliferação de roedores, favorecendo a transmissão de *Leptospira* spp.

Com o objetivo de analisar os fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas, DELBEM et al. (2004) apontaram como fatores de risco a existência de áreas alagadiças próximas às instalações, o uso de bebedouro tipo canaleta e a inexistência de higienização do reservatório de água.

A presença de mais de 32 animais em rebanhos bovinos (OR = 2,069; IC 95% = 1,312 - 3,262; $p < 0,002$) foi identificada, no presente estudo, como fator de risco de leptospirose por qualquer sorovariedade. Resultados semelhantes foram encontrados por OLIVEIRA et al. (2010), que, ao analisarem possíveis fatores de risco de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, concluíram que a presença de mais de 28 fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses (OR = 2,11; IC 95% = 1,27 - 3,52; $p < 0,001$) é fator de risco de leptospirose por qualquer sorovariedade. Da mesma maneira, MARTINS (2005) concluiu que ter mais de 21 cabeças no rebanho (OR = 14,354; IC 95% = 1,535 - 134,215) é fator de risco para leptospirose por qualquer sorovariedade.

A presença de capivaras também foi identificada como fator de risco de leptospirose (OR = 3,817; IC 95% = 1,110 - 13,132; $p = 0,034$) no presente estudo. OLIVEIRA et al. (2010) também identificaram a participação de animais selvagens como fator de risco para a enfermidade. Nesse trabalho, constataram que a presença de cervídeos foi fator de risco de leptospirose (OR = 2,02; IC 95% = 1,16 - 3,50; $p = 0,01$).

O questionário elaborado por técnicos da AGED-MA e do MAPA para brucelose foi utilizado no presente estudo para a análise de possíveis fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. Entre as variáveis, é importante destacar presença de animais silvestres, presença de cervídeos, presença de capivaras e presença de outros silvestres. É sabida a importância de espécies selvagens de vida livre como reservatórios de um grande número de sorovariedades de *Leptospira* spp. Além disso, é importante destacar que presença de capivaras foi fator de risco neste estudo, porém presença de animais silvestres e presença de outros silvestres não foram consideradas fatores de risco. Isso se deve, muito possivelmente, ao fato de

essas duas variáveis serem relacionadas a aves silvestres e não a mamíferos, visto que as aves não são importantes na cadeia epidemiológica da leptospirose e, portanto, o valor de “p” para essas variáveis foi alto, não significativo. Quando se isola uma variável só para roedores, o valor de “p” fica automaticamente significativo devido à grande importância dessas espécies na cadeia epidemiológica da leptospirose.

7. CONCLUSÃO

As sorovariedades Hardjo e Wolffi foram as mais frequentes em todo Estado do Maranhão, seguidas pelas sorovariedades Patoc, Shermani, Grippytyphosa e Hebdomadis, Tarassovi, Autumnalis, Pyrogenes, Pomona, Copenhageni, Australis, Canicola, Castellonis, Icterohaemorrhagiae, Panama, Sentot e Andamana. Foi observado um elevado número de sorovariedades de *Leptospira* spp. devido, muito possivelmente, à constante presença de mamíferos selvagens de vida livre nas propriedades rurais. Esses achados apontam a importância de estudar a leptospirose em animais selvagens de vida livre que vivem no entorno de propriedades rurais, para que medidas de manejo sejam postas em prática a fim de reduzir a presença dessas espécies reservatórios nas propriedades e, com isso, prevenir e controlar essa enfermidade de maneira mais eficiente.

Além das sorovariedades Icterohaemorrhagiae e Copenhageni, outras encontradas no presente estudo, como Patoc, Shermani, Grippytyphosa e Hebdomadis, podem representar importância para a saúde pública caso o ambiente esteja bastante contaminado com urina de animais infectados e a dose infectante em uma população exposta seja alta. Além disso, uma condição pré-existente de imunodeficiência em um indivíduo ou em um grupo de indivíduos expostos a ambientes contaminados por essas demais sorovariedades pode gerar, nesses indivíduos, um quadro clínico grave, mesmo sendo baixa a dose infectante. Portanto, pode-se concluir que um ambiente com grande número de sorovariedades pode ser risco para a saúde pública.

O Estado do Maranhão possui alta prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses, sendo o circuito IV o de maior prevalência, seguido pelos circuitos I, II e III.

Alta prevalência de focos de leptospirose também foi encontrada nesse Estado, sendo o circuito II o de maior prevalência, seguido pelos circuitos IV, I e III.

O Estado do Maranhão possui alta prevalência das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses, sendo o circuito I o de maior prevalência, seguido pelos circuitos II, IV e III.

Alta prevalência das sorovariedades de *Leptospira* spp. Hardjo e/ou Wolffi em rebanhos também foi encontrada nesse Estado, sendo o circuito I o de maior prevalência, seguindo pelos circuitos II, IV e III.

Esses achados permitem concluir que a prevalência da leptospirose no Estado do Maranhão está diretamente relacionada às características climáticas. O circuito III corresponde a uma região do Estado do Maranhão na qual se observam características marcantes do bioma Caatinga, o qual possui baixos índices pluviométricos e apresenta elevada temperatura média anual, portanto, não fornece boas condições à sobrevivência de *Leptospira* spp. Justifica-se, então, a baixa prevalência de leptospirose encontrada nesse circuito. Já nos circuitos I, II e IV observam-se características dos biomas Zona Costeira, Amazônia e Cerrado, respectivamente, regiões com índices pluviométricos mais altos. Por isso, são necessárias estratégias de prevenção e de controle mais eficientes para a leptospirose nesses três circuitos, principalmente em locais com saneamento precário e presença constante de animais selvagens reservatórios, especialmente roedores, espécies caracterizadas como fatores de risco da enfermidade no presente estudo.

Houve diferenças significativas entre as prevalências de leptospirose em fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses de todos os circuitos pecuários comparados dois a dois.

Houve diferenças significativas entre as prevalências de leptospirose em rebanhos dos circuitos I e III, II e III, III e IV. Não houve diferenças significativas entre as prevalências dos circuitos I e II, I e IV, II e IV.

Houve diferenças significativas entre as prevalências das sorovariedades Wolffi e/ou Hardjo em fêmeas bovinas com idade igual ou maior que 24 meses de todos os circuitos pecuários comparados dois a dois, exceto dos circuitos II e IV, cuja diferença não foi significativa.

Houve diferenças significativas entre as prevalências das sorovariedades Wolffi e/ou Hardjo em rebanhos de todos os circuitos pecuários comparados dois a dois, exceto dos circuitos I e II, cuja diferença não foi significativa.

As variáveis presença de equinos, presença de capivaras e rebanhos bovinos com fêmeas com idade igual ou maior que 24 meses acima de 32 cabeças foram identificadas como fatores de risco de leptospirose. Esses achados colocam a importância de evitar elevadas densidades de animais em um rebanho, pois aumentam as chances de transmissão da leptospirose de uma fonte de infecção a hospedeiros suscetíveis. Além da densidade, a presença de capivara como fator de risco reforça a importância dos animais selvagens de vida livre como reservatórios de leptospirose para animais domésticos. Com isso, é válido mencionar, mais uma vez, a necessidade de elaborar medidas de manejo que reduzam a presença dessas espécies de reservatórios nas propriedades e, com isso, prevenir e controlar essa enfermidade de maneira mais eficiente.

8. REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**, 3ed. Washington: OPS, 2001. 503p. (Publicación científica, 398).

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

ARAÚJO, V.E.M.; MOREIRA, E.C.; NAVEGA, L.A.B.; SILVA, J.A.; CONTRERAS R.L.. Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.57, n.4, p.430-435, 2005.

BARCELLOS, C.; LAMMERHIRT, C.B.; ALMEIDA, M.A.B.; SANTOS, E. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.19, n.5, p. 1283-1292, 2003.

BATISTA, C.S.A.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; CLEMENTINO, I.J.; ALVES, F.A.L.; LIMA, F.S.; ARAÚJO-NETO, J.O. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.57, suppl.2, p.179-185, 2005.

BLAHA, T. **Applied veterinary epidemiology**. Amsterdam: Elsevier, p.95-103, 1989.

BLENDEN, D.C. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. In: REUNIÓN INTERAMERICANA SOBRE EL CONTROL DE LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS ZONOSIS, 8, 1976, Guatemala. Washington: Organización Panamericana de La Salud, 1976. p.160-168 (Publicación Científica, 316).

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Leptospirose**. 2ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1995. 98p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6.ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2005. p.502-520.

CASTRO, V.; AZEVEDO, S.S.; GOTTI, T.B.; BATISTA, C.S.A.; GENTILI, J.; MORAIS, Z.M.; SOUZA, G.O.; VASCONCELLOS, S.A.; GENOVEZ, M.E. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.3-11, 2008.

CERVANTES, L.P.M.; PUEBLA, M.A.C.; ROSAS, D.G., SERRANÍA, N.R.; BARRANCA, J.I.T. Estudio serológico de leptospirosis bovina en México. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, La Habana, v.54, n.1, p.24-27, 2002.

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

CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Editora Roca, 2007. p.736-741.

DELBEM, A.C.B.; FREIRE, R.L.; SILVA, C.A.; MÜLLER, E.E.; DIAS, R.A.; NETO, J.S.F.; FREITAS, J.C. Fatores de risco associados a soropositividade para leptospirose em matrizes suínas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.3, p.847-852, 2004.

EPI INFO 6.04d. Atlanta: Center for Diseases Control and Prevention, 2001. Disponível em <<http://www.cdc.gov>>. Acesso em: 10 set.2001.

FAVERO, M.; PINHEIRO, S.R., VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA F.; FERREINA NETO, J.S. Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.2, p.29-35, 2001.

FIGUEIREDO, A.O.; PELLEGRIN, A.O.; GONÇALVES, V.S.P.; FREITAS, E.B.; MONTEIRO, L.A.R.C.; OLIVEIRA, J.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.29, n.5, p.375-381, 2009.

GUIMARÃES, M.C.; CÔRTEZ, J.A.; VASCONCELLOS, S.A. Epidemiologia e controle de leptospirose em bovinos. Papel do portador e seu controle terapêutico. **Comunidade Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, São Paulo, v.6/7, p. 21-34, 1982/1983.

HERRMANN, G.P.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C.; HADDAD, J.P.A.; RESENDE, J.R.; RODRIGUES, R.O.; LEITE, R.C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira spp.* em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.443-448, 2004.

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

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Dados do Estado do Maranhão**. Rio de Janeiro: IBGE, 2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ma>>. Acesso em: 12.abr.2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário de 2006**. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuario.pdf>>. Acesso em: 12.abr.2010.

JULIANO, R.S.; CHAVES, N.S.T.; SANTOS, C.A.; RAMOS, L.S.; SANTOS, H.Q.; MEIRELES, L.R.; GOTTSCHALK, S.; CORRÊA-FILHO, R.A.C. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro da microrregião de Goiânia-GO. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.5, p.857-862, 2000.

LAGE, A.P.; LEITE, R.M.H., THOMPSON, J.A.; BANDEIRA, D.A., HERRMAN, G.P.; MOREIRA, E.C.; GONÇALVES, V.S.P. Serology for *Leptospira* sp. in cattle of the State of Paraíba, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.3, p.185-190, 2007.

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

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

MADRUGA, C.R.; AYCARDI, E.; PUTT, N. Frequência de aglutininas anti-leptospira em bovinos de corte na região Sul de Cerrado do Estado de Mato Grosso. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.245-249, 1980.

MAGAJEVSKI, F.S.; GIRIO, R.J.S.; MEIRELLES, R.B. Pesquisa de *Leptospira* em fetos de vacas abatidas no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.2, p.67-72, 2007.

MARTINS, L.S. **Situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana na área rural do município de Pirassununga, SP**. 2005. 79f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

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

OIE. Leptospirosis, Chapter 2.2.4. World Organisation for Animal Health. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00043.htm>. Acesso em: 06jan.2006.

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

OLIVEIRA, F.C.S.; AZEVEDO, S.S.; PINHEIRO, S.R.; VIEGAS, S.A.R.A.; BATISTA, C.S.A.; COELHO, C.P.; MORAES, Z.M.; SOUZA, G.O.; GONÇALES, A.P.; ALMEIDA, C.A.S.; VASCONCELLOS, S.A. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p.539-546, 2009.

OLIVEIRA, F.C.S.; AZEVEDO, S.S.; PINHEIRO, S.R.; BATISTA, C.S.A.; MORAES, Z.M.; SOUZA, G.O.; GONÇALES, A.P.; VASCONCELLOS, S.A. Fatores de risco para a

leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.30, n.5, p.398-402, 2010.

PELLEGRIN, A.O.; SERENO, J.R.B. Leptospirose e sua relação com fertilidade em um grupo de matrizes neloradas no Pantanal, sub-região da Nhecolândia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23, 1994, Olinda. Resumos: p.189.

PELLEGRIN, A.O.; SERENO, J.R.B.; FIGUEIREDO, J.O. Levantamento sorológico de aglutininas anti-leptospira em bovinos da sub-região da Nhecolândia, Pantanal Sul-Matogrossense. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 22, 1992, Curitiba. Anais: p.145.

PELLEGRIN, A.O.; GUIMARÃES, P.H.S.; SERENO, J.R.B.; FIGUEIREDO, J.P.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. Corumbá: Embrapa Pantanal, 1999. p.1-9 (Comunicado Técnico, 22).

PINTO, C.M. **Utilização do papel de filtro para o transporte de amostras destinadas à reação de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em hamsters (*Mesocricetus auratus*) experimentalmente infectados com *Leptospira interrogans* sorotipo pomona**. 1997, 39f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3.ed., Belo Horizonte: FEP-MVZ, 2007. 264 p.

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

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

SILVA, F. J.; MATHIAS, L. A.; MAGAJEVSKI, F. S.; WERTHER, K.; ASSIS, N. A.; GIRIO, R. J. S. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal/SP. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.17-25, 2010.

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

SPSS INC. **Spss base 9.0 user's guide**. Chicago: SPSS Inc., 1999. 740p.

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

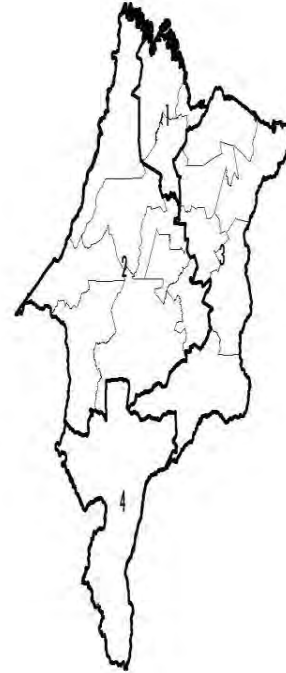
THOMPSON, J.A.; LEITE, R.M.H.; GONÇALVES, V.S.P.; LEITE, R.C.; BANDEIRA, D.A.; HERRMANN G.P., MOREIRA, E.C.; PRADO, P.E.F., LOBATO, Z.I.P.; BRITO, C.P.T.; LAGE A.P. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.76, p.290-301, 2006.

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


VASCONCELLOS, S.A.; BARBARINI JUNIOR, O.O.; UMEHARA, O. Leptospirose bovina, níveis de ocorrência e sorotipos predominantes dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Período de Janeiro a Abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.64, n.2, p.7-15, 1997.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. 3.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1996. 662p.


Anexo I. Mapa do Estado do Maranhão com os principais municípios e estratificado em quatro circuitos amostrais.



Anexo II. Questionário



Ministério da Agricultura, Pecuária e
Abastecimento
Secretaria de Defesa Agropecuária
DEPARTAMENTO DE DEFESA ANIMAL - DDA



AGED-MA
AGÊNCIA ESTADUAL DE DEFESA
AGROPECUÁRIA DO MARANHÃO

BRUCELOSE BOVINA E BUBALINA

Estudo soroepidemiológico

01-Identificação: Município: _____ REGIÃO _____ U.F.: _____	02 - Data da visita e colheita / /
Proprietário: _____	03 - Código do rebanho no estudo (9 dígitos) _ _ _ _ _ _ _ _ _
Propriedade: _____	04 - Coordenadas Lat _____° _____' _____" Lon _____° _____' _____"
Código de cadastro no serviço de defesa: _____	Altitude _____

05- Tipo da Exploração: corte leite mista
 06- Tipo de Criação: confinado semi-confinado extensivo
 07- Nº de Ordenhas por dia: 1 ordenha 2 ou 3 ordenhas Não ordenha
 08- Tipo de Ordenha: manual mecânica ao pé mecânica em sala de ordenha Não ordenha
 09- Produção de leite: a) Nº de vacas em lactação: _____
 b) Produção diária de leite na fazenda: _____ litros
 10- Usa inseminação artificial? não usa inseminação artificial e touro usa só inseminação artificial
 11- Raça predominante - Bovinos: zebu europeu de leite europeu de corte mestiço outras raças
 - Bubalinos: murrâh mediterrâneo carabao jaffarabadi outras raças

12(a)- Bovinos existentes					12(b)- Bubalinos existentes														
Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)				Machos Castrados	Machos inteiros (meses)				Fêmeas (meses)					
	Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24		> 24	Total	0-6	6-12	12-24	> 24	0-6	6-12	12-24	> 24

13- Outras espécies na propriedade: ovinos/caprinos equídeos suínos aves cão gato
 14- Espécies silvestres em vida livre na propriedade: não tem cervídeos capivaras outras: _____
 15- Alguma vaca/búfala abortou nos últimos 12 meses? não sim não sabe
 16- O que faz com o feto abortado e a placenta? enterra/joga em fossa/queima alimenta porco/cão não faz nada
 17- Faz testes para diagnóstico de brucelose? não sim
 Regularidade dos testes: uma vez ao ano duas vezes ao ano quando compra animais
 quando há casos de aborto na fazenda quando exigido para trânsito/eventos/crédito
 18- Compra fêmeas ou machos com finalidade de reprodução? não sim
 Onde/de quem: em exposição em leilão/feira de comerciante de gado diretamente de outras fazendas
 19- Vende fêmeas ou machos para reprodução? não sim
 A quem/onde: em exposição em leilão/feira a comerciante de gado diretamente a outras fazendas
 20- Vacina contra brucelose? não sim, apenas fêmeas até 8 meses de idade sim, fêmeas de qualquer idade
 21- Local de abate das fêmeas e machos adultos no fim da vida reprodutiva:
 na própria fazenda em estabelecimento sem inspeção veterinária
 em estabelecimento de abate com inspeção veterinária não abate
 22- Aluga pastos em alguma época do ano? não sim
 23- Tem pastos em comum com outras propriedades? não sim
 24- Existem na propriedade áreas alagadiças às quais o gado tem acesso? não sim
 25- Tem piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto? não sim
 26- A quem entrega leite? cooperativa laticínio direto ao consumidor não entrega
 27- Resfriamento do leite: não faz faz Como: em resfriador ou tanque de expansão próprio
 em resfriador ou tanque de expansão coletivo
 28- A entrega do leite é feita a granel? não sim
 29- Produz queijo e/ou manteiga na propriedade? não sim Finalidade: p/ consumo próprio p/ venda
 30- Consome leite cru? não sim
 31- Tem assistência veterinária? não sim De que tipo? veterinário da cooperativa veterinário particular

NOME DO VETERINÁRIO _____
ASSINATURA _____