

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

**EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR *Leptospira* spp. EM
ÁREAS RURAIS NOS BIOMAS BRASILEIROS**

Felipe Jorge da Silva

Médico Veterinário

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR *Leptospira* spp. EM
ÁREAS RURAIS NOS BIOMAS BRASILEIROS

Felipe Jorge da Silva

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

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária, área Medicina Veterinária Preventiva.

Silva, Felipe Jorge
Se Epidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em áreas rurais
nos biomas brasileiros. / Felipe Jorge Silva. -- Jaboticabal, 2014
xv, 154 f. : il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014
Orientador: Luis Antonio Mathias
Banca examinadora: Sílvio Arruda Vasconcellos, Vera Cláudia
Magalhães Curci, Luiz Augusto do Amaral, Samir Issa Samara
Bibliografia

1. Leptospirose. 2. Isolamento. 3. Áreas Rurais. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU

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. Obteve o título de Mestre em Medicina Veterinária, área de Medicina Veterinária Preventiva, pela FCAV-Unesp - Jaboticabal, em fevereiro de 2011. Em março de 2011 iniciou o Curso de Doutorado em Medicina Veterinária, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV - Unesp - Jaboticabal. Professor de Epidemiologia do Curso de Medicina Veterinária da Fundação Municipal de Ensino Superior de Bragança Paulista desde fevereiro de 2013. Atuação na área de Medicina Veterinária Preventiva e Epidemiologia.

Se você precisar muito de água, reze para chover.
Se você tem acordado com frio, arranje uma forma de se esquentar.
Se você quiser uma árvore que te leve ao céu, plante sementes que cresçam até lá.
Se você precisar de algo para acreditar

Amar nunca será fácil, já tentei arduamente
esconder meu choro, enxugar as lágrimas dos meus olhos.
Se você realmente precisar de alguém, eu espero estar por perto
para envolver meus braços em você.

Em cada mudança de maré,
em cada o brilho da lua,
em cada o som da chuva,
em cada doce aroma do orvalho,
eu estarei andando sozinho
pensando em nós dois.

Per Gessle & Marie Fredrikson

Dedico este trabalho a meus pais, Francisco e Magali, a minha irmã, Bruna, e a minha noiva, Juliana. Vocês são a luz do meu caminho!

AGRADECIMENTOS

A todos os meus familiares. Vocês fazem parte da minha caminhada.

Ao Professor Mathias. Obrigado por tudo o que você me ensinou.

Aos cunhados Carol e Miguel. Através deles conheci a mulher mais linda do mundo.

Ao meu amigo Carlos, “Cuiabano”, por toda ajuda e paciência.

À Fapesp, pelo enorme apoio durante todo o doutorado.

À Faceira. Suas quatro rodas me guiaram por todo um país.

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

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Muito obrigado!

SUMÁRIO	Página
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	ix
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA HUMANA.....	x
CERTIFICADO PARA TRABALHO ENVOLVENDO ANIMAIS SELVAGENS.....	xi
RESUMO.....	xiv
SUMMARY.....	xv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3 JUSTIFICATIVA.....	14
3.1 Propriedades de agricultura familiar.....	14
3.2 Ausência de espécie-alvo.....	14
3.3 Atividades em ampla área geográfica.....	15
3.4 Ineditismo.....	15
4 OBJETIVO.....	16
4.1 Objetivo geral.....	16
4.2 Objetivos específicos.....	16
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1 Escolha dos municípios e das propriedades dentro de cada bioma.....	17
5.2 Amostragem.....	18
5.3 Captura e contenção de animais selvagens de vida livre.....	20
5.4 Contenção física de animais domésticos.....	21
5.5 Obtenção, processamento e armazenamento das amostras.....	21
5.5.1 Animais.....	21
5.5.2 Humanos.....	23
5.6 Diagnóstico.....	27
5.6.1 Diagnóstico sorológico.....	27
5.6.1.1 Preparo dos antígenos vivos de <i>Leptospira</i> spp.....	28
5.6.1.2 Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM).....	28
5.6.2 Isolamento de <i>Leptospira</i> spp.....	30
5.6.3 Genotipagem das estirpes de isolado.....	31
5.6.4 Análises filogenéticas.....	32

5.7 Análise de fatores de risco.....	32
5.8 Mapeamento.....	35
5.9 Descarte de material biológico.....	35
6 RESULTADOS.....	36
6.1 Animais selvagens de vida livre capturados.....	36
6.2 Animais domésticos e seres humanos amostrados.....	39
6.3 Sorologia.....	40
6.4 Isolamento.....	64
6.5 Análise de fatores de risco.....	75
6.6 Tabulação das anotações do questionário.....	85
6.7 Mapeamento.....	88
6.8 Problemática.....	88
6.8.1 Amostragem.....	88
6.8.2 Escassez de referências.....	88
7 DISCUSSÃO.....	90
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
9 CONCLUSÃO.....	100
10 REFERÊNCIAS.....	101
APÊNDICES.....	109
Apêndice A.....	110
Apêndice B.....	141
Apêndice C.....	154

unespUNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal**CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 027958/10 do trabalho de pesquisa intitulado **"Caracterização epidemiológica da leptospirose em animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos em propriedades de agricultura familiar nos diversos biomas brasileiros"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luis Antonio Mathias está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 17 de dezembro de 2010.

Jaboticabal, 20 de dezembro de 2010.


Prof. Dr. Jeffrey Frederico Lui
Presidente - CEUA
Med. Vet. Maria Alice de Campos
Secretária - CEUA



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.usp.br



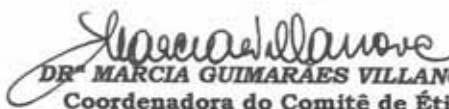
Ribeirão Preto, 25 de maio de 2011

Ofício nº 1816/2011
CEP/MGV

Prezado Senhor,

O trabalho intitulado **“CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS SELVAGENS DE VIDA LIVRE, ANIMAIS DOMÉSTICOS E SERES HUMANOS EM PROPRIEDADES DE AGRICULTURA FAMILIAR NOS DIVERSOS BIOMAS BRASILEIROS”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em sua 324ª Reunião Ordinária realizada em 23/05/2011, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo o Processo HCRP nº 14630/2010.

Atenciosamente,


DRª MARCIA GUIMARAES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
FELIPE JORGE DA SILVA
Rua Padre Justino Ferreira da Rocha, 51, Apto. 13
Nova Aparecida
14883-358 – Jaboticabal/SP

Comitê de Ética em Pesquisa HCRP e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA – 0000 2733; IRB – 0000 2186 e Registro SISNEP/CONEP nº 4
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SisBio

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 26185-1	Data da Emissão: 07/02/2011 16:18
Dados do titular	
Nome: Felipe Jorge da Silva	CPF: 312.036.108-90
Título do Projeto: Estudo epidemiológico da leptospirose em animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos em propriedades de agricultura familiar nos diversos biomas brasileiros	
Nome da Instituição: Universidade Estadual Paulista	CNPJ: 48.031.918/0001-24

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Realização de disciplinas do programa de doutorado	03/2011	12/2011
2	Realização das atividades de campo	06/2011	05/2014
3	Realização das atividades laboratoriais de diagnóstico	06/2011	06/2014
4	Compilação dos resultados obtidos	07/2014	07/2014
5	Análise e tratamento dos dados	07/2014	08/2014
6	Elaboração da tese de doutorado e artigo científico	08/2014	10/2014
7	Defesa da tese	12/2014	12/2014

De acordo com o art. 33 da IN 154/2007, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas à autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exonera o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 102/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constantes de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Arye Kawanami	Pesquisadora	326.776.618-13	284615685 SSP-SP	Brasileira
2	Cintia Gabriela Candido	Pesquisadora	277.536.538-81	296907148 SSP-SP	Brasileira
3	Yann Werther	Pesquisadora	532.620.309-00	7647442 SSP-SP	Brasileira
4	Nivaldo Aparecido de Assis	Assistente de Suporte Acadêmico II	074.530.248-38	13486860 SSP-SP	Brasileira
5	Luzi Antonio Matheus	Pesquisador	882.106.298-49	828773098 -	Brasileira
6	Gabriela Gomes Rivera	Pesquisadora	382.376.768-23	-	Brasileira
7	Juliana Paula de Oliveira	Pesquisadora	047.224.078-08	88720067 SSP-PR	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do SisBio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91624475



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 26185-1	Data da Emissão: 07/02/2011 16:18
Dados do titular	
Nome: Felipe Jorge da Silva	CPF: 312.036.108-90
Título do Projeto: Estudo epidemiológico da leptospirose em animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos em propriedades de agricultura familiar nos diversos biomas brasileiros	
Nome da Instituição: Universidade Estadual Paulista	CNPJ: 48.031.918/0001-24

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		RS	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
2		ES	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
3		MA	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
4		RS	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
5		RS	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
6		RS	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
7		SC	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
8		SP	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
9		MG	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
10		MO	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
11		GO	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
12		MT	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
13		MS	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
14		MT	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
15		MT	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
16		BA	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
17		PE	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
18		CE	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
19		MT	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
20		RR	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
21		MA	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
22		MO	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
23		MT	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC
24		MA	Propriedade rural de agricultura familiar	Fora de UC

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Agouti paca, Nasua nasua, Hydrochaeris hydrochaeris, Rattus rattus, Dasyprocta, Rattus norvegicus, Didelphis, Cerdocyon thous
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Rattus rattus, Hydrochaeris hydrochaeris, Nasua nasua, Agouti paca, Cerdocyon thous, Dasyprocta, Rattus norvegicus, Didelphis
3	Marcação de animais silvestres in situ	Agouti paca, Nasua nasua, Hydrochaeris hydrochaeris, Cerdocyon thous, Rattus norvegicus, Didelphis, Dasyprocta, Rattus rattus

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Carnívoros)	Feces, Urina, Sangue, Ectoparasita, Pêlo
2	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Ectoparasita, Urina, Feces, Sangue, Pêlo
3	Método de captura/coleta (Carnívoros)	Armadilha tipo gaiola com atração por iscas ("Box Trap/Tomahawk/Sherman")
4	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Armadilha tipo gaiola com atração por iscas ("Box Trap/Tomahawk/Sherman")
5	Método de marcação (Carnívoros)	Outros métodos de marcação (tatuagem de pelos)
6	Método de marcação (Outros mamíferos)	Outros métodos de marcação (tatuagem de pelos)

Destino do material biológico coletado

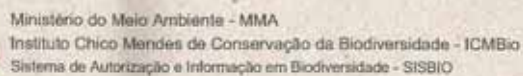
#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Universidade Estadual Paulista	Instituição de ensino

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91624475



Página 2/3



Número: 26185-1

Data da Emissão: 07/02/2011 16:18

Dados do titular

Nome: Felipe Jorge da Silva

CPF: 312.038.108-90

Título do Projeto: Estudo epidemiológico da leptospirose em animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos em propriedades de agricultura familiar nos diversos biomas brasileiros

Nome da Instituição : Universidade Estadual Paulista

CNPJ: 48.031.918/0001-24

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

[illegible]

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/CMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 91624475



Página 3/3

EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR *Leptospira* spp. EM ÁREAS RURAIS NOS BIOMAS BRASILEIROS

RESUMO - Propriedades de agricultura familiar são importantes locais a serem considerados como unidades de estudos na área de medicina veterinária preventiva, pois seu ambiente e as características de manejo dos animais normalmente empregadas favorecem o contato entre as diferentes espécies e, dessa forma, há maiores chances de transmissão de agentes infecciosos com potencial zoonótico. O objetivo do trabalho foi descrever aspectos epidemiológicos da infecção por *Leptospira* spp. e da ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em populações humanas e animais em propriedades rurais nos biomas brasileiros. Foram colhidas amostras de sangue e de urina de animais selvagens de vida livre, animais domésticos e de seres humanos. Para o diagnóstico sorológico de leptospirose, foi realizada a prova de soroaglutinação microscópica (SAM). As amostras de urina foram semeadas em meios de cultura Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris - Difco^R (EMJH) e Fletcher - Difco^R. As amostras das quais houve isolamento das bactérias foram genotipadas, utilizando a técnica Multiple Locus Variable number tandem repeat (MLVA), no Laboratório de Leptospirose do Instituto de Patobiologia, Centro de Investigação em Ciências Veterinárias e Agronômicas, do Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (INTA), Buenos Aires, Argentina. Para a determinação dos fatores de risco de leptospirose, foi aplicado um questionário aos indivíduos de cada propriedade. Realizou-se uma análise univariada, utilizando-se o teste exato de Fisher, a fim de verificar a associação de cada um dos possíveis fatores de risco com a variável dependente. Posteriormente foi realizada uma análise multivariada, na qual foi construído um modelo de regressão logística. Nas diferentes espécies, as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos foram Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Grippotyphosa, Pomona, Canicola, Wolffi, Hardjo, Panama, Tarassovi, Hebdomadis, Shermani, Bratislava, Bataviae, Australis, Castellonis, Andamana, Autumnalis, Pyrogenes, Whiticombi, Javanica e Patoc. Houve isolamento de *Leptospira* spp. em 20 amostras a partir da cultura de urina das diferentes espécies analisadas e as leptospiros isoladas foram *Leptospira interrogans*, *L. interrogans* sorogrupo Pomona, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae estirpe RGA, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130, *L. interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV e *Leptospira borgpetersenii*. Não foi possível constatar associação entre a ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* nas diferentes espécies e os fatores analisados. Houve propriedades nas quais uma mesma estirpe foi isolada de mais de uma espécie de hospedeiro, resultado que sugere a possibilidade de transmissão interespecífica do agente. Os profissionais de saúde no Brasil precisam ser mais comprometidos com a atenção primária à saúde e rotineiramente aplicar ações de medicina preventiva nas comunidades rurais, a fim de obter sucesso no controle da leptospirose e de outras importantes zoonoses.

Palavras-Chave: *Leptospira* spp., Isolamento, SAM, Fatores de risco, Mapeamento, Propriedades Rurais

EPIDEMIOLOGY OF THE INFECTION OF *Leptospira* spp. IN RURAL AREAS IN THE BRAZILIAN BIOMES

SUMMARY - Family farming properties are important places to be considered units of study in the field of Preventive Veterinary Medicine because their environment and handling characteristics of animals typically employed promote the contact between the different species and thus there are greater chances of transmission of infectious agents with zoonotic potential. The objective of this study was to describe epidemiological aspects of the *Leptospira* spp. infection and of the occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in humans and animals populations in farms in the Brazilian biomes. Were harvested from free-living wild animals, domestic animals and humans, samples of blood and urine. For serological analysis, the microscopic agglutination test (MAT) was performed. Urine samples were seeded on media Ellinghausen, McCullough, Johnson and Harris culture - Difco[®] (EMJH) and Fletcher - Difco[®]. Samples of which was isolated the bacteria were genotyped, using the technique Multiple Locus Variable number tandem repeat (MLVA), in Leptospirosis Laboratory of the Institute of Pathobiology, Center for Research in Veterinary and Agricultural Sciences, National Institute of Agricultural Technology (INTA), Buenos Aires, Argentina. To determine the risk factors of leptospirosis, a questionnaire was applied to the people of each property. Univariate analysis was performed using the Fisher exact test in order to verify the association of each of the possible risk factors with the dependent variable. Subsequently, was performed a multivariate analysis, which was built a model of logistic regression. In different species, serovars of *Leptospira* spp. against which antibody titers were found were Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Grippotyphosa, Pomona, Canicola, Wolffi, Hardjo, Panama, tarassovi, Hebdomadis, Shermani, Bratislava, Bataviae, Australis, Castellonis, Andamana, Autumnalis, Pyrogenes, Whiticombi, Javanica and Patoc. There was isolation of *Leptospira* spp. in 20 samples from urine cultures of different species analyzed and isolated leptospires were *Leptospira interrogans*, *L. interrogans* serogroup Pomona, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae strain RGA, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni strain Fiocruz L1 -130, *L. interrogans* Canicola Canicola strain Hond Utrecht IV and *Leptospira borgpetersenii*. It was not possible to confirm an association between the occurrence of *Leptospira* spp. antibodies in different species and the factors analyzed. There were properties in which the same strain was isolated from more than one species of host, result that suggests the possibility of the interspecific transmission of the agent. Health professionals in Brazil need to be more committed to the primary health care and routinely apply actions of preventive medicine in rural communities in order to get success in control of leptospirosis and other important zoonoses.

Keywords: *Leptospira* spp., Isolation, MAT, Risk factors, Mapping, Farms

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país de grande território, que apresenta diversidade de biomas com particularidades de clima, relevo, geologia, hidrografia e, com isso, formações vegetais e fauna bastante diversas. Possui grande heterogeneidade cultural que se reflete em costumes, modos próprios que cada população tem de interpretar e praticar a interação humano-ambiente. A leptospirose, por ser uma enfermidade relacionada a precárias práticas em saúde, é um agravo que está enraizado no Brasil, tanto pelas condições físicas como por fatores sociais e culturais.

Em termos geográficos, a latitude mais a norte, 5°16'N, fica na nascente do Rio Ailã, no Monte Caburaí, Estado de Roraima. Esse local faz fronteira com a Guiana. Na divisa com o Uruguai está o extremo sul, 33°45'S, no Arroio Chuí, Rio Grande do Sul. O extremo oriental continental, 34°47'O, é a Ponta do Seixas, João Pessoa, Paraíba. A Ilha do Sul do arquipélago de Martim Vaz é o extremo leste absoluto, 28°50'O. A longitude mais a oeste, 73°59'O, fica na Serra da Contamana - ou Serra do Divisor - no Estado do Acre, fronteira com o Peru.

As vastas latitude e longitude conferem ao Brasil uma área total de 8.515.767 km², 8.460.415 km² de terra e 55.352 km² de água, sendo a hidrografia composta pelas regiões hidrográficas do Amazonas, do Atlântico Norte Ocidental, do Tocantins, do Paraguai, do Atlântico Norte Oriental, do Parnaíba, do São Francisco, do Atlântico Leste, do Paraná, do Atlântico Sudeste, do Uruguai e do Atlântico Sul. Inquestionavelmente um país agraciado por recursos naturais.

A economia nacional está entre as oito maiores do mundo, e os brasileiros muito se orgulham dessa situação. Todavia essa condição gera uma imagem absolutamente fictícia. Analisando exemplos globais, abundância de recursos naturais e forte economia não caracterizam uma sociedade evoluída. O lado verdadeiro é demonstrado quando o social é analisado. O país possui um Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) muito discreto, 0,730, apenas o 85º da lista mundial. O setor da educação é demasiadamente frágil, e a saúde há um tempo pereceu. São realidades que demonstram que o Brasil é um país subdesenvolvido.

Enfermidades vinculadas diretamente às más condições de saneamento e

aos hábitos precários de higiene, como cólera, colibacilose, salmonelose e giardíase, são agravos que deveriam estar somente em relatos históricos anteriores ou, no máximo, contemporâneos às descobertas de John Snow sobre a veiculação e transmissão hídrica do *Vibrio cholerae*. O que na verdade ocorre é que, mesmo após exatos 160 anos da grave epidemia de cólera que assombrou alguns bairros de Londres e que serviu de campo de pesquisa para Snow provar que qualidade da água é sinônimo de saúde, o Brasil se encontra mergulhado em endemias ou até mesmo *hiperendemias* de doenças originadas de precárias práticas sanitárias. E é justamente dentro dessa problemática que a leptospirose se enquadra.

A leptospirose é uma doença de etiologia bacteriana, geralmente de veiculação hídrica, que provoca sinais e sintomas muito inespecíficos, tanto em animais quanto em humanos. Há uma série de diagnósticos diferenciais como influenza, certas arboviroses, febre amarela, febre amarela toxêmica, dengue comum, dengue hemorrágica, malária, sepse, sepse com icterícia, apendicite, febre tifoide, forma ictérica da febre tifoide, meningites, pielonefrite, riquetsioses, toxoplasmose, hepatites virais graves, colecistite, colangite e hantavirose.

Por inexistirem sinais ou sintomas patognomônicos, um caso suspeito de leptospirose, como ocorre na maioria dos agravos, pode demandar tempo para ser identificado e, como consequência, a confirmação de um caso não seria tão eficiente quanto deveria. Pode-se dizer que, quanto melhor é o sistema de saúde de um local - melhor no sentido de corpo profissional capacitado e estrutura física suficiente para atender tal demanda -, mais curta é a distância entre o caso primário e o caso índice, qualquer que seja o agravo. O contrário é verdadeiro e, neste país, vive-se o contrário.

Mantendo a mesma reflexão a respeito dos sistemas de saúde, se em um ambiente urbano, cercado por toda a tecnologia, a sociedade carrega o e sofre com o grave problema da subnotificação de casos, até o mais desatento cidadão poderia desconfiar do quão frágil é a atenção primária à saúde no meio rural. Se inúmeros casos de leptospirose deixam de ser diagnosticados nos grandes centros, seria assustador pesquisar e descobrir a real ocorrência da doença em populações rurais.

Há uma marcante diferença entre o que é conhecido sobre o perfil epidemiológico da leptospirose no meio urbano e no meio rural. Na primeira

situação, a doença pode ocorrer devido ao adensamento populacional, às falhas no saneamento, às más condições de habitação e à infestação por roedores sinantrópicos. Na segunda situação, os prejuízos para a saúde animal geram impacto econômico principalmente por ser, a leptospirose, uma enfermidade que acarreta danos à esfera reprodutiva. É também, nesse meio, uma doença ocupacional, principalmente na agricultura de irrigação. Todavia, os aspectos epidemiológicos da infecção por *Leptospira* spp. e da ocorrência de anticorpos contra o agente nas diferentes espécies no meio rural são muito pouco conhecidos e merecem ser mais frequentemente pesquisados.

É sabido que maior número de casos de leptospirose, zoonose bacteriana, ocorre no período das águas. É demais descrita como uma enfermidade de ocorrência endêmica e com epidemias durante períodos chuvosos. No entanto, nota-se que essas citações partem, em sua maioria, de estudos realizados em grandes centros urbanos. Pouco se sabe sobre o perfil epidemiológico nas áreas rurais, as fontes de infecção do agente, a persistência em ambientes rústicos, ribeirinhos e em suas populações e os níveis de transmissão da bactéria entre as diferentes espécies de hospedeiros selvagens, sinantrópicos, domésticos e humanos. Dessa forma, pode ser enganoso descrever uma zoonose com base no seu perfil em núcleos urbanos e generalizar para um padrão nacional. Ainda mais, lembrando, sobre os alicerces de um falho sistema de vigilância em saúde.

As populações rurais que vivem e trabalham num ambiente de agricultura familiar são a base de uma sociedade. Suas atividades, direta ou indiretamente, sustentam e movem diariamente toda uma nação. Todo ser vivo precisa de alimento. É fácil notar, na prática, o quanto as pessoas do campo são deixadas no mais profundo esquecimento, em todos os sentidos. Não obstante, são amplamente divulgadas, principalmente nos dias atuais, ações governamentais benéficas na área da atenção básica à saúde. Esse fato não condiz com a realidade. As áreas rurais brasileiras são mal assistidas por profissionais da saúde. Isso é parte da explicação do porquê de o Brasil estar mais de um século e meio atrasado em termos sociais em relação a alguns países desenvolvidos.

Deve ter em mente um cidadão que um país rico não é um país sem pobreza. A condição econômica jamais deveria ser a prioridade. Falso jargão político que o

brasileiro alberga. Saúde e educação são os mais valiosos sinônimos de riqueza. País rico é país cuja população tem acesso à saúde e à educação de qualidade.

A leptospirose, mesmo sendo prevenida por métodos básicos de higiene e saneamento (destino adequado do lixo, armazenamento adequado do alimento, manutenção de terrenos baldios e de pastagens, manutenção da qualidade da água para consumo humano e animal e manejo adequado de águas superficiais e esgotos), é e será uma figura marcante no Brasil, não por causa de enchentes, inundações e outros desastres ampla e exaustivamente divulgados, mas sim pelo fator histórico-cultural da relação humano-ambiente sem planejamento, sem compromisso com a saúde e com o desenvolvimento social da nação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A leptospirose é uma enfermidade infecciosa de etiologia bacteriana, de ocorrência mundial, cuja cadeia epidemiológica é relacionada às precárias práticas sanitárias (BRASIL, 2010). Embora seja conhecida como uma doença ocupacional na maioria dos países, no Brasil é adquirida principalmente pelo contato com água contaminada por urina de animais infectados, sendo sua característica epidemiológica associada a condições socioeconômicas (ROMERO; BERNARDO; YASUDA, 2003). Em humanos, é uma doença de notificação compulsória no Brasil (BRASIL, 2010).

As leptospirosas são espiroquetas aeróbicas que se dividem em espécies patogênicas e apatogênicas. Dentre as patogênicas pode-se citar as espécies *Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri*, *L. santarosai*, *L. nogushii* e *L. weili* (MACHRY et al., 2010). A espécie de maior ocorrência no Brasil é a *Leptospira interrogans* (HÜTTNER; PEREIRA; TANAKA, 2002).

Em relação à ordem Rodentia, o rato-de-esgoto (*Rattus norvegicus*) é importante reservatório das sorovariedades Icterohaemorrhagiae e Copenhageni, sorovariedades que também são frequentemente encontradas no preá (*Cavia aperea azarae*). O rato-d'água (*Nectomys squamipes*) é o principal reservatório da sorovariedade Australis. Já em capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), as sorovariedades Hardjo, Pomona e Grippotyphosa são as mais detectadas. Em cutias (*Dasyprocta spp.*), observa-se predominantemente a sorovariedade Castellonis (CORRÊA, 2007).

Entre os marsupiais, os gambás (*Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Didelphis marsupialis*) são reservatórios de várias sorovariedades, tais como Ballum, Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Szwajizam e Grippotyphosa (CORRÊA, 2007).

Um levantamento sorológico para verificar a ocorrência de anticorpos contra *Leptospira spp.* em veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*) do Pantanal Sul-Mato-grossense e do Parque das Emas foi feito por Mathias, Girio e Duarte (1999), em Goiás. Cerca de um quarto das amostras colhidas no Pantanal foram positivas

às sorovariedades Hardjo, Wolffi ou Mini. Nenhum soro dos animais do Parque das Emas foi reagente.

Girio et al. (2004) coletaram amostras de sangue de 315 animais, entre os quais 67 de bois baguás (*Bos taurus indicus*), 41 de veados-campeiros (*Ozotoceros bezoarticus*), 39 de porcos-monteiros (*Sus scrofa*), 39 de búfalos (*Bubalus bubalis*), 10 de veados-mateiros (*Mazama americana*), 9 de quatis (*Nasua nasua*) e 110 amostras de ovinos (*Ovis aries*). Os soros foram testados pela prova de soroaglutinação microscópica (SAM) para 24 sorovariedades de *Leptospira* spp. Dos animais mortos, foram examinados fragmentos de rim. Foram sororreagentes: 40,3% das amostras de bois baguás, 17,9% das amostras de porcos-monteiros, 9% das amostras de ovinos e 9,7% das amostras de veados-campeiros. Por técnica de imuno-histoquímica, foi possível detectar *Leptospira* spp. no tecido hepático de um porco-monteiro.

Pesquisando anticorpos da classe IgM contra *L. interrogans* em animais selvagens de vida livre do Estado do Tocantins, Souza-Junior et al. (2006) observaram que 16,1% (46 de 286) das amostras de soro sanguíneo de macacos-prego (*Cebus apella*) foram positivas às sorovariedades Pomona, Brasiliensis, Mini, Swajizak, Grippothyposa, Sarmin, Fluminense, Autumnalis, Hebdomandis, Guaratuba, Javanica e Icterohaemorrhagiae; entre as 82 amostras de soro sanguíneo de bugios (*Alouatta caraya*), duas (2,4%) foram positivas às sorovariedades Mangus e Fluminense. Das 31 amostras 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 sete amostras de cotias (*Dasyprocta* spp.), seis de tamanduás-mirins (*Tamandua tetradactyla*) e cinco de tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*) não houve reação positiva.

Ao caracterizarem a epidemiologia de animais reagentes contra *Leptospira* spp. em animais do Zoológico de Sorocaba, SP, Ullmann et al. (2012) encontraram títulos de anticorpos contra as sorovariedades Butembo, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Bratislava, Sentot, Canicola, Djasiman e Pomona. Corrêa et al. (2004) encontraram as sorovariedades Copenhageni, Pomona e Castellonis.

Favero et al. (2002) analisaram a condição sorológica contra *Leptospira* spp. em 284 ovinos, 879 bubalinos, 983 cães, 1.941 caprinos, 2.903 equinos e 8.568 suínos em diversos estados brasileiros. As porcentagens de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. e as sorovariedades mais frequentes por espécie foram: ovinos - 0,70%, Icterohaemorrhagiae; bubalinos - 43,7%, Hardjo, Pomona; cães - 17,7%, Copenhageni e Icterohaemorrhagiae no Estado de SP e Pyrogenes no PI; caprinos - 4,17% Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa no CE, Icterohaemorrhagiae na PB e Pyrogenes em SP; equinos - 29% Icterohaemorrhagiae no PR, SC, SP, RJ e MG, Grippotyphosa no MT, Pyrogenes na PB e Patoc no RS; suínos - 24,46%, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae em MG, Pomona no RS, Pomona e Icterohaemorrhagiae em PE e RJ, Autumnalis no CE e Icterohaemorrhagiae em GO, PR, SC e SP.

Em uma análise da soroprevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em cães errantes da cidade de Patos, PB, Batista et al. (2004) encontraram grande prevalência de títulos de anticorpos contra as sorovariedades Autumnalis, Pomona, Grippotyphosa e Patoc. No mesmo estado, em estudo bastante semelhante com cães de Campina Grande, Batista et al. (2005) relataram a ocorrência de enchentes como fator de risco dessa doença.

Ao examinarem fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Oliveira et al. (2010) encontraram títulos de anticorpos contra as sorovariedades Australis, Autumnalis, Bratislava, Butembo, Castellonis, Grippotyphosa, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Sentot, Shermani, Tarassovi, Whitcombi e Wolffi. De maneira semelhante, porém no Estado do Mato Grosso do Sul, Figueiredo et al. (2009) encontraram títulos de anticorpos contra as sorovariedades Hardjo, Wolffi, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Bratislava, Hebdomadis, Canicola, Copenhageni, Pomona e Australis. Ainda em bovinos, Juliano et al. (2000) pesquisaram a prevalência e os aspectos epidemiológicos da ocorrência de anticorpos contra o agente em bovinos em rebanho leiteiro na microrregião de Goiânia, GO, e encontraram as sorovariedades Wolffi, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Tarassovi, Bratislava, Pomona, Djasiman, Pyrogenes, Copenhageni, Castellonis, Canicola e Grippotyphosa. Tomich et al. (2007), em uma análise de sorodiagnóstico da doença em bovinos do pantanal brasileiro, detectaram

a ocorrência das sorovariedades Hardjo, Wolffi, Ballum, Serjoe, Tarassovi, Grippotyphosa, Bratislava, Shermani, Australis, Pomona, Copenhageni e Hebdomadis.

Ao descreverem a soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Herrmann et al. (2004) encontraram títulos de anticorpos contra as sorovariedades Hardjo, Sentot, Fortbragg, Wolffi, Pyrogenes, Australis, Pomona, Grippotyphosa, Canicola, Tarassovi, Bratislava e Autumnalis. Schmidt, Arosi e Santos (2002), em um levantamento sorológico em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, encontraram títulos de anticorpos contra as sorovariedades Icterohaemorrhagiae, Pomona e Hardjo.

Investigando um surto de leptospirose humana em São José dos Campos, SP, Lima et al. (1990) observaram alta prevalência da sorovariedade Pomona em análise sorológica.

Em levantamento soroepidemiológico em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental do Município de Pelotas, RS, Almeida et al. (1994), por análise sorológica, detectaram 12 sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos, sendo elas Castellonis, Australis, Djasiman, Panama, Pyrogenes, Shermani, Pomona, Cynopteri, Autumnalis, Copenhageni, Serjoe e Icterohaemorrhagiae.

Em sorologia envolvendo caninos e humanos no município de Uberlândia, MG, Castro et al. (2011) encontraram Autumnalis, Tarassovi, Canicola, Grippotyphosa, Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Australis, Pomona e Wolffi.

Homem et al. (2001), pesquisando a epidemiologia da ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos e humanos na Amazônia oriental brasileira, encontraram, tanto em humanos quanto em bovinos, reações positivas contra as sorovariedades Bratislava, Autumnalis, Castellonis, Grippotyphosa, Hebdomadis, Pyrogenes, Hardjo, Patoc, Shermani, Canicola, Butembo e Pomona. Em um levantamento de anticorpos anti-*Leptospira* spp e anti-*Brucella* spp em humanos da área rural do Município de Monte Negro, RO, Aguiar et al. (2007) relataram a ocorrência das sorovariedades Patoc, Autumnalis, Shermani, Pomona, Hardjo, Bratislava, Pyrogenes, Canicola, Copenhageni e Icterohaemorrhagiae.

Resultados consistentes de isolamento de *Leptospira* spp. são escassos e, dessa forma, pesquisas envolvendo o cultivo desse agente devem ser mais praticadas devido à variedade de fatores de risco e à alta prevalência de casos de leptospirose animal e humana em todo o território nacional.

Em um relato sobre leptospirose em equinos, Giorgi (1981) isolaram *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae de um feto abortado.

Sakata et al. (1992), em uma pesquisa sobre sorovariedades de *L. interrogans* isoladas de casos de leptospirose humana em São Paulo, identificaram as sorovariedades Copenhageni, Canicola e Castellonis. Ainda descreveram, em uma das amostras de isolado, uma estirpe pertencente ao sorogrupo Pomona.

Brod et al. (2005) descreveram o cão como importante reservatório da infecção humana por *Leptospira* spp. e, por sequenciamento pelo método de Sanger de rDNA 16S, identificaram 100% de homologia para *L. interrogans* sorovariedade Canicola amostra Moulton e para *L. meyeri* amostra Bandicoot.

Em relação à espécie *Leptospira interrogans* sorovariedade Copenhageni estirpe Fiocruz L1 -130 (Ko et al., 1999), pesquisas realizadas por Ko et al. (2007) e por Athanazio et al. (2008) descreveram a patogênese e as alterações patológicas causadas por esta estirpe em rins de ratos.

Miraglia et al. (2008), em um estudo de isolamento e caracterização de *L. interrogans* de suínos abatidos no Estado de São Paulo, investigaram presença de DNA de leptospira pela técnica de PCR e observaram resultados positivos em rins, no fígado, no aparelho reprodutor e na urina de fêmeas. O sorogrupo dos cinco isolados foi identificado como Pomona pela técnica de aglutinação cruzada com anticorpos policlonais de referência, e a caracterização molecular dos isolados foi realizada pela análise Multiple Locus Variable number tandem repeat (MLVA), a qual revelou padrão semelhante ao de *L. interrogans* sorogrupo Pomona.

Em Pelotas, RS, Felix et al. (2008) isolaram estirpes de *Leptospira borgpetersenii*, sorogrupo Ballum, de quatro dos seis camundongos capturados.

Em relação ao isolamento de estirpes autóctones de *Leptospira* spp. no Brasil, foi isolada a estirpe NA 776 por Santa Rosa et al. (1972) do rim de *Didelphis marsupialis* capturado em áreas próximas à cidade de São Paulo, SP, que posteriormente foi tipificada como pertencente ao sorogrupo Bataviae sorovariedade

Brasiliensis (AHMED et al. 2006); Vasconcellos et al. (2001) e Ahmed et al. (2006) isolaram a estirpe M4/98, tipificada como pertencente ao sorogrupo Sejroe sorovariedade Guaricura; de tecido renal de *Rattus norvegicus* capturado na Fundação Parque Zoológico de São Paulo, foi isolada a estirpe M9/99 e tipificada como sorogrupo Icterohaemorrhagiae sorovariedade Copenhageni por Correa et al. (2004), por Ahmed et al. (2006) e por Fagundes et al. (2008); estirpe L01, isolada da urina de um cão e tipificada como sorogrupo Canicola sorovariedade Canicola (OLIVEIRA et al., 2005; AHMED et al., 2006; FAGUNDES et al., 2008); estirpe L04, isolada do fígado de um suíno e tipificada como pertencente ao sorogrupo Canicola sorovariedade Canicola (DELBEM et al., 2002; FREITAS et al., 2004; FAGUNDES et al., 2008); estirpe L014, isolada da urina de um bovino e tipificada como pertencente ao sorogrupo Canicola sorovariedade Canicola (AHMED et al., 2006, ZACARIAS et al., 2008); do rim de capivaras abatidas no Município de Piracicaba, SP, foram isoladas as estirpes 2ACAP e 21 CAP, tipificadas como pertencentes ao sorogrupo Grippothyphosa sorovariedade Bananal (MARVULO et al., 2002; AHMED et al., 2006); do rim de um suíno abatido no Município de Suzano, SP, foi isolada a estirpe GR6, tipificada como pertencente ao sorogrupo Pomona sorovariedade Pomona (MIRAGLIA et al., 2008).

Em relação a pesquisas sobre variáveis associadas ao risco de ocorrência de leptospirose, Costa et al. (2001), em uma descrição das formas graves da doença no Hospital Couto Maia, Salvador, constataram relação direta entre aumento da precipitação pluviométrica e aumento do número de internações.

Em uma análise retrospectiva sobre a leptospirose humana no Município de Belo Horizonte, MG, em 1995, Figueiredo et al. (2001) relataram que os principais focos da doença foram identificados nas áreas de favelas e bolsões de pobreza.

Barcellos et al. (2003), pesquisando a distribuição espacial da leptospirose humana no Rio Grande do Sul, identificaram áreas de maior risco e possíveis componentes ecológicos da transmissão da enfermidade. 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 possuem características ecológicas favoráveis à proliferação de roedores, favorecendo a transmissão de *Leptospira* spp. Barcellos e Sabroza (2001), analisando a doença e

os riscos associados a condições ambientais durante o surto de 1996 na Zona Oeste do Rio de Janeiro, colocaram que maiores taxas de incidência foram verificadas em torno de localidades de acumulação de lixo.

Oliveira et al. (2012), descrevendo as variáveis climáticas e as condições de vida e saúde da população no Município do Rio de Janeiro entre os anos de 1996 e 2009, concluíram que a oscilação do número de casos de leptospirose não é determinada apenas pelo índice pluviométrico, pois outros fatores influenciam essa dinâmica, como ausência de saneamento, fatores ambientais e sociais. Soares et al. (2010), em uma análise espacial e sazonal da leptospirose no Município de São Paulo, entre 1998 e 2006, concluíram que a incidência e a letalidade estão relacionadas com as condições socioeconômicas, independentemente da sazonalidade.

Ao relatarem o isolamento de *Leptospira interrogans* sorovariedades Canicola e Copenhageni a partir da urina de bovinos no Estado do Paraná, Zacarias et al. (2008) afirmaram que os ratos são hospedeiros reservatórios da sorovariedade Copenhageni. Disseram, também, que os bovinos podem representar um fator de risco de infecção humana pela abundante e frequente excreção de sorovariedades patogênicas como a Copenhageni.

Em pesquisa sobre epidemiologia, diagnóstico e imunoprofilaxia de leptospirose em rebanhos de cervídeos na Nova Zelândia, Subharat et al. (2010) afirmaram que a pecuária representa um importante papel na ocorrência de casos em humanos e que rebanhos de cervídeos são um desses fatores.

Ainda na Nova Zelândia, Dorjee et al. (2008) demonstraram, em um abatedouro de ovinos, que a manipulação frequente da carne dos animais recém-abatidos está associada ao risco de ocorrência de casos de leptospirose em magarefes. Da mesma forma, Dorjee et al. (2011) forneceram evidências de que o processamento das carcaças de ovinos expõe os trabalhadores à infecção por *Leptospira* spp.

Alves et al. (2012), em uma pesquisa sobre fatores de risco de leptospirose em ovinos deslanados do semiárido brasileiro, relataram que a taxa de prevalência aumenta de acordo com o tamanho do rebanho. Além disso, participar de exposições e feiras também aumenta o risco de ocorrência de casos. Em caprinos,

Araújo Neto et al. (2010) pesquisaram variáveis possivelmente associadas a casos de leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, no Estado do Rio Grande do Norte. Todavia não obtiveram resultados que determinassem a associação de tais variáveis ao risco da doença nessa espécie.

Com o objetivo de analisar os riscos associados à reação sorológica contra *Leptospira* spp. em matrizes suínas, Delbem et al. (2004) apontaram as variáveis existência de áreas alagadiças próximas às instalações, uso de bebedouro tipo canaleta e inexistência de higienização do reservatório de água como associadas ao aumento do número de casos da doença.

Silva et al. (2012), no Estado do Maranhão, identificaram, por meio de regressão logística multivariada, que as variáveis presença de equinos e presença de capivaras estão associadas ao risco de ocorrência de casos da doença ($p < 0,05$). Do mesmo modo, verificaram que a proporção de animais infectados variou de acordo com o tamanho do rebanho.

No Município de São Paulo, ao pesquisarem a variação sazonal na prevalência dessa zoonose em cães de rua, Yasuda, Santa Rosa e Yanaguita (1980) verificaram que houve influência sazonal na frequência de animais reagentes ao teste de soroaglutinação microscópica.

Com a finalidade de conhecer a prevalência e os fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em cães no meio rural do Município de Pelotas, RS, Jouglard e Brod (2000) descobriram que a variável contato dos animais com banhados e açudes esteve associada ao risco de ocorrência de títulos de anticorpos.

Com o objetivo de detectar anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e selvagens presentes no Câmpus Universitário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp, Jaboticabal, Silva et al. (2010), após analisarem equinos, suínos, caprinos, ovinos, bovinos, cães, coelhos, gambás e cervídeos em diferentes épocas do ano, relataram que houve influência sazonal na ocorrência de anticorpos, sendo que maiores números foram observados durante a época de baixo índice pluviométrico. Colocaram ainda que, durante todo o período de estudo, as sorovarietades encontradas foram Andamana, Autumnalis, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Patoc, Pomona e Pyrogenes.

Importantes medidas de controle de leptospirose são: aplicar ações de anti-ratização, evitar o contato com áreas alagadas, isolar e tratar animais doentes, detectar, tratar ou sacrificar portadores sãos e imunizar sistematicamente os animais. Para evitar a presença de animais selvagens e sinantrópicos nos arredores das propriedades rurais, devem ser postas em prática medidas sanitárias como destino adequado do lixo, acondicionamento adequado dos alimentos e da ração animal e o não acúmulo de entulhos, os quais podem servir de abrigo para reservatórios (BRASIL, 2010).

3. JUSTIFICATIVA

A leptospirose é uma zoonose de ocorrência endêmica em praticamente todo o território nacional. Para a saúde pública, gera aproximadamente 1,2 milhão de reais em gastos hospitalares ao ano para o Sistema Único de Saúde (SUS), perdas de dias de trabalho por parte do paciente e uma letalidade média de 10% (BRASIL, 2010). Ocasionalmente causando prejuízos para a saúde animal, é responsável por problemas reprodutivos e queda de produção (FAINE, 1999). Por ser uma zoonose cujo agente causador é disseminado pela água, pode ser bandeira para educação em saúde.

3.1. Propriedades de agricultura familiar

Propriedades de agricultura familiar são importantes locais a serem considerados como unidades de estudos na área de medicina veterinária preventiva, pois seu ambiente e as características de manejo normalmente empregadas favorecem o contato, mesmo que indireto, entre as diferentes espécies e, dessa forma, há maiores chances de transmissão de agentes infecciosos com potencial zoonótico.

De maneira geral, esse sistema de produção sofre pela atenção deficitária de médicos e médicos veterinários, reflexo de um país subdesenvolvido, visto que grande parte do alimento que circula no mercado nacional tem origem em pequenas propriedades rurais, devendo estas serem bem assistidas por profissionais da saúde.

3.2. Ausência de espécie-alvo

Normalmente, em um inquérito em medicina veterinária preventiva, o que se busca é focar o estudo em uma espécie-alvo, a fim de obter dados de prevalência e de fatores de risco específicos e, com isso, direcionar as medidas de prevenção e controle da enfermidade pesquisada a uma só espécie.

Um trabalho que não se baseia em uma espécie-alvo e sim descreve o comportamento de uma enfermidade concomitantemente em várias espécies em um mesmo ambiente, tal como o presente, tem a importância de verificar a possível transmissão interespecífica de agentes etiológicos com potencial zoonótico, e, a partir dos dados obtidos, elaborar medidas de prevenção e controle generalistas, porém não menos importantes, as quais, quando postas em prática, trazem benefícios para a saúde animal e para a saúde pública ao inibir o ciclo do agente no ambiente.

3.3. Atividades em ampla área geográfica

Pelo fato de o Brasil ser um país de grandes extensões latitudinais (diversos climas e formações vegetais), constituir um ambiente de grande biodiversidade, de intensa proximidade entre animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos, a descrição dos aspectos epidemiológicos da infecção por *Leptospira* spp. e da ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em diversas partes do território nacional foi de suma importância para que se pudesse descrever o perfil de transmissão do agente nas distintas regiões do país.

3.4. Ineditismo

Como este trabalho foi realizado em distintas regiões do território nacional, tendo como unidades pequenas propriedades rurais e, ainda, avaliou ampla variedade de espécies nos diversos biomas brasileiros, sendo animais selvagens de vida livre, animais domésticos e, ainda, seres humanos, há certo ineditismo, condição que confirma a elevada contribuição do estudo para as áreas da saúde, da produção agropecuária e da educação em saúde.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo geral

O objetivo do trabalho foi descrever aspectos epidemiológicos da infecção por *Leptospira* spp. e da ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em populações humanas e animais em propriedades rurais nos biomas brasileiros.

4.2. Objetivos específicos

Determinar as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados anticorpos nas diversas espécies em cada uma das propriedades examinadas.

Verificar se há associação da infecção por *Leptospira* spp. entre as espécies estudadas em uma mesma propriedade.

Verificar o papel dos animais selvagens de vida livre como reservatórios de *Leptospira* spp. para animais domésticos e para seres humanos.

Analisar as variáveis possivelmente associadas ao risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em humanos e em animais domésticos

5. MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente trabalho, foi obtida a autorização do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) para atividades com animais selvagens de vida livre, cujo número de concessão é: 26185-1 (data da emissão: 07/02/2011 às 16:18h). Também foi obtida autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), para atividades com animais selvagens de vida livre e animais domésticos, cujo número de protocolo é 027958/10 (data da emissão: 20 de dezembro de 2010), documento que ainda coloca que a pesquisa está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA). Por fim, foi obtida a autorização da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), para atividades com humanos, sendo o processo de número 4870.

O trabalho de campo foi realizado entre os meses de julho de 2011 e junho de 2013 e os locais de estudo foram pequenas propriedades de agricultura familiar. As figuras de 1 a 8 ilustram as atividades de campo realizadas durante o trabalho.

5.1. Escolha dos municípios e das propriedades dentro de cada bioma

Foram selecionados três municípios em cada um dos seguintes biomas: Amazônia, Caatinga, Campos Sulinos, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Zona Costeira. Um município foi selecionado em cada uma das três zonas de transição (Cerrado-Caatinga, Cerrado-Amazônia e Caatinga-Amazônia). Portanto, totalizam 24 municípios.

Os municípios em cada bioma foram escolhidos levando-se em consideração as condições de clima, relevo, hidrografia e vegetação natural de cada local, bem como suas características socioeconômicas. Em cada município foi analisada uma propriedade, ou seja, foram examinadas, ao final do estudo, 24 propriedades nos 10 biomas brasileiros. A tabela 1 cita numericamente cada uma das 24 propriedades examinadas e descreve seus respectivos municípios, estados e biomas, e, ainda, relaciona o número dos biomas brasileiros estipulado para este trabalho.

Tabela 1. Propriedades examinadas e seus respectivos municípios, estados e biomas, e o número dos biomas brasileiros estipulado para o trabalho. Brasil, 2011 a 2013.

Propriedade	Município	Estado	Bioma	NB*
Propriedade 1	Chuí	RS	Zona Costeira	1
Propriedade 2	São Mateus	ES	Zona Costeira	
Propriedade 3	São Luís	MA	Zona Costeira	
Propriedade 4	Santana da Boa Vista	RS	Campos Sulinos	2
Propriedade 5	Alegrete	RS	Campos Sulinos	
Propriedade 6	Cruz Alta	RS	Campos Sulinos	
Propriedade 7	Urubici	SC	Mata Atlântica	3
Propriedade 8	Eldorado	SP	Mata Atlântica	
Propriedade 9	Pedra Azul	MG	Mata Atlântica	
Propriedade 10	Uberlândia	MG	Cerrado	4
Propriedade 11	Cavalcante	GO	Cerrado	
Propriedade 12	Chapada dos Guimarães	MT	Cerrado	
Propriedade 13	Miranda	MS	Pantanal	5
Propriedade 14	Itiquira	MT	Pantanal	
Propriedade 15	Poconé	MT	Pantanal	
Propriedade 16	Sobradinho	BA	Caatinga	6
Propriedade 17	Garanhuns	PE	Caatinga	
Propriedade 18	Sobral	CE	Caatinga	
Propriedade 19	Juína	MT	Floresta Amazônica	7
Propriedade 20	Parauapebas	PA	Floresta Amazônica	
Propriedade 21	Boa Vista do Gurupi	MA	Floresta Amazônica	
Propriedade 22	Manga	MG	Cerrado-Caatinga	8
Propriedade 23	Boa Esperança	MT	Cerrado-Amazônia	9
Propriedade 24	Pedreiras	MA	Caatinga-Amazônia	10

*NB: Número dos biomas

Para a escolha das propriedades por município, priorizaram-se aquelas ao redor das quais havia maior diversidade e quantidade de espécies selvagens, de animais domésticos e onde havia facilidade de contato com o veterinário ou com o proprietário.

5.2. Amostragem

Para nenhuma das espécies examinadas em qualquer propriedade rural houve verificação de sinais clínicos e de sintomas como discriminante de amostragem. A doença não foi alvo do estudo, em nenhum local ou momento, e sim a infecção e a condição sorológica.

Em cada propriedade, nos diferentes biomas estudados, esperava-se capturar até cinco mamíferos selvagens de vida livre, sendo roedores, carnívoros, marsupiais, primatas e xenarthras.

Para a seleção dos animais domésticos, quando não foi realizada colheita de amostras de todos os animais da propriedade, a amostragem feita foi aleatória simples, e o tamanho necessário da amostra foi obtido pela seguinte expressão, de acordo com Thrusfield (2010), para um grau de confiança de 95% e erro absoluto de 10%:

$$n = \frac{1,96^2 \times P_{\text{esp}} \times (1 - P_{\text{esp}})}{d^2}$$

na qual:

n = tamanho necessário da amostra

P_{esp} = prevalência esperada

d = erro absoluto admitido

O tamanho da amostra corrigido de acordo com o tamanho da população (n_c) foi obtido pela seguinte expressão, de acordo com Thrusfield (2010):

$$n_c = \frac{(N \times n)}{(N + n)}$$

na qual “ n ” é o tamanho da amostra sem levar em consideração o tamanho da população e “ N ” é o tamanho da população em estudo. Os animais foram selecionados de forma aleatória por sorteio, seguindo uma listagem numerada para cada espécie.

Para cada espécie de animal doméstico, em propriedades nas quais havia 15 indivíduos ou menos, foram examinados todos os indivíduos.

A prevalência esperada (P_{esp}) de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi adotada, em cada região, de acordo com as prevalências observadas em anos anteriores nas regiões para a enfermidade em questão. Em regiões nas quais não havia referências de prevalência nas diferentes espécies, foi adotada prevalência esperada de 0,5 (50%), pois este é o valor que maximiza o tamanho da amostra, de acordo com Thrusfield (2010).

No caso dos seres humanos, foram colhidas, por um médico ou enfermeiro, amostras de todos os indivíduos que viviam ou trabalhavam em cada propriedade.

Para descrever, em uma mesma figura, o número de indivíduos amostrados em cada espécie e as porcentagens acumuladas das espécies em relação à participação na amostragem, foram realizados gráficos de Pareto.

5.3. Captura e contenção de animais selvagens de vida livre

As capturas dos animais selvagens de vida livre foram realizadas com auxílio de armadilhas tipo “Tomarrawk”, de dimensões 45 cm de largura, 60 cm de altura e 1,20 m de profundidade. Como isca, utilizaram-se atrativos como ovo, banana, linguiça calabresa e bacon; um segundo ovo, além do iscado, era quebrado no fundo da gaiola para intensificar o odor atrativo nos arredores da área de captura.

A contenção física foi realizada com auxílio de uma placa de madeira de largura e altura ligeiramente menor do que as dimensões da armadilha. Essa placa funcionava como um escudo, que imobilizava o animal capturado no fundo da armadilha, de modo a tornar mais eficiente a contenção química.

No caso de espécies como *Myrmecophaga tridactyla* e *Hidrochaeris hidrochaeris*, as capturas por armadilhas “Tomarrawk” não foram possíveis, principalmente pelas características comportamentais e pelo porte físico. Logo, a contenção física desses indivíduos foi realizada por técnicas de laçada seguidas de imobilização com auxílio das próprias cordas.

Espécies pouco ágeis e de pequeno porte, como *Dasypus novemcinctus* e *Euphractus sexcinctus*, foram capturadas manualmente sem auxílio de qualquer tipo de instrumento de contenção física.

Ao contrário, no caso de espécies bastante ágeis e de maior porte, como *Ozotocerus bezoarticus*, os instrumentos disponíveis não permitiram nenhum tipo de captura.

Para a anestesia, foi utilizada a associação de cloridrato de tiletamina 250 mg com cloridrato de zolazepam 250 mg na dose 0,1 mL/Kg pela via intramuscular, com auxílio de seringas e agulhas esterilizadas e descartáveis, de volumes e tamanhos variáveis de acordo com a espécie capturada.

Todos os animais, logo após a colheita de material, marcação e a total recuperação da anestesia, foram liberados no mesmo local de captura. A marcação

de animais selvagens foi efetuada por meio de tosquia de parte dos pelos da região dorsal de tamanho compatível com a espécie.

5.4. Contenção física de animais domésticos

O método de contenção física dos animais domésticos foi realizado de acordo com as características anatômicas, fisiológicas e comportamentais de cada espécie, visando minimizar o estresse dos animais e garantir a segurança do pessoal envolvido nos procedimentos de contenção física. Não houve contenção química.

5.5. Obtenção, processamento e armazenamento das amostras

Foram colhidas, de animais selvagens de vida livre, animais domésticos e de seres humanos, amostras de sangue e de urina. Ambos os sexos e todas as faixas etárias foram considerados e não houve discriminação dessas características na identificação das amostras, visto que são igualmente expostos à infecção por leptospiros patogênicas (FAINE, 1999).

5.5.1. Animais

Todos os procedimentos de captura, contenção física e/ou química e colheita de material de animais selvagens de vida livre e de animais domésticos foram efetuados respeitando as particularidades por espécie, na tentativa de reduzir ao máximo a condição de estresse. A sequência esperada de todo trabalho de campo foi a captura, contenção, colheita de sangue e urina para diagnóstico laboratorial (sorologia e isolamento), liberação do animal doméstico e, no caso dos selvagens, marcação, aguardo para total recuperação pós-anestésica e soltura. Porém é sabido que todo procedimento que envolve contenção física e/ou química gera riscos. Portanto, em caso de óbito acidental de animais durante os trabalhos de campo ou quando houve algum óbito por outras causas durante a estadia na propriedade, e somente nesses casos, foi feita necropsia e colheita de tecido biológico para diagnóstico por isolamento de *Leptospira* spp.

As colheitas das amostras de sangue foram realizadas por meio de punção da veia jugular, caudal ou cefálica, dependendo da espécie, com auxílio de agulhas e seringas esterilizadas e descartáveis de tamanhos variados, também dependendo da espécie. Antes e logo depois de cada colheita de sangue, foi realizada assepsia do local com iodo povidine ou álcool iodado.

As amostras de sangue recém-colhidas foram transferidas para tubos de ensaio esterilizados e descartáveis e mantidas em temperatura ambiente até ocorrer coagulação e retração do coágulo, sendo transportadas posteriormente sob refrigeração até uma base instalada em cada propriedade. As amostras foram centrifugadas a 1.000 G, durante 15 minutos. As alíquotas de soro 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.

A urina dos animais selvagens, quando não havia micção espontânea, foi colhida pelo método de cistocentese, com assepsia prévia utilizando iodo povidine, com auxílio de agulhas e seringas esterilizadas e descartáveis de tamanhos variados dependendo da espécie. No caso dos animais domésticos, como não houve anestesia, a colheita de urina foi realizada apenas quando havia micção espontânea.

Para animais como *Ozotocerus bezoarticus* (tabela 3), obtiveram-se apenas amostras de urina, uma vez que não houve captura. Ao visualizar o indivíduo, foram feitas esperas até que o animal urinasse e, assim, imediatamente a coleção de urina era retirada do solo com auxílio de seringas esterilizadas e descartáveis.

Logo em seguida, foi acoplado um filtro 0,22 µm na ponta da seringa para que, próximo a um bico de Bunsen com chama azul, fosse despejado, simultaneamente, 0,1 mL da urina filtrada em um tubo esterilizado contendo meio de cultura semissólido Fletcher – Difco^R sem antibiótico e 0,1 mL em um tubo esterilizado contendo meio de cultura líquido Ellighausen, McCullough, Johnson e Harris – Difco^R (EMJH) sem antibiótico (THIERMANN, 1980; ELLIS, 1982). Esses tubos foram acondicionados em recipientes fechados, ao abrigo da luz, em temperatura ambiente e avaliados semanalmente.

Dos órgãos - rins, fígado, baço, bexiga, útero, ovários e testículos - foram retirados fragmentos que foram semeados primeiramente em um tubo com meio de cultura EMJH, para que, se houvesse leptospiros no fragmento de órgão, estas

saíssem para a solução. Após uma hora, foi retirada, desse meio, uma alíquota de 1 mL e colocada em meio de cultura Fletcher. Ambos os meios foram acondicionados em recipiente fechado, ao abrigo da luz, em temperatura ambiente e avaliados semanalmente (THIERMANN, 1980; ELLIS, 1982).

5.5.2. Humanos

O público-alvo foi constituído por todos os indivíduos das propriedades, e, para os menores de idade, foi solicitada autorização dos responsáveis. Todos os voluntários tiveram suas identidades mantidas em completo sigilo e, para a realização dos exames, cada pessoa, maior de idade ou não, assinou um termo de consentimento livre e esclarecido; o menor de idade o fazia sob o consentimento assinado, também, pelo responsável (item Apêndices, em Apêndice C).

Em cada região selecionada foi contatado o serviço médico do município, preferencialmente o Serviço de Vigilância Epidemiológica, para solicitar profissional médico e/ou de enfermagem para realização de colheita de sangue e de urina.

As amostras de sangue foram colhidas da veia cefálica ou da basílica, com auxílio de agulhas e seringas esterilizadas e descartáveis. Antes e logo depois da colheita de sangue, foi realizada assepsia do local com iodo povidine ou álcool iodado.

O processamento das amostras de sangue de humanos foi realizado da mesma maneira feita com as amostras de sangue dos animais.

Para a colheita de urina, o voluntário foi orientado a colher, em tubo esterilizado e descartável tipo “falcon”, a primeira urina da manhã, desprezando o primeiro jato.

As amostras de urina foram retiradas dos tubos “falcon” com auxílio de seringas esterilizadas e descartáveis. O processamento das amostras de urina de humanos foi realizado da mesma maneira feita com as amostras de urina dos animais.

As figuras de 1 a 7 ilustram algumas das atividades de campo realizadas em cada uma das 24 propriedades rurais.



Figura 1. Foto da armadilha tipo “Tomarrawk”, dimensões 45 cm x 60 cm x 1,20 m, utilizada para a captura de animais selvagens de vida livre. Brasil, 2011 a 2013.



Figura 2. Foto da isca utilizada para a captura de animais selvagens de vida livre. Brasil, 2011 a 2013.



Figura 3. Foto de um animal capturado. Brasil, 2011 a 2013.



Figura 4. Foto de um animal logo após a contenção química. Brasil, 2011 a 2013.



Figura 5. Foto de um procedimento de colheita de amostras de um animal selvagem de vida livre. Brasil, 2011 a 2013.



Figura 6. Foto de um procedimento de colheita de amostras de um animal doméstico. Brasil, 2011 a 2013.



Figura 7. Foto de um procedimento de colheita de amostras de um humano. Brasil, 2011 a 2013.

5.6. Diagnóstico

Os exames sorológicos foram realizados no Laboratório de Diagnóstico de Brucelose e Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV-Unesp).

Os repiques semanais dos meios de cultura e as observações das espiroquetas isoladas em microscopia de campo escuro também foram procedimentos realizados no mesmo laboratório da FCAV-Unesp.

Os procedimentos de genotipagem das estirpes isoladas a partir das amostras de urina das diferentes espécies foram realizados no Laboratório de Leptospirose do Instituto de Patobiologia, Centro de Investigação em Ciências Veterinárias e Agronômicas, do Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (INTA), Buenos Aires, Argentina.

5.6.1. Diagnóstico sorológico

Para o diagnóstico sorológico de anticorpos contra *Leptospira* spp., foi realizada a prova de soroaglutinação microscópica (SAM), técnica preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

5.6.1.1. Preparo dos antígenos vivos de *Leptospira* spp.

As sorovariedades de *Leptospira* spp. empregadas como antígenos foram provenientes de matrizes repicadas semanalmente em meio de cultura líquido de EMJH, 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 aproveitados 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 leptospiras por campo microscópico), segundo a técnica de Sulzer e Jones (1980). As culturas foram isentas de contaminação e autoaglutinação.

5.6.1.2. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)

A presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. nos soros foi verificada pela SAM, a partir de uma diluição 1/50, sendo uma parte de soro sanguíneo para quarenta e nove 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, resultando em 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 microscopia de campo escuro, diretamente na placa, utilizando objetiva de 10x (SANTA ROSA et al., 1975; SANTA ROSA et al., 1980).

O critério adotado para considerar um soro como reagente foi a aglutinação de pelo menos 50% das leptospiras no campo microscópico com objetiva de 10x. 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). Para cada amostra, quando houve reação a duas ou mais sorovariedades, foi selecionada aquela cuja reação apresentou maior título. Quando duas ou mais apresentaram o maior título, todas foram selecionadas.

A tabela 2 mostra a relação de sorovariedades de *Leptospira* spp. utilizadas neste trabalho, de acordo com seu sorogrupo e a sigla utilizada nas tabelas de resultados.

Tabela 2. Sorovariedades de *Leptospira* spp. utilizadas neste trabalho, de acordo com seu sorogrupo e a sigla utilizada nas tabelas de resultados.

Espécie	Sorogrupo	Sorovariedade	Sigla da Sorovariedade
<i>L. interrogans</i>	<i>Australis</i>	Australis	Aus
<i>L. interrogans</i>	<i>Australis</i>	Bratislava	Bra
<i>L. interrogans</i>	<i>Autumnalis</i>	Autumnalis	Aut
<i>L. interrogans</i>	<i>Autumnalis</i>	Butembo	But
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Ballum</i>	Castellonis	Cas
<i>L. santarosai</i>	<i>Bataviae</i>	Bataviae	Bat
<i>L. interrogans</i>	<i>Canicola</i>	Canicola	Can
<i>L. weillii</i>	<i>Celledoni</i>	Whitcombi	Whi
<i>L. kirschneri</i>	<i>Cynopteri</i>	Cynopteri	Cyn
<i>L. kirschneri</i>	<i>Grippotyphosa</i>	Grippotyphosa	Gri
<i>L. interrogans</i>	<i>Hebdomadis</i>	Hebdomadis	Heb
<i>L. interrogans</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Copenhageni	Cop
<i>L. interrogans</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Icterohaemorrhagiae	Ict
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Javanica</i>	Javanica	Jav
<i>L. noguchii</i>	<i>Panama</i>	Panama	Pan
<i>L. interrogans</i>	<i>Pomona</i>	Pomona	Pom
<i>L. interrogans</i>	<i>Pyrogenes</i>	Pyrogenes	Pyr
<i>L. interrogans</i>	<i>Sejroe</i>	Hardjo	Har
<i>L. interrogans</i>	<i>Sejroe</i>	Wolffi	Wol
<i>L. santarosai</i>	<i>Shermani</i>	Shermani	She
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Tarassovi</i>	Tarassovi	Tar
<i>L. biflexa</i>	<i>Andamana</i>	Andamana	And
<i>L. biflexa</i>	<i>Seramanga</i>	Patoc	Pat
<i>L. interrogans</i>	<i>Djasiman</i>	Sentot	Sen

A figura 8 ilustra uma reação de aglutinação entre antígeno de *Leptospira* spp. e anticorpos contra o agente.



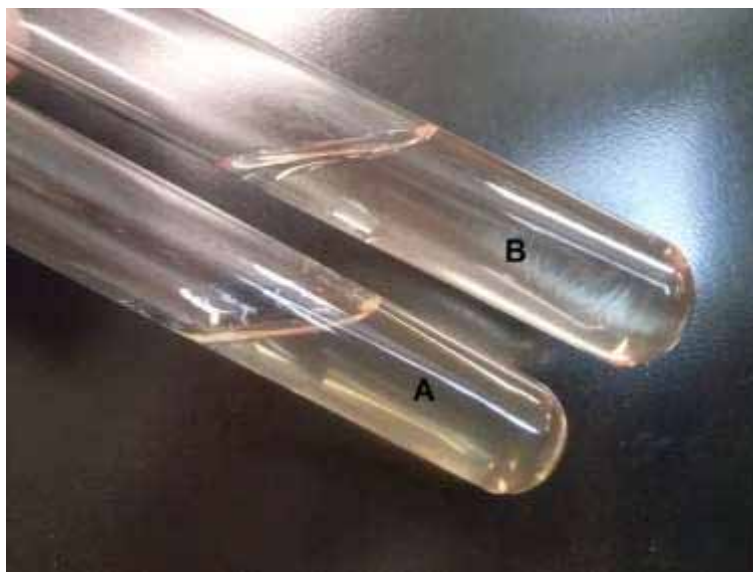
Figura 8. Foto de microscopia de campo escuro ilustrando uma reação de aglutinação entre antígeno de *Leptospira* spp. e anticorpos contra o agente.

5.6.2. Isolamento de *Leptospira* spp.

As culturas foram avaliadas semanalmente durante um período, podendo variar de oito a dezesseis semanas (THIERMANN, 1980; ELLIS, 1982). Quando foi observado o anel de crescimento de *Leptospira* spp. em meio Fletcher, a cultura foi repicada em meio EMJH sem antibiótico (FAINE, 1999). Os tubos que apresentaram contaminação na avaliação semanal foram descartados.

Do meio EMJH com multiplicação de *Leptospira* spp. e sem contaminação foi retirada uma alíquota para observação em microscopia de campo escuro com objetiva de 10x. Ao confirmar a multiplicação das bactérias, foram retirados 1 mL do meio de cultura Fletcher na região do anel de crescimento, 1 mL do meio de cultura EMJH correspondente e colocados em tubos de polipropileno esterilizados e descartáveis, de 1,5 mL, para os procedimentos de genotipagem.

A figura 9 ilustra os meios de cultura utilizados para o isolamento de *Leptospira* spp.



A: Fletcher, meio de cultura semissólido.

B: EMJH, meio de cultura líquido.

Figura 9. Foto os meios de cultura utilizados para o isolamento de *Leptospira* spp.

5.6.3. Genotipagem das estirpes de isolado

As estirpes de referência e os isolados foram cultivados em meio Fletcher (Difco Laboratories) a 28°C. Para elaboração dos moldes de DNA usados nos procedimentos de tipagem Multiple Locus Variable number tandem repeat (MLVA) (PAVAN et al., 2011) realizados com os iniciadores descritos por Majed et al. (2005) e Salaün et al. (2006), 100 µL de uma amostra da cultura foram incubados a 100°C durante 10 min. A tipagem MLVA foi realizada com dois conjuntos de oligonucleótidos específicos para as espécies *Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenii* e *L. kirschneri*. Os loci VNTR4, VNTR7, VNTR9, VNTR10, VNTR19, VNTR23 e VNTR31 foram usados para discriminar estirpes de *L. interrogans* (MAJED et al., 2005) e foram usados VNTR4, VNTR7, VNTR10, LB4 e LB5 para *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii* e para *L. interrogans* (SALAÜN et al., 2006). O volume final (50 µL) de cada mistura de reação continha tampão de RCP (20 mM Tris-HCL, pH 8,4, 50 mM de KCl), trifosfatos deoxinucleoside 200 µM, 2 µM de cada iniciador correspondente, 2 mM de MgCl₂, 1.25U de Taq DNA polimerase (Invitrogen) e 5 µL de DNA modelo. As reações em cadeia da polimerase (PCRs) foram realizadas num Thermo Scientific pxe 0,2 Termociclador como se segue: 94°C durante 5 min,

seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94°C durante 30 s, hibridação a 55°C durante 30s e de extensão a 72°C durante 90 s, com um ciclo final de 72°C durante 10 min. As amostras amplificadas (15 µL) foram reveladas por eletroforese em gel de agarose a 2% em tampão TAE (40 mM Tris-acetato, 1 mM de EDTA) com 0,2 µL/mL de brometo de etídio em 100 V por 50 min. Bandas de DNA amplificadas foram visualizadas após a exposição à luz UV (Uvi Tec transiluminator BTS-20.M). Tamanhos dos amplificados foram estimados utilizando CienMarker (Biodinâmica) e o programa 2010a GelAnalyzer. Para calcular o número de repetição de cópias, a seguinte fórmula foi utilizada: Número de repetição (pb) = [tamanho dos fragmentos (pb) - regiões flanqueadas (bp)] tamanho / Tamanho da repetição (pb). Os números de repetição de cópias foram arredondados para números inteiros. Quando o número de cópias foi menor do que um, este foi arredondado para zero.

5.6.4. Análises filogenéticas

Os genótipos obtidos foram utilizados para montar duas árvores filogenéticas com auxílio do programa Mega Software 5.05 (TAMURA et al., 2011). A árvore foi construída pelo método *neighbor-joining*, usando sete locos marcadores para as estirpes de *L. interrogans*.

5.7. Análise de fatores de risco

O questionário para a análise das variáveis possivelmente associadas ao risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi elaborado com base nas recomendações de Toma et al. (1999) e foi aplicado às pessoas das propriedades de agricultura familiar (item Apêndices, em Apêndice B).

É válido mencionar que, durante o preenchimento do questionário, não somente as respostas do proprietário foram consideradas, e sim o que foi constatado durante os dias de observação em cada propriedade rural.

Após a aplicação do questionário, foram selecionadas variáveis que, de acordo com o conhecimento existente sobre a epidemiologia da infecção, poderiam estar relacionadas à ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em humanos e

animais; inicialmente foi realizada análise univariada, com o cálculo da razão de chances e do intervalo de confiança de 95%; e dos valores de “p” ($p < 0,05$) para cada uma dessas variáveis, pelo teste exato de Fisher, com auxílio do programa Epi Info 7. Foi verificada associação de cada um dos possíveis fatores com a variável dependente (presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em humanos, cães, equídeos, suínos, ovinos, caprinos e bovinos).

As variáveis cujos valores de “p” foram menores que 0,2 foram submetidas a uma análise multivariada, na qual foi construído um modelo de regressão logística ($y = B_0 + B_1x + B_2x + B_3x$). 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). E, após a regressão logística, somente as variáveis com valores de “p” menores que 0,05 foram associadas ao risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp.

As variáveis “cães reagentes”, “equídeos reagentes”, “suínos reagentes”, “ovinos reagentes”, “caprinos reagentes”, “bovinos reagentes”, “animais selvagens reagentes”, “presença de cães”, “presença de equídeos”, “presença de suínos”, “presença de ovinos”, “presença de caprinos”, “presença de bovinos” e “presença de bubalinos” são qualitativas, ou seja, a resposta é “sim” ou “não”.

Não houve colheita de amostras de bubalinos, portanto esses animais não foram incluídos como variável dependente, apenas a variável independente “presença de bubalinos” foi considerada.

Em cada propriedade, uma espécie foi considerada reagente quando pelo menos um animal resultou positivo na sorologia contra qualquer sorovariedade de *Leptospira* spp.

É importante ressaltar que os isolados de *Leptospira* spp. não entraram como variáveis dependentes nem como variáveis independentes nas análises univariadas e multivariadas. Isso porque não houve, como já esperado, um grande número de isolados em uma mesma espécie e em um mesmo local, condição que não reduz a grande valia desses achados de cultivo, mas que impossibilita qualquer tipo de análise de risco.

A variável “presença de animais selvagens” também é qualitativa. Em cada propriedade, a identificação de pelo menos um indivíduo de qualquer espécie de

mamífero selvagem de vida livre foi suficiente para definir a propriedade como positiva para a presença de animais selvagens.

Para as variáveis “presença de roedores sinantrópicos” e “presença de ninhos de sinantrópicos”, o relato do proprietário junto com a observação de fezes, rastros e presença de sacos roídos foram, além da visualização de indivíduos e ninhos, critérios para definir a presença ou a ausência desses animais.

Em relação à variável “controle de roedores sinantrópicos”, foi avaliado todo o manejo diário na propriedade e a aplicação de boas práticas sanitárias na intenção de pontuar as medidas de antirratização efetuadas. A identificação de pelo menos uma prática sanitária indevida foi suficiente para definir a propriedade como negativa para controle de roedores sinantrópicos.

A variável “armazenamento da ração” animal foi, primeiramente, quantitativa. Para selecionar o tipo mais aproximado de armazenamento havia as seguintes opções: galpão fechado, elevado em relação ao solo e distante das paredes; galpão fechado, elevado em relação ao solo e apoiado nas paredes; galpão fechado, diretamente no solo e apoiado nas paredes; galpão aberto, elevado em relação ao solo e distante das paredes; galpão aberto, elevado em relação ao solo e apoiado nas paredes; e galpão aberto, diretamente no solo e apoiado nas paredes. Considerando que apenas uma forma era a correta e que apenas um item incorreto caracterizou o armazenamento como possível risco, essa variável foi tida também como qualitativa.

A variável “remoção do resto de alimento dos animais” foi verificada pela observação de restos de alimento do dia anterior em cochos, baldes ou demais vasilhas. A presença de resto em pelo menos um comedouro foi suficiente para definir a propriedade como negativa para a variável.

A variável “higienização das instalações” foi verificada por meio de observação minuciosa da rotina diária ou semanal de limpeza de cochos, cocheiras, piquetes, salas de ordenha, baias, chiqueiros, canis e apriscos. Qualquer negligência na higienização foi suficiente para determinar a propriedade como negativa para essa variável.

Para a variável “presença de áreas alagadas”, qualquer ponto de alagamento observado como persistente, frequentado por animais ou humanos, foi suficiente para definir a propriedade como positiva para a presença de áreas alagadas.

Em relação ao conhecimento sobre a leptospirose, as pessoas foram questionadas se já ouviram sobre a doença e também foram abordados assuntos importantes como: em que meio o agente etiológico resiste por mais tempo; se os animais podem transmitir a enfermidade; se a água tem importância na transmissão; como uma pessoa pode adquiri-la e o que fazer para evitá-la. As propriedades cujos responsáveis não respondiam as questões mesmo quando questionados de diferentes maneiras ou quando respondiam apenas depois de alguns comentários foram definidas como negativas para essa variável.

Especificamente para os animais domésticos, a variável “deslocamento para fora da propriedade” foi definida como positiva nos casos em que pelo menos um animal da espécie considerada fosse observado fora dos limites da propriedade.

Também específicas dos animais domésticos, as variáveis “rotação de pastagem” e “inseminação artificial” foram determinadas pela presença ou ausência em cada espécie.

5.8. Mapeamento

Os mapas com as coordenadas exatas dos locais de trabalho de campo e das áreas nas quais leptospirosas foram isoladas foram feitos com auxílio do Google Earth 2013 e estão descritos no final do trabalho, no item Apêndices, em Apêndice A.

5.9. Descarte de material biológico

Todo material utilizado na colheita de amostras biológicas foi despejado em garrafas plásticas de material resistente, devidamente vedadas, e posteriormente descartado como lixo hospitalar em postos de saúde de cada município onde foram realizadas atividades de campo. Após as análises laboratoriais, todo material biológico utilizado, antes do descarte como lixo hospitalar, foi devidamente esterilizado em autoclave a 120°C e 1,0Kg/cm² durante 15 minutos.

6. RESULTADOS

6.1. Animais selvagens de vida livre

Nas diferentes propriedades estudadas, foram examinados 95 animais selvagens de vida livre das 18 espécies seguintes: *Callithrix jacchus*, *Cavea aperea*, *Cebus apella*, *Cerdocyon thous*, *Dasyprocta acouti*, *Dasypus novemcinctus*, *Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Didelphis marsupialis*, *Euphractus sexcinctus*, *Hidrochaeris hidrochaeris*, *Leopardus tigrinus*, *Mirmecophaga tridactyla*, *Myocastor coypus*, *Nasua nasua*, *Ozotocerus bezoarticus*, *Philander frenata* e *Rattus rattus*. O indivíduo da antepenúltima espécie mencionada não foi capturado, apenas uma amostra de sua urina foi colhida após micção espontânea no ambiente.

Cada espécie selvagem possui uma ampla variedade de nomes comuns de acordo com a região do país. Por isso, a menção desses animais no texto foi realizada apenas pelos nomes científicos. Os principais nomes comuns das espécies selvagens capturadas estão representados na tabela 3.

Tabela 3. Principais nomes comuns das espécies selvagens de vida livre. Brasil, 2011 a 2013.

Nome científico	Principal nome comum
<i>Callithrix jacchus</i>	Sagui-de-tufo-branco
<i>Cavea aperea</i>	Preá
<i>Cebus apela</i>	Macaco-prego
<i>Cerdocyon thous</i>	Cachorro-do-mato, lobinho, guancito
<i>Dasyprocta acouti</i>	Cotia
<i>Dasypus novemcinctus</i>	Tatu-galinha
<i>Didelphis albiventris</i>	Gambá-de-orelha-branca
<i>Didelphis aurita</i>	Gambá-de-orelha-preta
<i>Didelphis marsupialis</i>	Gambá-comum, saruê
<i>Euphractus sexcinctus</i>	Tatu-peba
<i>Hidrochaeris hidrochaeris</i>	Capivara
<i>Leopardus tigrinus</i>	Gato-do-mato-pequeno
<i>Mirmecophaga tridactyla</i>	Tamanduá-bandeira
<i>Myocastor coypus</i>	Ratão-do-banhado
<i>Nasua nasua</i>	Quati
<i>Ozotocerus bezoarticus</i>	Veado-campeiro
<i>Philander frenata</i>	Cuíca
<i>Rattus rattus</i>	Rato-de-telhado

O número de animais selvagens de vida livre examinados, identificados por espécie, em cada propriedade rural onde foram realizadas atividades de campo está representado na tabela 4.

Tabela 4. Número de animais selvagens de vida livre e sinantrópicos examinados, identificados por espécie, em cada uma das 24 propriedades rurais onde foram realizadas atividades de campo nos diversos biomas brasileiros. Brasil, 2011 a 2013.

Espécie capturada	Propriedade																								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
<i>Callithrix jacchus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Cavea aperea</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3	-	-	4
<i>Cebus apella</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
<i>Cercopithecus thomasi</i>	2	-	3	-	1	-	1	-	-	4	2	-	1	5	3	-	-	2	-	-	1	-	1	-	26
<i>Dasyprocta acouti</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Dasyprocta novemcinctus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Didelphis albiventris</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	5
<i>Didelphis aurita</i>	-	-	-	-	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4
<i>Didelphis marsupialis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-	-	3
<i>Euphractus sexcinctus</i>	3	-	-	6	4	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	2	-	4	-	-	-	-	25
<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	6
<i>Leopardus tigrinus</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Marmecophaga tridactyla</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
<i>Myocastor coypus</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Nasua nasua</i>	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	3	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	7
<i>Ozotoceros bezoarticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Philander frenata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Rattus rattus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Total	6	1	4	6	6	3	4	3	1	5	4	4	6	14	3	2	2	4	0	6	4	5	2	0	95

*Ver tabela 1.

A figura 10 descreve o gráfico de Pareto indicando o número de animais selvagens amostrados em cada espécie e as porcentagens acumuladas das espécies em relação à participação na amostragem.

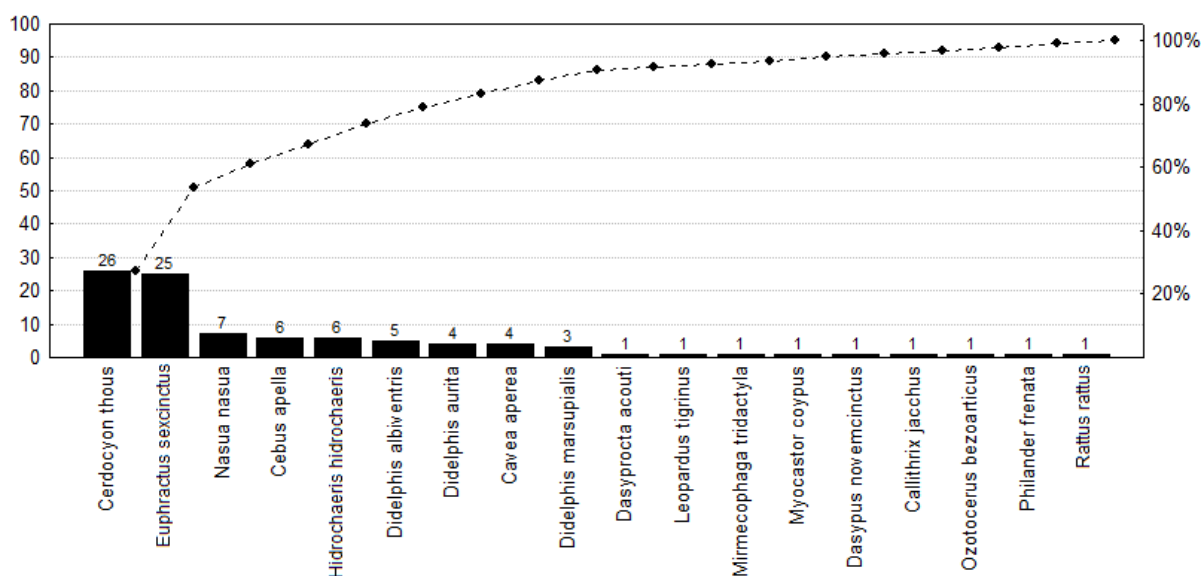


Figura 10. Gráfico de Pareto indicando o número de animais selvagens amostrados em cada espécie (barras) e as porcentagens acumuladas das espécies em relação à participação na amostragem (curvas). Brasil, 2011 a 2013.

Pela análise do gráfico nota-se que as espécies *Cerdocyon thous* e *Euphractus sexcinctus*, juntas, corresponderam a 53% (51 dos 95 animais) das capturas e análises em animais selvagens.

6.2. Animais domésticos e seres humanos amostrados

O número de animais domésticos e de seres humanos examinados em cada propriedade rural onde foram realizadas atividades de campo está representado na tabela 5.

Tabela 5. Número de animais domésticos e de seres humanos examinados em cada uma das 24 propriedades rurais onde foram realizadas atividades de campo nos diversos biomas brasileiros. Brasil, 2011 a 2013.

Espécie	Propriedade *																								Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Humanos	3	-	-	3	2	2	-	5	4	-	-	-	2	-	-	5	1	20	2	8	24	25	16	1	123
Cães	1	3	-	4	5	2	1	5	4	2	3	3	-	2	7	-	1	3	2	5	1	3	5	2	64
Equídeos	1	5	4	2	6	1	4	1	8	-	3	11	-	39	10	-	6	2	5	18	-	7	30	4	167
Suídeos	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	11
Ovinos	6	-	1	6	13	9	-	19	-	-	-	-	-	-	-	25	-	16	-	-	-	-	30	-	125
Caprinos	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	-	12	-	-	-	-	-	-	52
Bovinos	-	15	-	-	-	-	12	-	15	38	-	2	-	-	7	-	10	-	-	25	-	16	16	33	189
Total	11	23	29	15	26	14	17	30	31	40	6	16	2	41	24	55	18	53	9	56	27	51	97	40	731

*Ver tabela 1.

Ao observar as tabelas 4 e 5, nota-se que foram examinados 826 indivíduos de diferentes espécies nas 24 propriedades rurais onde houve atividades de campo.

A figura 11 descreve o gráfico de Pareto indicando o número de animais domésticos e humanos amostrados e as porcentagens acumuladas das espécies em relação à participação na amostragem.

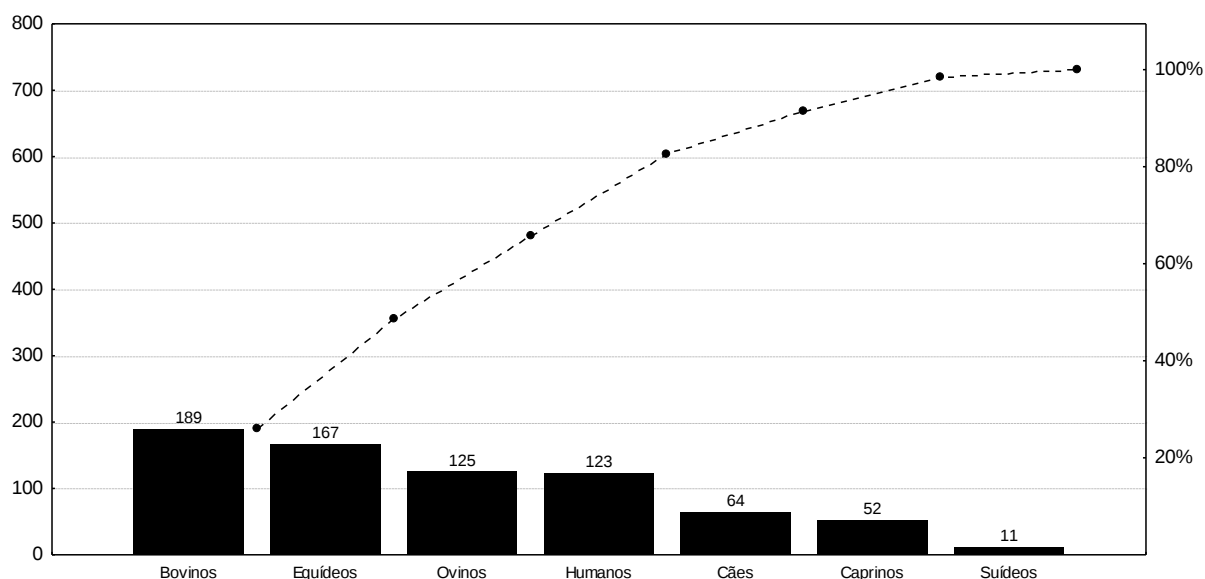


Figura 11. Gráfico de Pareto indicando o número de animais domésticos e humanos amostrados (barras) e as porcentagens acumuladas das espécies em relação à participação na amostragem (curva). Brasil, 2011 a 2013.

6.3. Sorologia

Em relação aos animais selvagens de vida livre, não houve colheita de sangue e, portanto, análise sorológica, do indivíduo da espécie *Dasyprocta acouti* e do indivíduo da espécie *Ozotocerus bezoarticus*. Desses dois indivíduos apenas houve colheita de urina. Essa afirmação explica o total de 824 indivíduos examinados pela SAM (figura 30) em vez dos 826 (tabelas 4 e 5).

As tabelas de 6 a 29 demonstram o número de indivíduos positivos entre os examinados nas propriedades de 1 a 24 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela SAM.

Tabela 6. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 1 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Zona Costeira, Chuí, Rio Grande do Sul, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Ovinos	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Myocastor coypus</i>	<i>Euphractus sexcinctus</i>	Total
Icterohaemorrhagiae	1	1	0	0	0	1	0	3
Canicola	0	0	1	0	1	0	0	2
Australis	0	0	0	3	1	0	3	7
Positivos	1	1	1	3	2	1	3	12
Negativos	2	0	0	3	0	0	0	5
Total	3	1	1	6	2	1	3	17

Tabela 7. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 2 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Zona Costeira, São Mateus, Espírito Santo, 2011 a 2013.

	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Nasua nasua</i>	Total
Grippotyphosa	2	3	0	0	5
Castellonis	0	0	2	1	3
Positivos	2	3	2	1	8
Negativos	1	2	13	0	16
Total	3	5	15	1	24

Tabela 8. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 3 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Zona Costeira, São Luís, Maranhão, 2011 a 2013.

	Equídeos	Suínos	Ovinos	Caprinos	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Didelphis albiventris</i>	Total
Icterohaemorrhagiae	3	0	0	0	3	0	6
Hebdomadis	0	0	1	6	0	0	7
Brastislava	0	4	0	0	0	1	5
Positivos	3	4	1	6	3	1	18
Negativos	1	5	0	9	0	0	15
Total	4	9	1	15	3	1	33

Tabela 9. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 4 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Campos Sulinos, Santana da Boa Vista, Rio Grande do Sul, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Ovinos	<i>Euphractus sexcinctus</i>	Total
Icterohaemorrhagiae	0	2	0	2	6	10
Canicola	0	0	1	1	0	2
Shermani	2	0	1	1	0	4
Positivos	2	2	2	4	6	16
Negativos	1	2	0	2	0	5
Total	3	4	2	6	6	21

Tabela 10. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 5 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Campos Sulinos, Alegrete, Rio Grande do Sul, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Ovinos	<i>Leopardus tigrinus</i>	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Euphractus sexcinctus</i>	Total
Icterohaemorrhagiae	0	1	3	2	0	1	0	7
Canicola	0	1	0	2	0	0	0	3
Javanica	1	1	0	3	0	0	4	9
Positivos	1	3	3	7	0	1	4	19
Negativos	1	2	3	6	1	0	0	13
Total	2	5	6	13	1	1	4	32

Tabela 11. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 6 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Campos Sulinos, Cruz Alta, Rio Grande do Sul, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Ovinos	<i>Euphractus sexcinctus</i>	Total
Icterohaemorrhagiae	1	0	1	0	0	2
Canicola	0	1	0	0	0	1
Andamana	0	0	0	3	3	6
Positivos	1	1	1	3	3	9
Negativos	1	1	0	6	0	8
Total	2	2	1	9	3	17

Tabela 12. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 7 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Mata Atlântica, Urubici, Santa Catarina, 2011 a 2013.

	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Hidrochaeris hidrochaeris</i>	<i>Nasua nasua</i>	<i>Didelphis aurita</i>	Total
Canicola	1	2	4	1	1	1	1	11
Positivos	1	2	4	1	1	1	1	11
Negativos	0	2	8	0	0	0	0	10
Total	1	4	12	1	1	1	1	21

Tabela 13. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 8 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Mata Atlântica, Eldorado, São Paulo, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Ovinos	<i>Didelphis aurita</i>	Total
Icterohaemorrhagiae	4	0	1	0	2	7
Pomona	0	5	0	7	0	12
Castellonis	1	0	0	2	1	4
Positivos	5	5	1	9	3	23
Negativos	0	0	0	10	0	10
Total	5	5	1	19	3	33

Tabela 14. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 9 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Mata Atlântica, Pedra Azul, Minas Gerais, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Didelphis albiventris</i>	Total
Pomona	2	1	0	0	0	3
Wolffi	0	0	0	6	0	6
Andamana	0	1	4	0	1	6
Positivos	2	2	4	6	1	15
Negativos	2	2	4	9	0	17
Total	4	4	8	15	1	32

Tabela 15. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 10 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Cerrado, Uberlândia, Minas Gerais, 2011 a 2013.

	Cães	Bovinos	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Rattus rattus</i>	Total
Copenhageni	1	12	3	1	17
Bataviae	1	3	1	0	5
Positivos	2	15	4	1	22
Negativos	0	23	0	0	23
Total	2	38	4	1	45

Tabela 16. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 11 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Cerrado, Cavalcante, Goiás, 2011 a 2013.

	Cães	Equídeos	<i>Dasypus novemcinctus</i>	<i>Didelphis albiventris</i>	<i>Cerdocyon thous</i>	Total
Icterohaemorrhagiae	0	1	1	0	0	2
Grippotyphosa	2	0	0	0	1	3
Bataviae	0	0	0	1	1	2
Positivos	2	1	1	1	2	7
Negativos	1	2	0	0	0	3
Total	3	3	1	1	2	10

Tabela 17. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 12 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Cerrado, Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, 2011 a 2013.

	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Cebus apella</i>	<i>Nasua nasua</i>	Total
Grippotyphosa	0	3	2	0	0	5
Bratislava	2	0	0	0	1	3
Javanica	0	2	0	3	0	5
Positivos	2	5	2	3	1	13
Negativos	1	6	0	0	0	7
Total	3	11	2	3	1	20

Tabela 18. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 13 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Pantanal, Miranda, Mato Grosso do Sul, 2011 a 2013.

	Humanos	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Philander frenata</i>	<i>Hidrochaeris hidrochaeris</i>	Total
Bratislava	2	1	0	4	7
Javanica	0	0	1	0	1
Positivos	2	1	1	4	8
Negativos	0	0	0	0	0
Total	2	1	1	4	8

Tabela 19. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 14 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Pantanal, Itiquira, Mato Grosso, 2011 a 2013.

	Cães	Equídeos	<i>Euphractus sexcinctus</i>	<i>Nasua nasua</i>	<i>Cerdocyon thous</i>	<i>Cebus apella</i>	Total
Copenhageni	0	7	0	0	0	1	8
Grippotyphosa	0	13	1	1	0	0	15
Shermani	1	0	0	1	1	0	3
Whiticombi	0	0	0	0	2	1	3
Positivos	1	20	1	2	3	2	29
Negativos	1	19	0	1	2	1	24
Total	2	39	1	3	5	3	53

Tabela 20. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 15 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Pantanal, Poconé, Mato Grosso, 2011 a 2013.

	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Cerdocyon thous</i>	Total
Grippotyphosa	0	1	2	0	3
Brastilava	3	4	1	3	11
Positivos	3	5	3	3	14
Negativos	4	5	4	0	13
Total	7	10	7	3	27

Tabela 21. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 16 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Caatinga, Sobradinho, Bahia, 2011 a 2013.

	Humanos	Ovinos	Caprinos	<i>Cavea aperea</i>	<i>Euphractus sexcinctus</i>	Total
Panama	0	12	12	0	1	25
Australis	2	0	0	1	0	3
Positivos	2	12	12	1	1	28
Negativos	3	13	13	0	0	29
Total	5	25	25	1	1	57

Tabela 22. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 17 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Caatinga, Garanhuns, Pernambuco, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Euphractus sexcinctus</i>	<i>Callithrix jacchus</i>	Total
Patoc	1	1	4	3	1	1	11
Positivos	1	1	4	3	1	1	11
Negativos	0	0	2	7	0	0	9
Total	1	1	6	10	1	1	20

Tabela 23. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 18 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Caatinga, Sobral, Ceará, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Ovinos	Caprinos	<i>Euphractus sexcinctus</i>	<i>Cerdocyon thous</i>	Total
Copenhageni	6	2	1	0	0	1	1	11
Autumnalis	0	0	0	0	0	1	1	2
Pyrogenes	0	0	0	4	4	0	0	8
Positivos	6	2	1	4	4	2	2	21
Negativos	14	1	1	12	8	0	0	36
Total	20	3	2	16	12	2	2	57

Tabela 24. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 19 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Floresta Amazônica, Juína, Mato Grosso, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Total
Bratislava	1	1	3	5
Positivos	1	1	3	5
Negativos	1	1	2	4
Total	2	2	5	9

Tabela 25. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 20 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Floresta Amazônica, Parauapebas, Pará, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Didelphis marsupialis</i>	<i>Euphractus sexcinctus</i>	Total
Hardjo	0	1	0	8	0	0	9
Australis	3	3	10	3	2	4	25
Positivos	3	4	10	11	2	4	34
Negativos	5	1	8	14	0	0	28
Total	8	5	18	25	2	4	62

Tabela 26. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 21 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Floresta Amazônica, Boa Vista do Gurupi, Maranhão, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Suínos	<i>N. nasua</i>	<i>H. hydrochaeris</i>	<i>D. marsupialis</i>	<i>C. thous</i>	Total
Pomona	4	0	2	1	0	1	0	8
Tarassovi	2	0	0	0	0	0	0	2
Javanica	6	1	0	0	1	0	1	9
Positivos	12	1	2	1	1	1	1	19
Negativos	12	0	0	0	0	0	0	12
Total	24	1	2	1	1	1	1	31

Tabela 27. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 22 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Transição Cerrado-Caatinga, Manga, Minas Gerais, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Bovinos	<i>Didelphis albiventris</i>	<i>Cavea aperea</i>	Total
Hardjo	0	0	0	6	0	0	6
Wolffi	0	0	4	4	0	0	8
Castellonis	8	3	0	0	2	3	16
Positivos	8	3	4	10	2	3	30
Negativos	17	0	3	6	0	0	26
Total	25	3	7	16	2	3	56

Tabela 28. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 23 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Transição Cerrado-Floresta Amazônica, Boa Esperança, Mato Grosso, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Ovinos	Bovinos	<i>C. thous</i>	<i>M. tridactyla</i>	Total
Javanica	6	2	13	15	10	1	1	48
Positivos	6	2	13	15	10	1	1	48
Negativos	10	3	17	15	6	0	0	51
Total	16	5	30	30	16	1	1	99

Tabela 29. Número de indivíduos positivos em relação ao número de mamíferos examinados na Propriedade 24 e as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos pela técnica de soroaglutinação microscópica. Transição Caatinga-Floresta Amazônica, Pedreiras, Maranhão, 2011 a 2013.

	Humanos	Cães	Equídeos	Bovinos	Total
Hardjo	0	0	0	6	6
Hebdomadis	1	1	1	6	9
Positivos	1	1	1	12	15
Negativos	0	1	3	21	25
Total	1	2	4	33	40

As figuras pares de 12 a 30 detalham, por espécie, o número de indivíduos positivos em relação ao número de indivíduos examinados e as figuras ímpares de

13 a 31 detalham as sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas nos biomas brasileiros, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência.

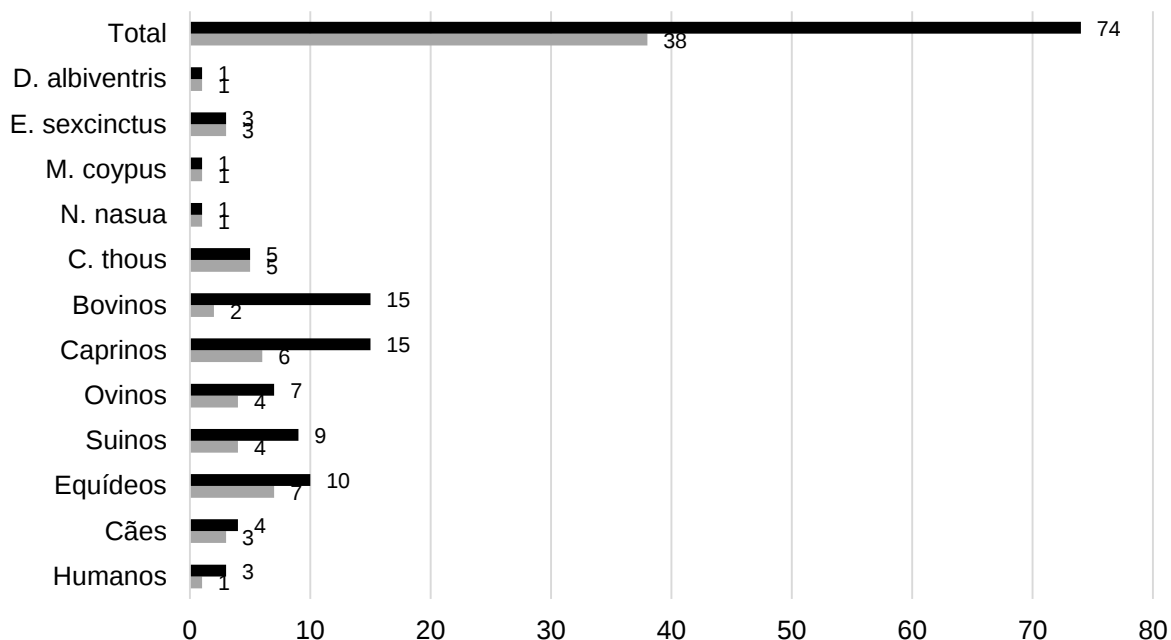


Figura 12. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013.

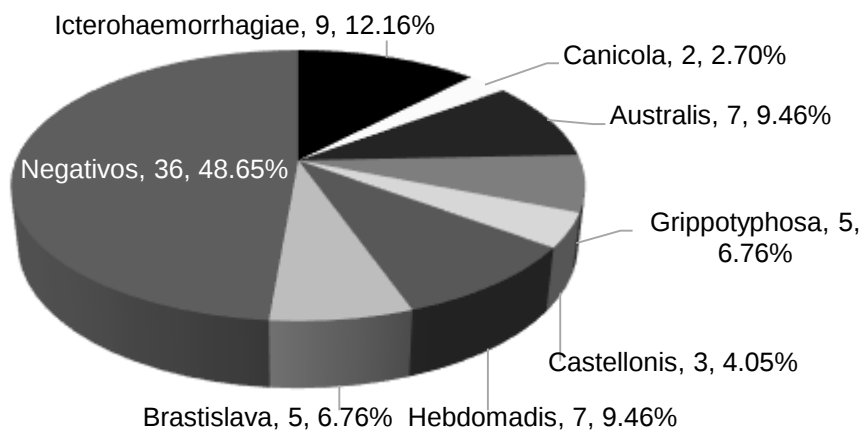


Figura 13. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma Zona Costeira, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

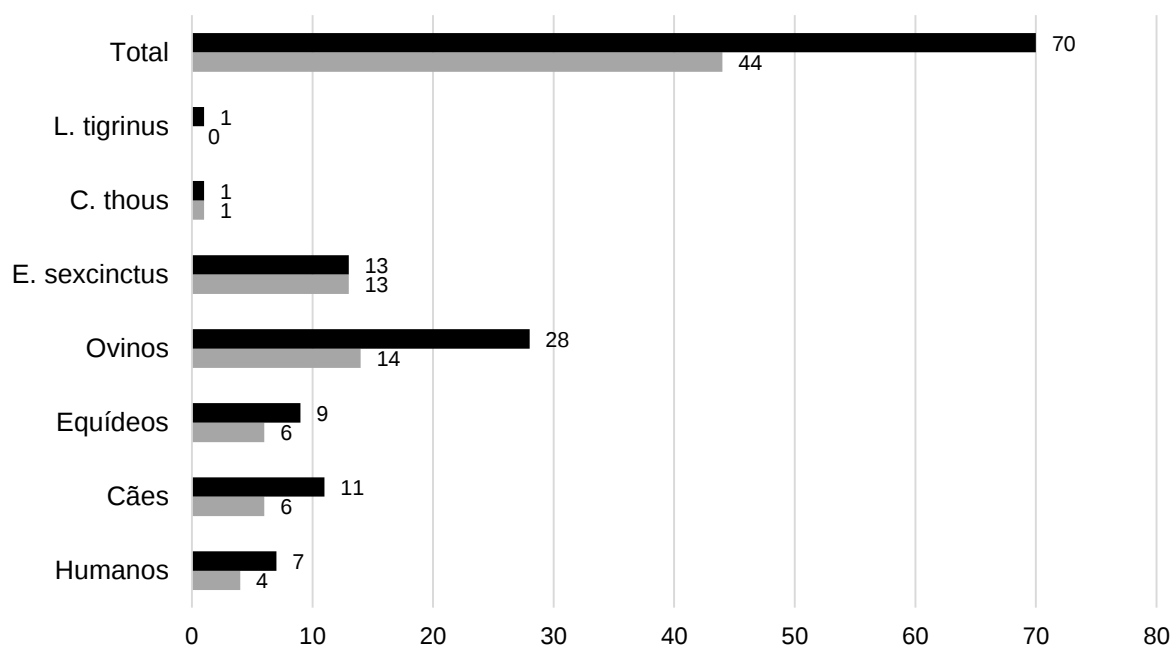


Figura 14. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013.

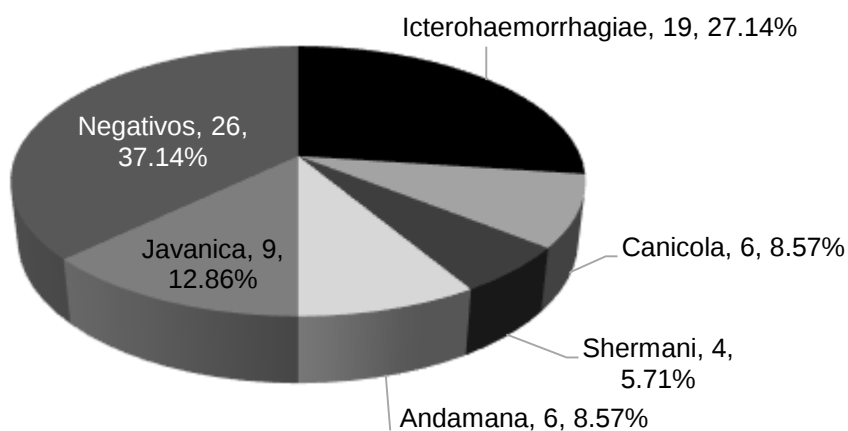


Figura 15. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma Campos Sulinos, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013

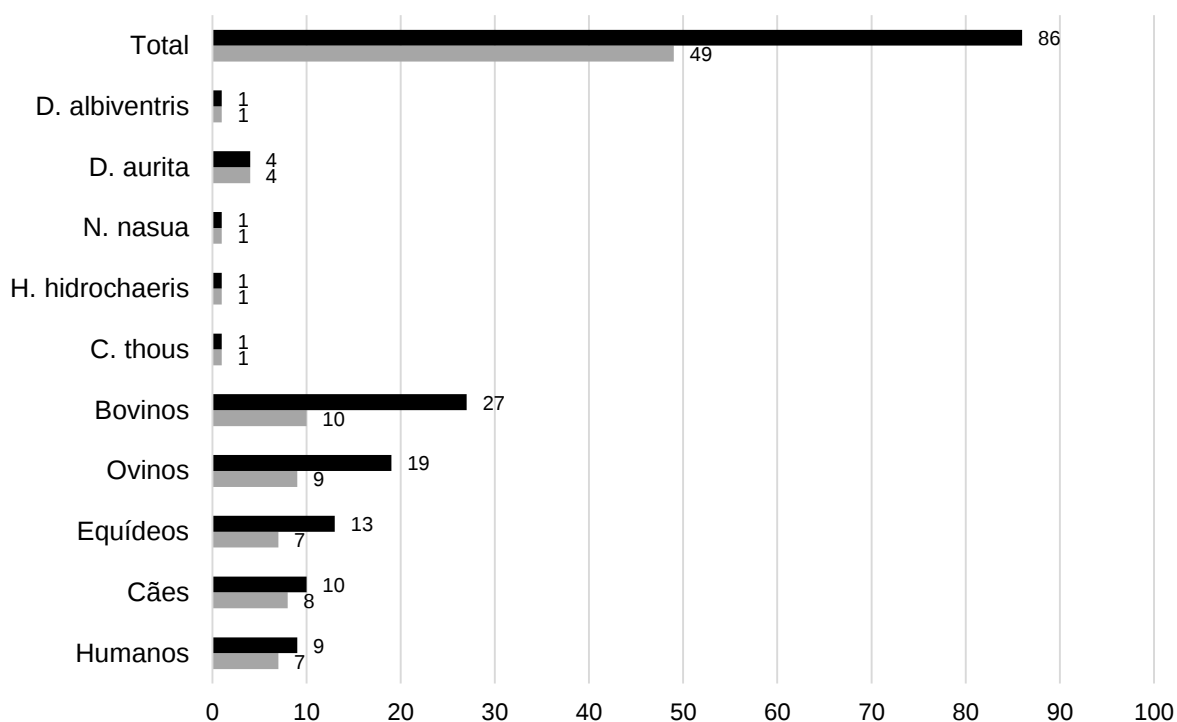


Figura 16. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013.

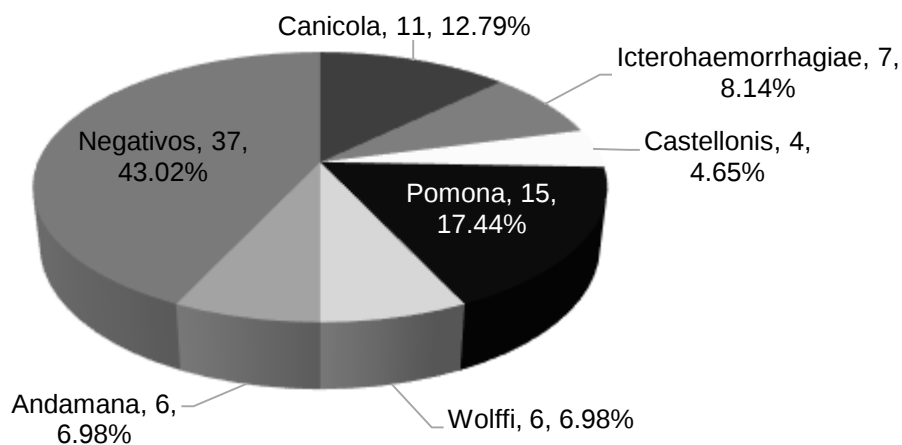


Figura 17. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma Mata Atlântica, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

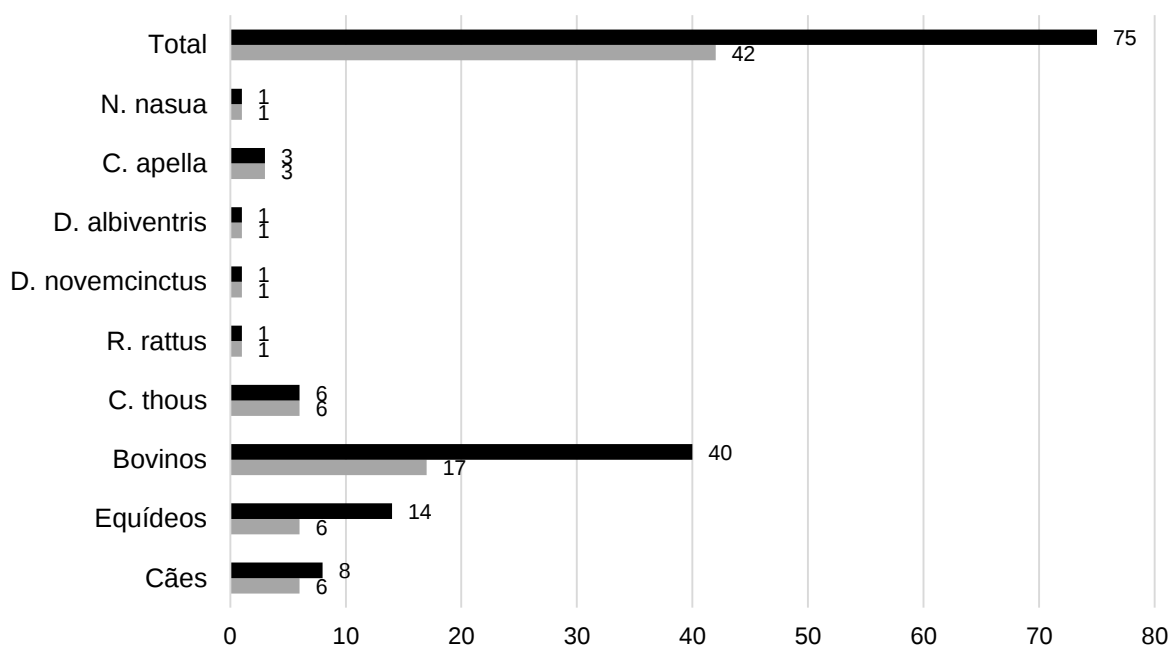


Figura 18. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma Cerrado. Brasil, 2011 a 2013.

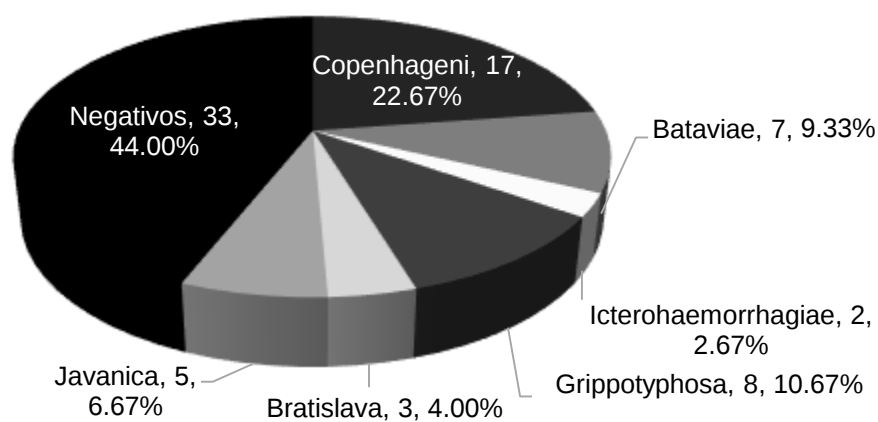


Figura 19. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma Cerrado, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

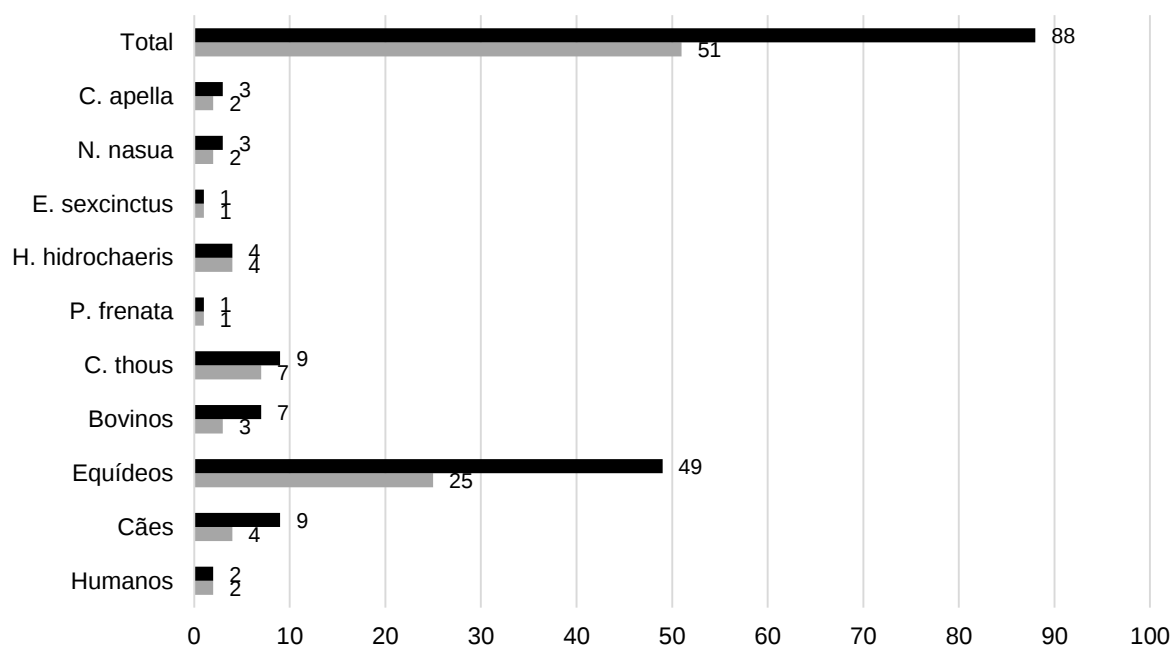


Figura 20. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma Pantanal. Brasil, 2011 a 2013.

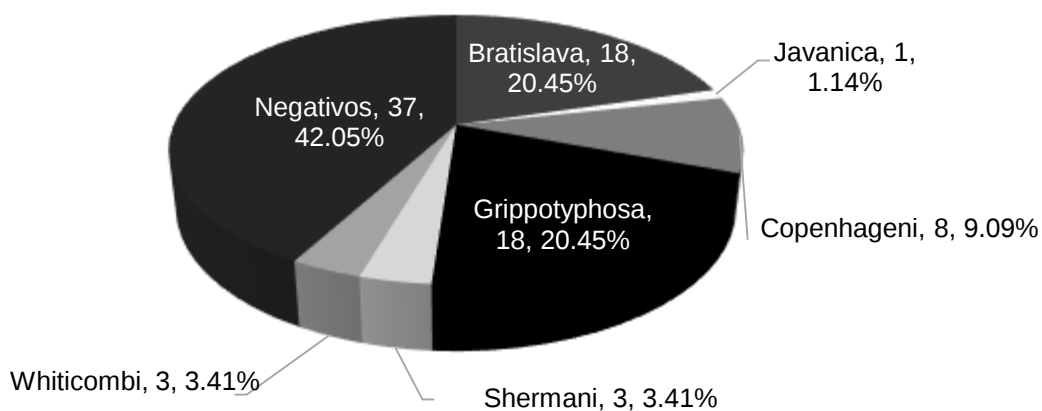


Figura 21. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma Pantanal, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

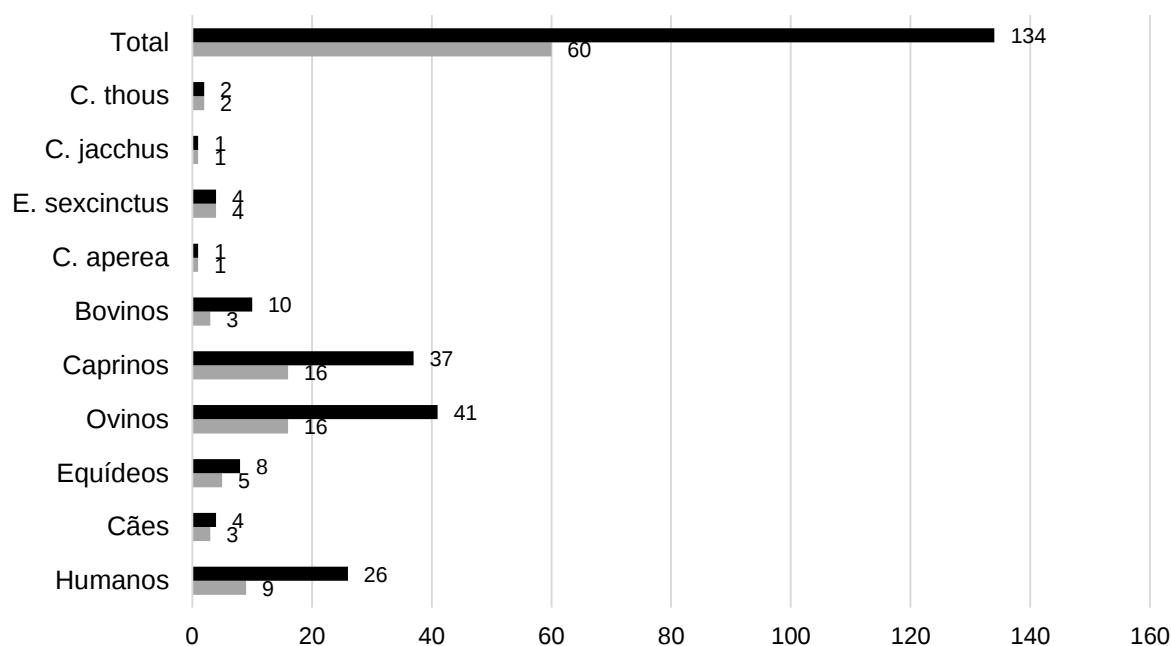


Figura 22. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma Caatinga. Brasil, 2011 a 2013.

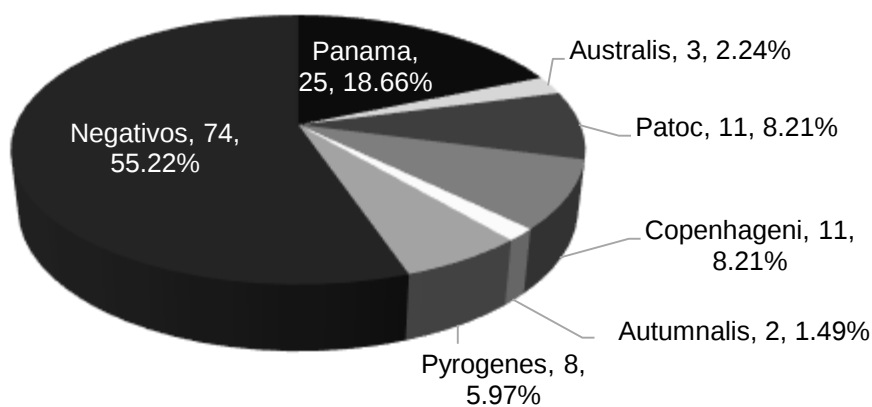


Figura 23. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma Caatinga, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

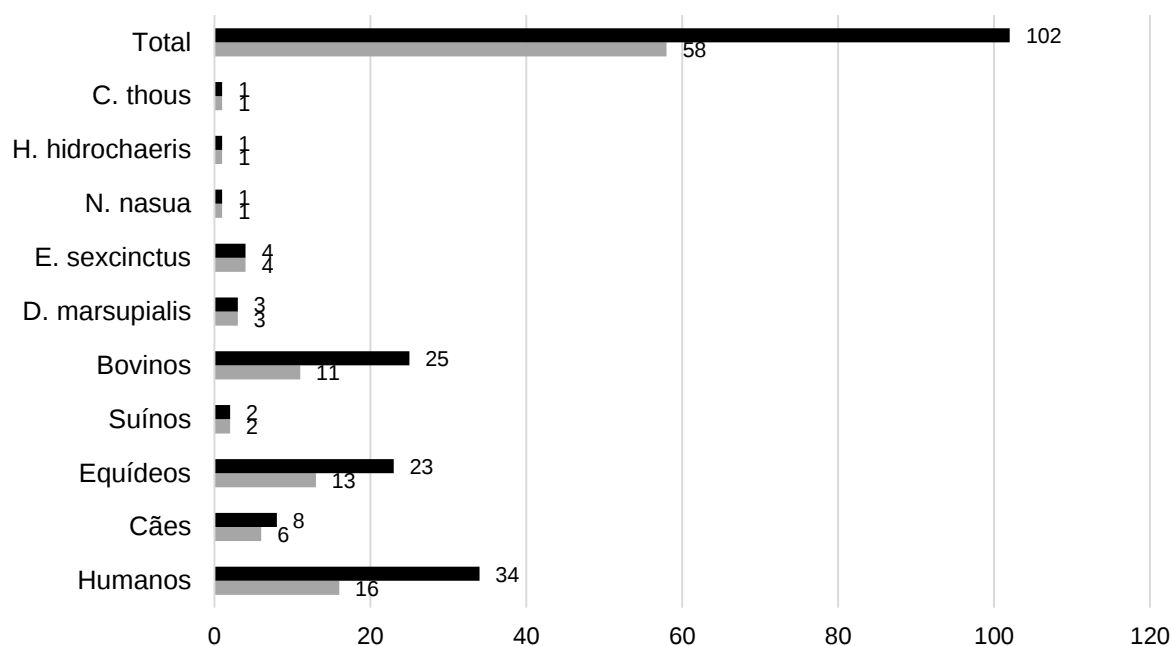


Figura 24. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013.

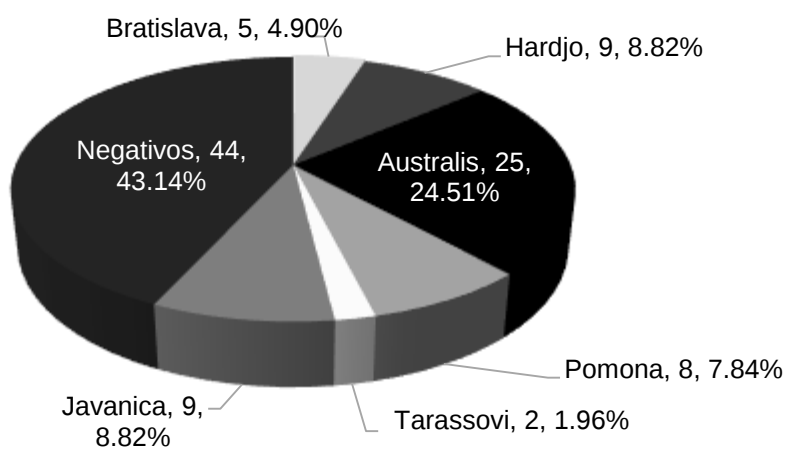


Figura 25. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma Floresta Amazônica, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

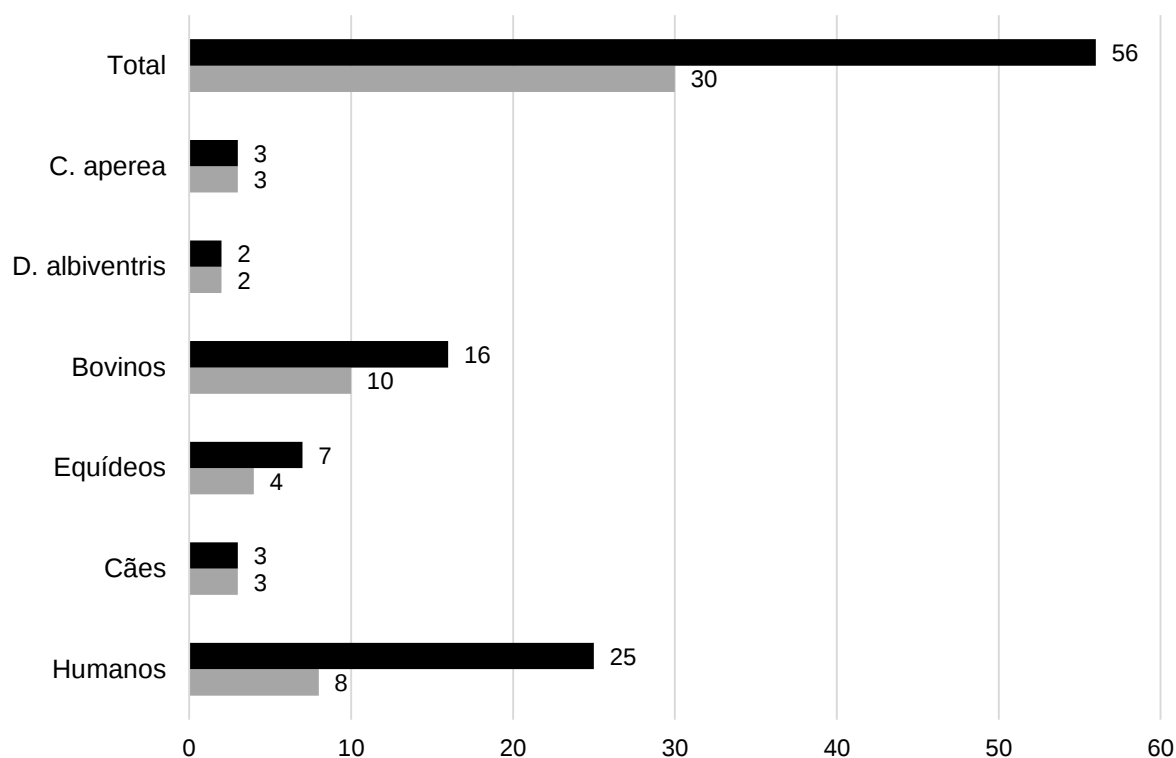


Figura 26. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma de transição Cerrado-Caatinga. Brasil, 2011 a 2013.

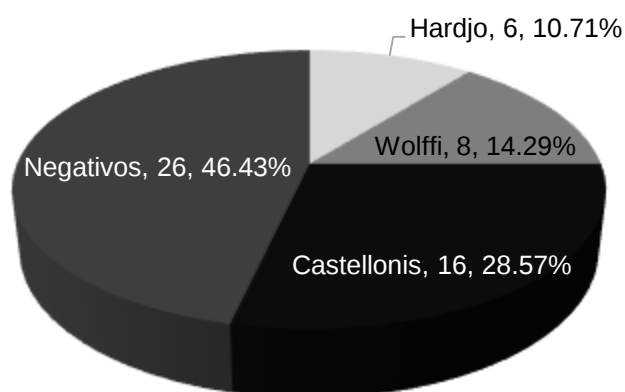


Figura 27. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma de transição Cerrado-Caatinga, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

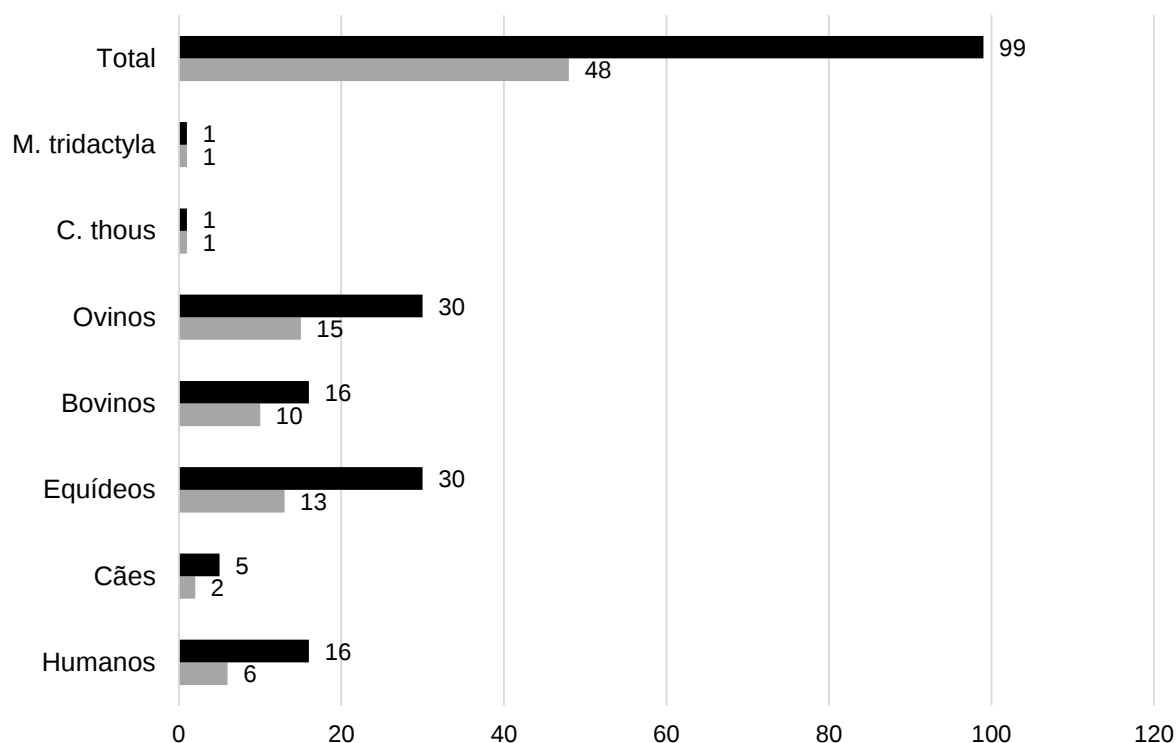


Figura 28. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma de transição Cerrado-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013.

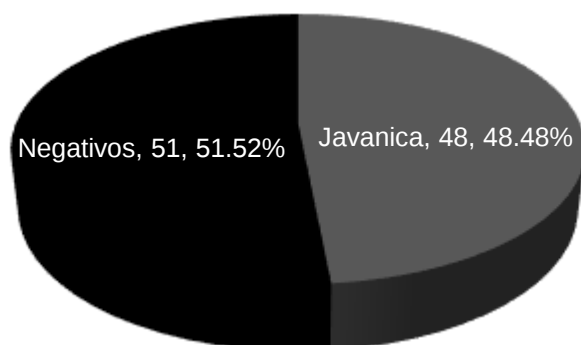


Figura 29. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma de transição Cerrado-Floresta Amazônica, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

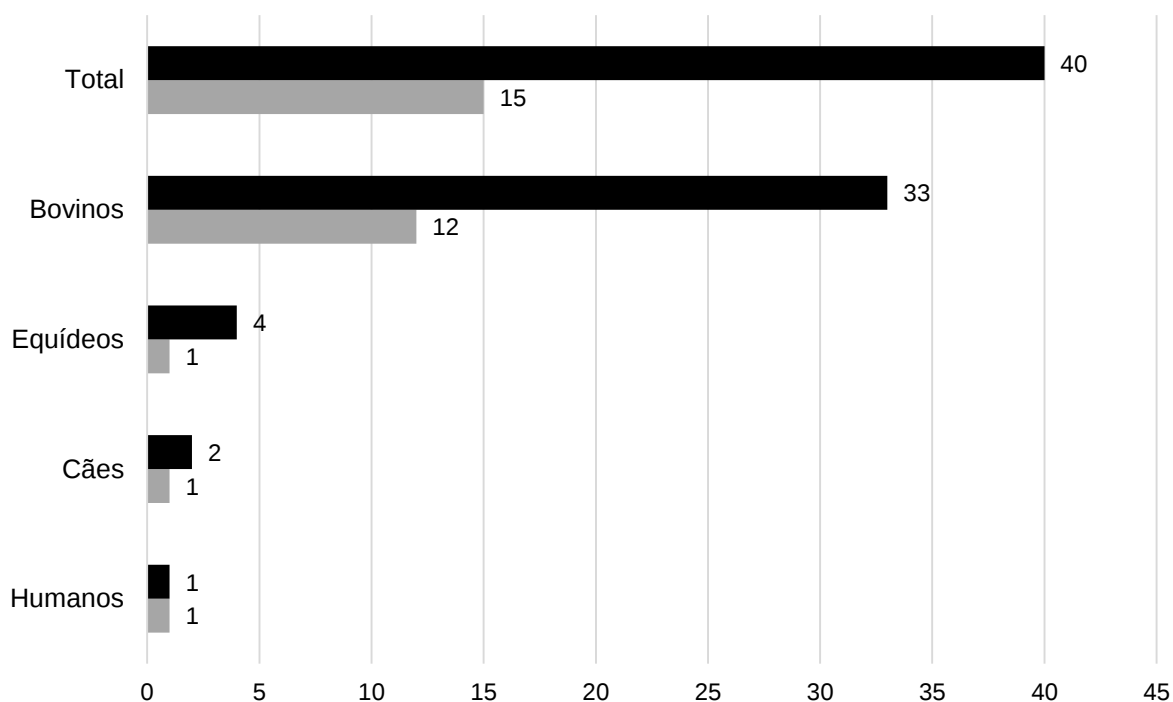


Figura 30. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie estudada no bioma de transição Caatinga-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013.

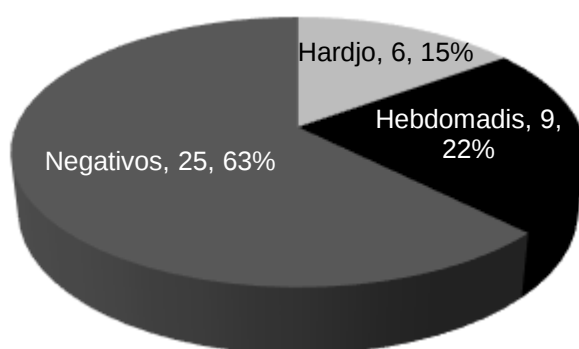


Figura 31. Sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diferentes espécies examinadas no bioma de transição Caatinga-Floresta Amazônica, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência. Brasil, 2011 a 2013.

A figura 32 descreve o número de indivíduos positivos em relação ao número de indivíduos examinados em cada espécie estudada em todas as propriedades rurais nas quais houve atividades de campo.

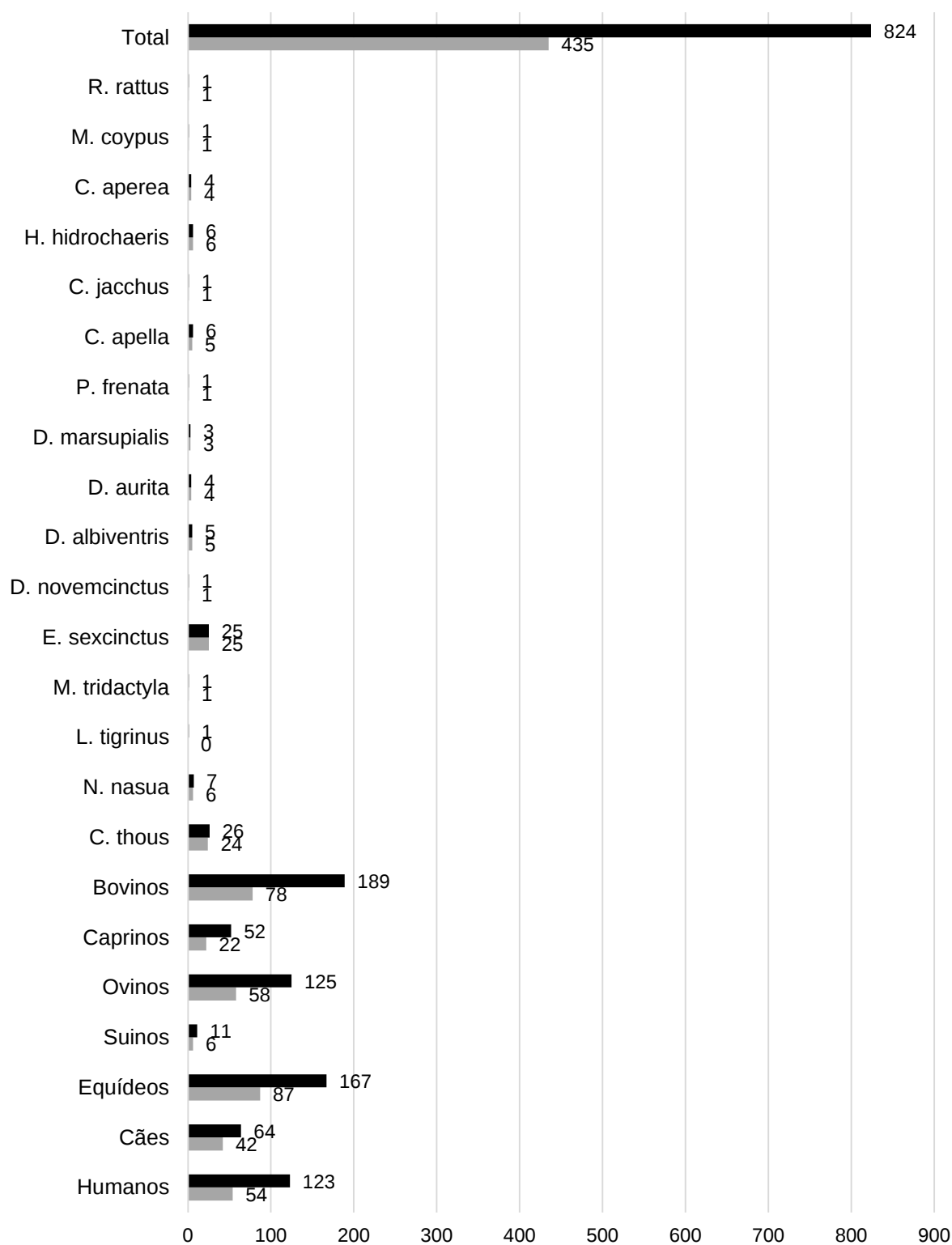


Figura 32. Número de indivíduos positivos (barras cinzas) em relação ao número de indivíduos examinados (barras pretas) em cada espécie trabalhada em todas as propriedades rurais nas quais houve atividades de campo. Brasil, 2011 a 2013.

A figura 33 detalha a ocorrência de cada uma das 21 sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas propriedades rurais onde houve atividades de campo.

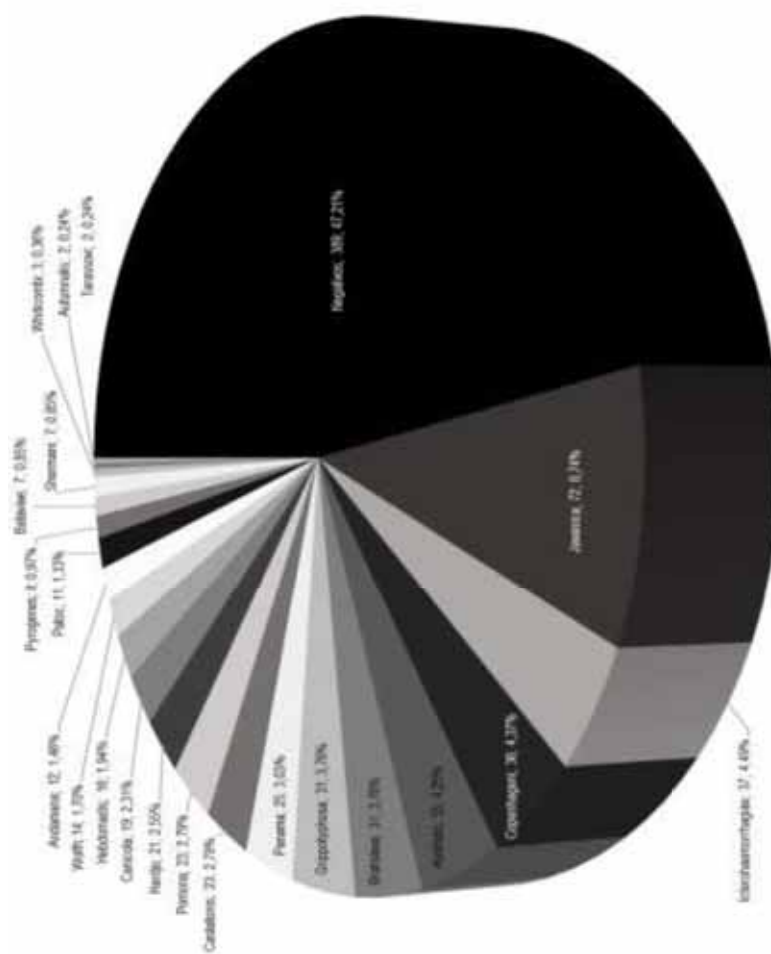


Figura 33. Sorovarietades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos em todas as espécies analisadas nas 24 propriedades rurais onde houve atividade de campo, seus respectivos números absolutos e porcentagens de ocorrência Brasil, 2011 a 2013.

A tabela 30 descreve todas as sorovariedades do agente contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas 24 propriedades estudadas e as relaciona com os biomas e com as espécies.

Tabela 30. Relação dos 10 biomas brasileiros e das espécies de acordo com o resultado da sorologia nas 24 propriedades estudadas. Brasil, 2011 a 2013.

Espécies	Biomas Brasileiros*									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Humanos	ICT	SHE JAV ICT	ICT CAS POM	-	BRA	AUS PAT COP	BRA AUS POM TAR JAV	CAS	JAV	HEB
Cães	ICT GRI	CAN ICT JAV	CAN POM AND	BRA COP BAT GRI	SHE BRA	PAT COP	BRA AUS HAR JAV	CAS	JAV	HEB
Equídeos	ICT CAN GRI	CAN SHE ICT	CAN ICT AND	ICT GRI JAV	COP GRI BRA	PAT COP	BRA AUS	WOL	JAV	HEB
Suíños	BRA	-	-	-	-	-	POM	-	-	-
Ovinos	HEB AUS	ICT CAN SHE JAV AND	POM CAS	-	-	PAN PYR	-	-	JAV	-
Caprinos	HEB	-	-	-	-	PAN PYR	-	-	-	-
Bovinos	SHE	-	CAN WOL	COP BAT GRI	GRI BRA	PAT	AUS HAR	WOL HAR	JAV	HEB
<i>Callithrix jacchus</i>	-	-	-	-	-	PAT	-	-	-	-
<i>Cavea aperea</i>	-	-	-	-	-	AUS	-	CAS	-	-
<i>Cebus apella</i>	-	-	-	JAV	COP WHI	-	-	-	-	-
<i>Cercopithecus thous</i>	CAN AUS ICT	ICT	CAN	COP BAT GRI	BRA SHE WHI	COP AUT	JAV	-	JAV	-
<i>Dasyprocta acouti</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dasyprocta novemcinctus</i>	-	-	-	ICT	-	-	-	-	-	-
<i>Didelphis albiventris</i>	BRA	-	AND	BAT	-	-	-	CAS	-	-
<i>Didelphis aurita</i>	-	-	CAN CAS ICT	-	-	-	-	-	-	-
<i>Didelphis marsupialis</i>	-	-	-	-	-	-	AUS POM	-	-	-
<i>Euphractus sexcinctus</i>	AUS	SHE JAV AND	-	-	GRI	PAT COP AUT	AUS	-	-	-
<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	-	-	CAN	-	-	-	JAV	-	-	-
<i>Leopardus tigrinus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Marmecophaga tridactyla</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	JAV	-
<i>Myocastor coypus</i>	ICT	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Nasua nasua</i>	SHE	-	CAN	BRA	GRI SHE	-	JAV	-	-	-
<i>Ozotocercus bezoarticus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Philander frenata</i>	-	-	-	-	JAV	-	-	-	-	-
<i>Rattus rattus</i>	-	-	-	COP	-	-	-	-	-	-

*Ver o número correspondente a cada bioma na tabela 1.

** Ver siglas das sorovariedades de *Leptospira* spp. na tabela 2.

Pela análise das tabelas de 6 a 29 e também da tabela 30, chama a atenção a ampla gama de sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas diversas espécies e em todas as localidades estudadas. Das 24 sorovariedades utilizadas como antígeno na prova de soroaglutinação microscópica, as únicas três contra as quais não foram encontrados títulos de anticorpos foram Butembo, Cynopteri e Sentot.

Observa-se grande ocorrência de reações às sorovariedades Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola e Grippotyphosa, e não somente uma elevada frequência em uma determinada propriedade, mas sim a presença dessas sorovariedades como reagentes em populações de diversas regiões e biomas brasileiros e, ainda, nota-se que houve reação às sorovariedades Icterohaemorrhagiae e Canicola em todas as três propriedades rurais do bioma Campos Sulinos.

Também analisando os resultados da sorologia, há presença marcante de reações a sorovariedades pertencentes à espécie *Leptospira borgpetersenii* em populações humanas, de animais domésticos e de animais selvagens; sorovariedade Castellonis nas propriedades 2, 8 e 22 e sorovariedade Javanica nas propriedades 5, 12, 13, 21 e 23.

Ao observar detalhadamente a figura 32 e a tabela 30, pode-se destacar a grande ocorrência de reações sorológicas em *Cerdocyon thous* e em *Euphractus sexcinctus*. No caso da primeira espécie, foram examinados 26 indivíduos, sendo 24 (92,31%) reagentes a pelo menos uma sorovariedade de *Leptospira* spp em oito dos 10 biomas estudados (Zona Costeira, Campos Sulinos, Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal, Caatinga, Floresta Amazônica e Transição Cerrado-Floresta Amazônica). Todos os 25 animais da segunda espécie foram reagentes a pelo menos uma sorovariedade do agente em cinco dos 10 biomas estudados (Zona Costeira, Campos Sulinos, Pantanal, Caatinga e Floresta Amazônica) e, ainda, no bioma Campos Sulinos todas as três propriedades tiveram 100% dos indivíduos da espécie *Euphractus sexcinctus* reagentes a pelo menos uma sorovariedade da bactéria.

6.4. Isolamento

Houve isolamento de *Leptospira* spp. de 20 amostras, caracterizadas por genotipagem, a partir da cultura de urina das diferentes espécies examinadas. A tabela 31 resume o resultado da genotipagem realizada após o isolamento de *Leptospira* spp. pela técnica Multiple Locus Variable number tandem repeat (MLVA) e relaciona com o resultado da SAM.

Houve, ao longo de todas as atividades de campo, quatro óbitos de animais selvagens durante a recuperação pós-anestésica, sendo um *Cavea aperea*, um *Cebus apela* e dois *Cerdocyon thous*. Entretanto todos os cultivos dos fragmentos dos órgãos dos quatro animais apresentaram contaminação e, sendo assim, tiveram que ser descartados.

Na propriedade pertencente ao Município de Chuí, RS, Zona Costeira, foi isolada *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae estirpe RGA de um *Myocastor coypus* macho e *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 de uma ovelha.

Em São Mateus, ES, Zona Costeira, foi isolada *L. borgpetersenii* de um *Nasua nasua* fêmea.

Em São Luís, MA, Zona Costeira, houve isolamento *L. borgpetersenii* de um *Cerdocyon thous* fêmea.

Em Santana da Boa Vista, RS, Campos Sulinos, isolamento de *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 de um *Euphractus sexcinctus* macho e de *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 de um cão macho.

Em Alegrete, RS, Campos Sulinos, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 de um *Leopardus tigrinus* fêmea.

Em Cruz Alta, RS, Campos Sulinos, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 de um equino macho e de um homem.

Em Urubici, SC, Mata Atlântica, *L. interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV de um *Didelphis aurita* macho, de um bovino fêmea e de uma mulher.

Em Eldorado, SP, Mata Atlântica, houve isolamento de *L. borgpetersenii* de um *Didelphis aurita* fêmea.

Na propriedade pertencente ao Município de Chapada dos Guimarães, MT, Cerrado, foi isolada *L. borgpetersenii* de um *Cebus apella* macho.

Em Sobradinho, BA, Caatinga, *L. interrogans* sorogruppo Pomona de um *Cavea aperea* macho e *L. interrogans* de um *Euphractus sexcinctus* fêmea.

Em Sobral, CE, Caatinga, *L. interrogans* de um *Cerdocyon thous* fêmea e *L. interrogans* sorogruppo Pomona de um *Euphractus sexcinctus* macho.

Em Boa Vista do Gurupi, MA, Floresta Amazônica, *L. interrogans* sorogruppo Pomona de um *Nasua nasua* macho.

Na propriedade pertencente ao Município de Manga, MG, transição Cerrado-Caatinga, houve isolamento de *L. borgpetersenii* de um *Didelphis albiventris* macho.

Tabela 31. Resultado de isolamento de *Leptospira* spp. após realização de genotipificação usando a técnica Multiple Locus Variable number tandem repeat e comparação com o resultado da sorologia. Brasil, 2011 a 2013.

Propriedade	Município	Estado	Biotipo	Espécie	Sexo	Resultado de Genotipificação Molecular	Resultado da SAM
001	Chuí	RS	Zona Costeira	Ovírio	F	<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae Copenhageni Fiocruz L1-130	Negativo
001	Chuí	RS	Zona Costeira	<i>Myocastor coypus</i>	M	<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae RGA	Icterohaemorrhagiae
002	São Mateus	ES	Zona Costeira	<i>Nasua nasua</i>	F	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Castellonis
003	São Luís	MA	Zona Costeira	<i>Cerdocyon thous</i>	F	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Icterohaemorrhagiae
004	Santana da Boa Vista	RS	Campos Sulinos	Cão	M	<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae Copenhageni Fiocruz L1-130	Icterohaemorrhagiae
004	Santana da Boa Vista	RS	Campos Sulinos	<i>Euphractus sexcinctus</i>	M	<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae Copenhageni Fiocruz L1-130	Icterohaemorrhagiae
005	Alegrete	RS	Campos Sulinos	<i>Leopardus tigrinus</i>	F	<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae Copenhageni Fiocruz L1-130	Negativo
006	Cruz Alta	RS	Campos Sulinos	Equino	M	<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae Copenhageni Fiocruz L1-130	Icterohaemorrhagiae
006	Cruz Alta	RS	Campos Sulinos	Humano	M	<i>L. interrogans</i> Icterohaemorrhagiae Copenhageni Fiocruz L1-130	Icterohaemorrhagiae
007	Urubici	SC	Mata Atlântica	Humano	F	<i>Leptospira interrogans</i> Canicola Hond Utrecht IV	Negativo
007	Urubici	SC	Mata Atlântica	<i>Didelphis aurita</i>	M	<i>Leptospira interrogans</i> Canicola Hond Utrecht IV	Canicola
007	Urubici	SC	Mata Atlântica	Bovino	F	<i>Leptospira interrogans</i> Canicola Hond Utrecht IV	Canicola
008	El Dorado	SP	Mata Atlântica	<i>Didelphis aurita</i>	F	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Castellonis
12	Chapada dos Guimarães	MT	Cerrado	<i>Cebus apella</i>	M	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Javanica
16	Sobradinho	BA	Caatinga	<i>Cavea aperea</i>	M	<i>Leptospira interrogans</i> Pomona	Australis
16	Sobradinho	BA	Caatinga	<i>Euphractus sexcinctus</i>	F	<i>Leptospira interrogans</i> Pomona	Panama
18	Sobral	CE	Caatinga	<i>Euphractus sexcinctus</i>	F	<i>Leptospira interrogans</i> Pomona	Copenhagueni
18	Sobral	CE	Caatinga	<i>Cerdocyon thous</i>	F	<i>Leptospira interrogans</i> Pomona	Copenhagueni
21	Boa Vista do Gurupi	MA	Floresta Amazônica	<i>Nasua nasua</i>	M	<i>Leptospira interrogans</i> Pomona	Pomona
22	Manga	MG	Transição Cerrado - Caatinga	<i>Didelphis albiventris</i>	M	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	Castellonis

As figuras de 34 a 53 ilustram as fotos dos géis referentes à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando cada espécie e estirpe de *Leptospira* spp. nas diferentes espécies examinadas nas diversas localidades onde foram realizadas atividades de campo.

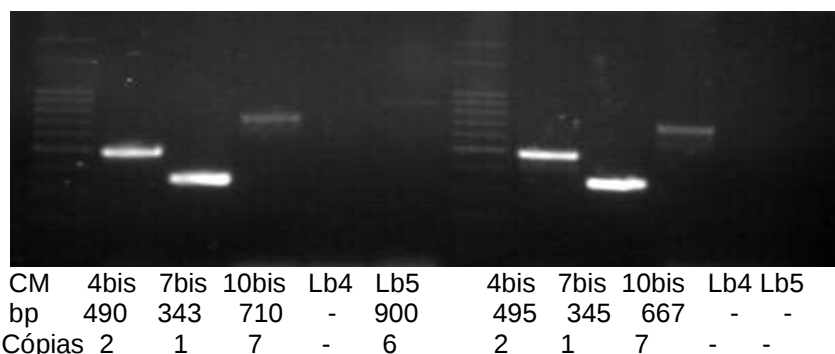


Figura 34. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae estirpe RGA em um *Myocastor coypus* macho na propriedade localizada no Município de Chuí, RS, Zona Costeira, 2011 a 2013.

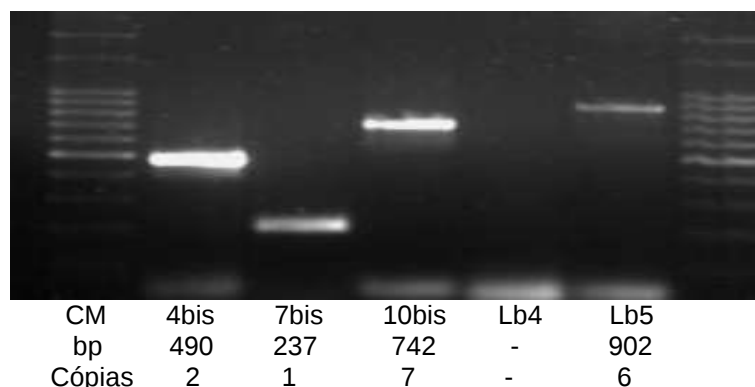
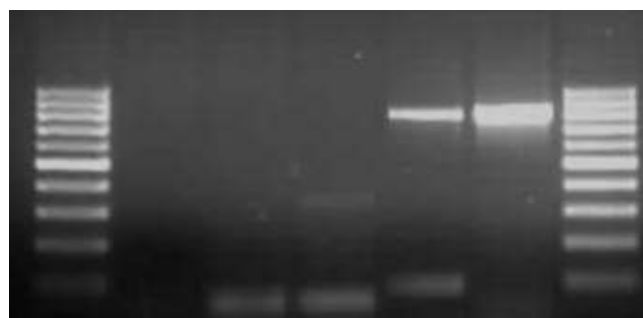


Figura 35. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 em um ovino fêmea na propriedade localizada no Município de Chuí, RS, Zona Costeira, 2011 a 2013.



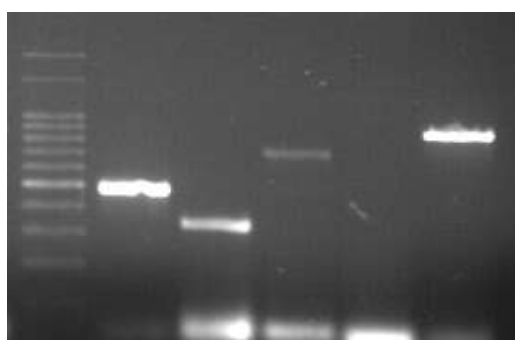
CM	4	7	10	Lb4	Lb5
PM	-	-	335	823	853
Cópias	-	-	0	4	3

Figura 36. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira borgpetersenii* em um *Nasua nasua* fêmea na propriedade localizada no Município de São Mateus, ES, Zona Costeira, 2011 a 2013.



CM	4	7	10	Lb4	Lb5
bp	-	-	-	1049	912
Cópias	-	-	-	8	5

Figura 37. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira borgpetersenii* em um *Cerdocyon thous* fêmea na propriedade localizada no Município de São Luís, MA, Zona Costeira, 2011 a 2013.



CM	4bis	7bis	10bis	Lb4	Lb5
bp	495	343	740	-	902
Cópias	2	1	7	-	6

Figura 38. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 em um *Euphractus sexcinctus* macho na propriedade localizada no Município de Santana da Boa Vista, RS, Campos Sulinos, 2011 a 2013.

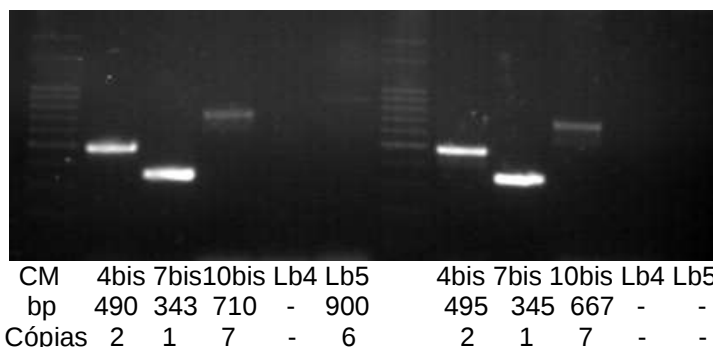


Figura 39. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 em um cão macho na propriedade localizada no Município de Santana da Boa Vista, RS, Campos Sulinos, 2011 a 2013.

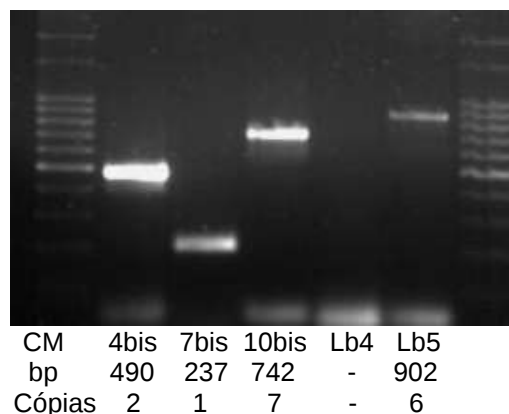


Figura 40. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 em um *Leopardus tigrinus* fêmea na propriedade localizada no Município de Alegrete, RS, Campos Sulinos, 2011 a 2013.

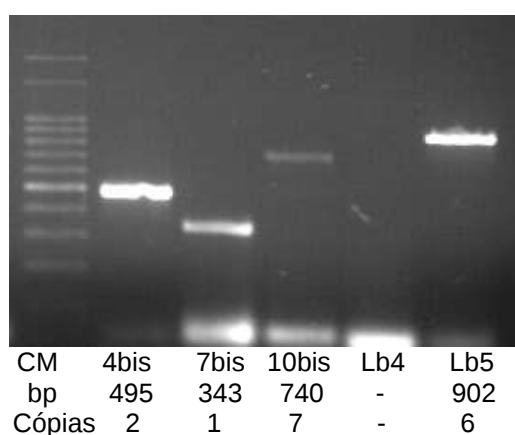


Figura 41. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 em um equino macho na propriedade localizada no Município de Cruz Alta, RS, Campos Sulinos, 2011 a 2013.

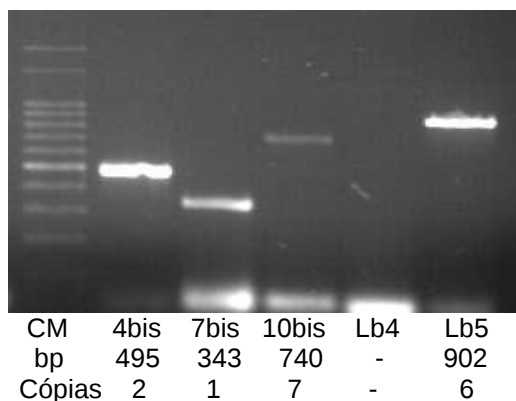


Figura 42. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 em um humano do sexo masculino na propriedade localizada no Município de Cruz Alta, RS, Campos Sulinos, 2011 a 2013.

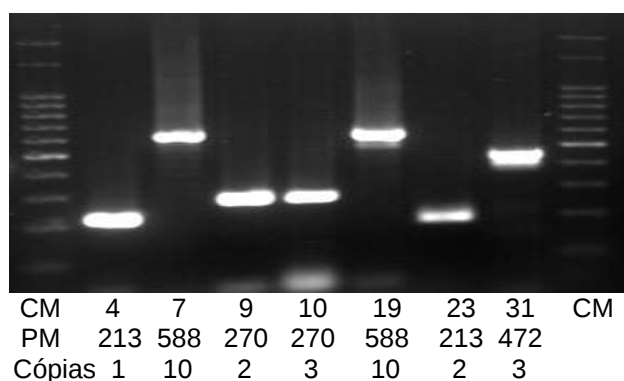


Figura 43. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV em um *Didelphis aurita* macho na propriedade localizada no Município de Urubici, SC, Mata Atlântica, 2011 a 2013.

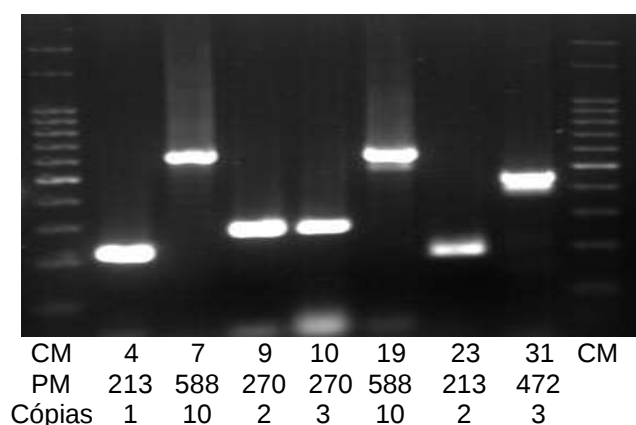


Figura 44. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV em um bovino fêmea na propriedade localizada no Município de Urubici, SC, Mata Atlântica, 2011 a 2013.

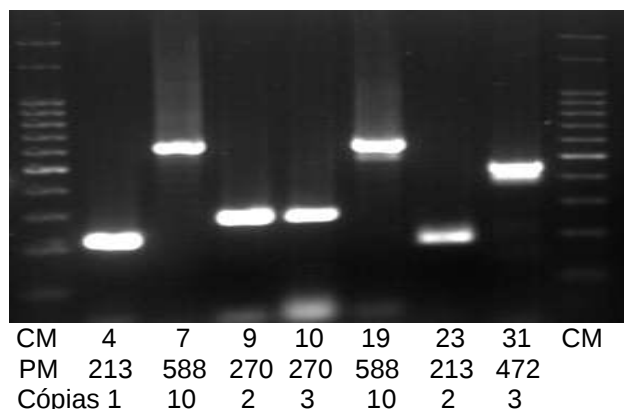


Figura 45. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV em um humano do sexo feminino na propriedade localizada no Município de Urubici, SC, Mata Atlântica, 2011 a 2013.

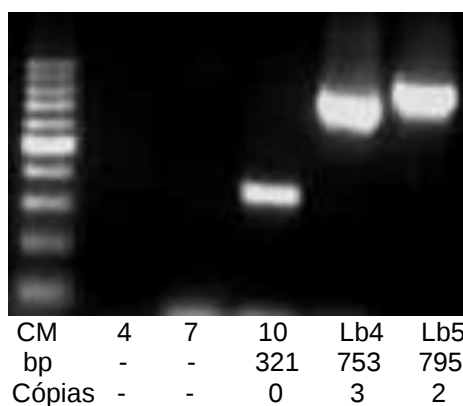


Figura 46. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira borgpetersenii* em um *Didelphis aurita* fêmea na propriedade localizada no Município de Eldorado, SP, Mata Atlântica, 2011 a 2013.

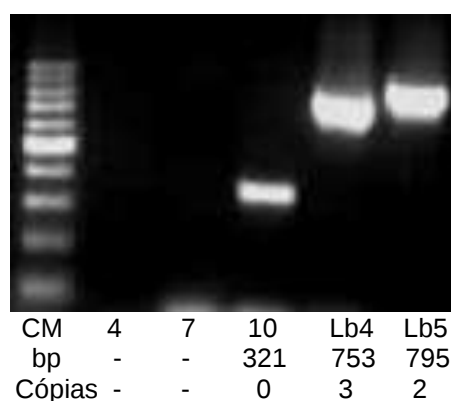
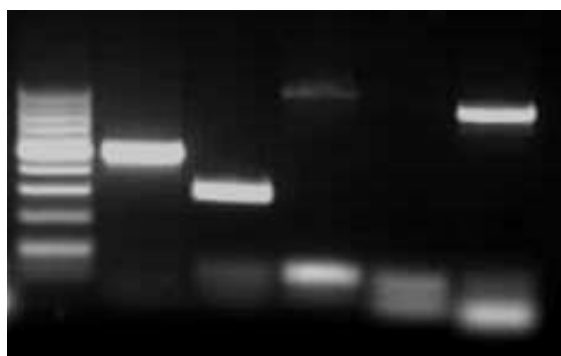


Figura 47. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira borgpetersenii* em um *Cebus apella* macho na propriedade localizada no Município de Chapada dos Guimarães, MT, Cerrado, 2011 a 2013.



CM	4	7	10	Lb4	Lb5
PM	471	311	993	-	785
Cópias	1	0	12	-	3

Figura 48. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* sorogrupo Pomona em um *Cavea aperea* macho na propriedade localizada no Município de Sobradinho, BA, Caatinga, 2011 a 2013.



CM	4	7	9	10	19	23	31	CM
PM	260	217	696	485	245	645	-	
Cópias	2	1	11	7	2	11	-	

Figura 49. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* em um *Euphractus sexcinctus* fêmea na propriedade localizada no Município de Sobradinho, BA, Caatinga, 2011 a 2013.



CM	4	7	9	10	19	23	31	CM
PM	260	217	696	485	245	645	-	
Cópias	2	1	11	7	2	11	-	

Figura 50. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* em um *Cerdocyon thous* fêmea na propriedade localizada no Município de Sobral, CE, Caatinga, 2011 a 2013.

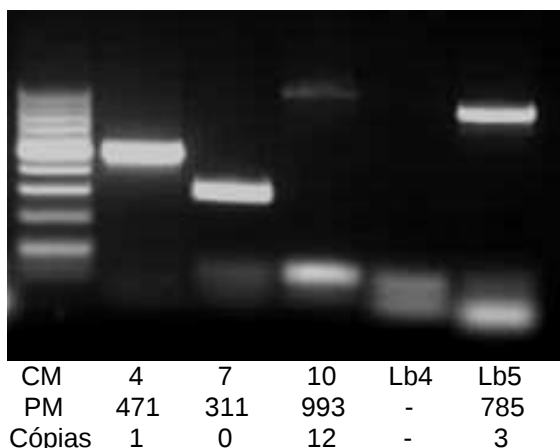


Figura 51. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* sorogrupo Pomona em um *Euphractus sexcinctus* macho na propriedade localizada no Município de Sobral, CE, Caatinga, 2011 a 2013.

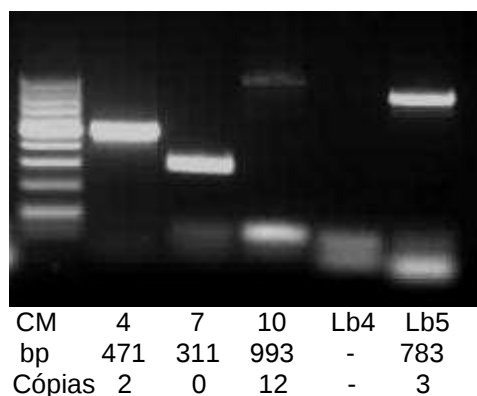


Figura 52. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira interrogans* sorogrupo Pomona em um *Nasua nasua* macho na propriedade localizada no Município de Boa Vista do Gurupi, MA, Floresta Amazônica, 2011 a 2013.

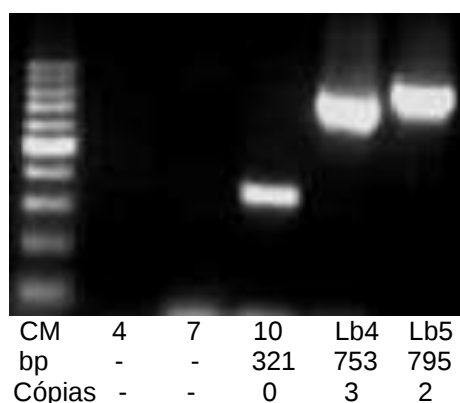


Figura 53. Foto do gel referente à revelação da genotipagem MLVA por eletroforese, identificando a espécie *Leptospira borgpetersenii* em um *Didelphis albiventris* macho na propriedade localizada no Município de Manga, MG, Transição Cerrado-Caatinga, 2011 a 2013.

Os resultados apresentados na tabela 31 revelam que, na propriedade 7, a espécie patogênica *L. interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV foi identificada nas diferentes fontes, sendo elas animais selvagens, animais domésticos e humanos.

Também é digno de nota que *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 foi isolada nas três propriedades do bioma Campos Sulinos. A propriedade do município de Santana da Boa Vista apresentou um animal selvagem e um animal doméstico infectados por essa mesma estirpe. Ainda no bioma Campos Sulinos, a propriedade do município de Cruz Alta apresentou um animal doméstico e um humano infectado pela estirpe Fiocruz L1-130.

Também ao observar minuciosamente a tabela 31, nota-se que houve concordância dos achados na genotipagem MLVA com os achados sorológicos na SAM em 14 das 20 amostras das quais houve isolamento de *Leptospira* spp.

Na propriedade 1 houve isolamento de *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae estirpe RGA de um *Myocastor coypus* e o mesmo indivíduo foi reagente à sorovariedade Icterohaemorrhagiae.

Na propriedade 2 houve isolamento de *Leptospira borgpetersenii* de um *Nasua nasua* e o mesmo animal foi reagente à sorovariedade Castellonis.

Na propriedade 4 houve isolamento de *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 de um cão e de um *Euphractus sexcinctus* e esses mesmos animais foram reagentes à sorovariedade Icterohaemorrhagiae. Na propriedade 6 houve a mesma situação em um equino e em um humano.

Na propriedade 7 houve isolamento de *L. interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV de um *Didelphis aurita* e de um bovino e esses animais foram reagentes à sorovariedade Canicola.

Na propriedade 8 houve isolamento de *Leptospira borgpetersenii* de um *Didelphis aurita* e o mesmo indivíduo foi reagente à sorovariedade Castellonis. O mesmo ocorreu na propriedade 12 em um *Cebus apella*, e nesse caso o animal foi reagente à sorovariedade Javanica.

Na propriedade 16 houve isolamento de *Leptospira interrogans* de um *Euphractus sexcinctus*, sem estirpe determinada pela genotipagem, e o mesmo

animal foi reagente à sorovariedade Panama. O mesmo ocorreu na propriedade 18 em um *Cerdocyon thous*, o qual foi reagente à sorovariedade Copenhageni.

Na propriedade 21 houve isolamento de *Leptospira interrogans* Pomona de um *Nasua nasua* e o mesmo animal foi reagente à sorovariedade Pomona.

Na propriedade 22 houve isolamento de *Leptospira borgpetersenii* de um *Didelphis albiventris* e o mesmo indivíduo foi reagente à sorovariedade Castellonis.

Em três das 20 amostras nas quais houve isolamento de *Leptospira* spp. não se constatou reação sorológica a nenhuma das sorovariedades do agente estudadas e em outras três amostras houve discordância da MLVA com a SAM.

Somado às descrições já realizadas em relação aos achados sorológicos nas espécies *Cerdocyon thous* e *Euphractus sexcinctus* e com base na observação da tabela 31, percebe-se que houve isolamento de *Leptospira* spp. de dois animais da primeira espécie e de três indivíduos da segunda espécie.

6.5. Análise de fatores de risco

As análises univariadas dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em humanos, cães, equídeos, suínos, ovinos, caprinos e bovinos e o modelo final de regressão logística multivariada de cada espécie seguem nas tabelas de 32 a 43.

Nenhuma das associações entre ocorrência de títulos de anticorpos na espécie (variável dependente) e bioma (variável independente) foi significativa ($p > 0,05$). Isso significa que nenhum bioma específico representou um fator de risco para humanos nem para qualquer espécie doméstica estudada. Em outras palavras, viver no bioma “x” ou no bioma “y” não representou fator de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. nas espécies estudadas em cada uma das 24 propriedades rurais.

Tabela 32. Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em humanos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variável	C/E*	C/NE*	Valor de p
Cães reagentes**	14/21	2/3	1,000
Equídeos reagentes	13/20	3/4	1,000
Suínos reagentes	1/2	15/22	1,000
Ovinos reagentes	8/9	8/15	0,178
Caprinos reagentes	2/3	14/21	1,000
Bovinos reagentes	6/11	10/13	0,390
Animais selvagens reagentes	14/22	2/2	0,536
Presença de equídeos	13/20	3/4	1,000
Presença de suínos	5/9	11/15	0,412
Presença de ovinos	8/10	8/14	0,387
Presença de caprinos	2/3	14/21	1,000
Presença de bovinos	8/16	8/8	0,022
Presença de bubalinos	1/2	15/22	1,000
Presença de animais selvagens	16/24	0/0	1,000
Presença de roedores sinantrópicos***	15/22	1/2	1,000
Presença de ninhos de sinantrópicos****	15/23	1/1	1,000
Controle de roedores sinantrópicos***	0/0	16/24	1,000
Armazenamento da ração animal	0/0	16/24	1,000
Remoção do resto de alimento dos animais	0/0	16/24	1,000
Higienização das instalações	0/0	16/24	1,000
Presença de áreas alagadas	13/21	3/3	1,000
Conhecimento sobre a leptospirose	2/5	14/19	1,000

*C/E: Casos entre os Expostos; C/NE: Casos entre os Não Expostos

**Reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. pela SAM

***Ratos

****Ratos, gambás e pequenos carnívoros

Tabela 33. Resultado da regressão logística dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em humanos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variáveis	Razão de chances	IC 95%	Valor de p
Presença de bovinos	0,000	[0,000 - 10 ¹²]	0,958

Após a regressão logística, nota-se que a associação entre “humanos reagentes” e “presença de bovinos” não é significativa ($p > 0,05$), ou seja, nenhuma das variáveis mostrou-se associada à ocorrência de anticorpos contra o agente em humanos (tabelas 32 e 33).

Tabela 34. Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em cães nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variável	C/E*	C/NE*	Valor de p
Humanos reagentes**	14/16	7/8	1,000
Equídeos reagentes	19/20	2/4	0,061
Suínos reagentes	1/2	20/22	0,239
Ovinos reagentes	7/9	14/15	0,533
Caprinos reagentes	1/3	20/21	0,031
Bovinos reagentes	11/11	10/13	0,222
Animais selvagens reagentes	19/22	2/2	1,000
Presença de equídeos	19/20	2/4	0,061
Presença de suínos	8/9	13/15	1,000
Presença de ovinos	8/10	13/14	0,550
Presença de caprinos	1/3	20/21	0,031
Presença de bovinos	15/16	6/8	0,249
Presença de bubalinos	1/2	20/22	0,239
Presença de animais selvagens	21/24	0/0	1,000
Presença de roedores sinantrópicos***	20/22	1/2	0,239
Presença de ninhos de sinantrópicos****	20/23	1/1	1,000
Controle de roedores sinantrópicos***	0/0	21/24	1,000
Deslocamento para fora da propriedade	21/24	0/0	1,000
Armazenamento da ração animal	0/0	21/24	1,000
Remoção do resto de alimento dos animais	0/0	21/24	1,000
Higienização das instalações	0/0	21/24	1,000
Presença de áreas alagadas	19/21	2/3	0,249

*C/E: Casos entre os Expostos; C/NE: Casos entre os Não Expostos

**Reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. pela SAM

***Ratos

****Ratos, gambás e pequenos carnívoros

Tabela 35. Resultado da regressão logística dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em cães nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variáveis	Razão de chances	IC 95%	Valor de p
Caprinos reagentes	0,025	[0,0011 - 0,5711]	0,020
Presença de caprinos	0,025	[0,0011 - 0,5711]	0,020

Após a regressão logística, nota-se que a associação entre “cães reagentes” e “caprinos reagentes” e a associação entre “cães reagentes” e “presença de caprinos” possuem valor $p < 0,05$. Teoricamente seria uma associação significativa para a condição de fator de risco. Porém, ao observar a tabela 34, especificamente as colunas “C/E” e “C/NE” correspondentes à variável “caprinos reagentes” ou à

variável “presença de caprinos”, percebe-se que a razão do número de casos pelos expostos (1/3) é bem menor do que a razão do número de casos pelos não expostos (20/21). Então, teoricamente o valor de $p=0,020$ estaria indicando uma possível relação de proteção entre a variável dependente e a variável independente, condição que, na prática, não apresenta sentido (tabelas 34 e 35).

Nota-se, analisando atentamente a tabela 30, que as sorovariedades contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos em cães nas diferentes propriedades rurais estudadas foram Icterohaemorrhagiae, Pomona, Shermani, Grippotyphosa, Canicola, Castellonis, Andamana, Patoc, Hebdomadis, Bratislava, Australis, Javanica, Copenhageni, Hardjo e Bataviae. Com exceção da sorovariedade Hebdomadis, nenhuma outra presente nos caprinos (Panama e Pyrogenes) pertence ao mesmo sorogrupo daquelas presentes nos cães. O convívio entre essas espécies deve ser pequeno em boa parte das propriedades estudadas; sendo assim, a infecção em cães foi distinta daquela observada em caprinos provavelmente por não ter ocorrido transmissão de *Leptospira* spp. entre essas espécies.

Tabela 36. Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em equídeos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variável	C/E*	C/NE*	Valor de p
Humanos reagentes**	13/16	7/8	1,000
Cães reagentes	19/21	1/3	0,612
Suínos reagentes	1/2	19/22	0,311
Ovinos reagentes	8/9	12/15	1,000
Caprinos reagentes	2/3	18/21	0,436
Bovinos reagentes	10/11	10/13	0,596
Animais selvagens reagentes	18/22	2/2	1,000
Presença de suínos	8/9	12/15	1,000
Presença de ovinos	9/10	11/14	0,614
Presença de caprinos	2/3	18/21	0,436
Presença de bovinos	15/16	5/8	0,091
Presença de bubalinos	2/2	18/22	1,000
Presença de animais selvagens	20/24	0/0	1,000
Presença de roedores sinantrópicos***	19/22	1/2	0,311
Presença de ninhos de sinantrópicos****	19/23	1/1	1,000
Controle de roedores sinantrópicos***	0/0	20/24	1,000
Deslocamento para fora da propriedade	20/24	0/0	1,000
Armazenamento da ração animal	0/0	20/24	1,000
Remoção do resto de alimento dos animais	0/0	20/24	1,000
Higienização das instalações	0/0	20/24	1,000
Presença de áreas alagadas	18/21	2/3	0,436
Rotação de pastagem	11/13	9/11	1,000
Inseminação artificial	3/5	17/19	0,179

*C/E: Casos entre os Expostos; C/NE: Casos entre os Não Expostos

**Reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. pela SAM

***Ratos

****Ratos, gambás e pequenos carnívoros

Ao ser analisada a tabela 36, nota-se que nenhuma associação foi significativa ($p > 0,05$), ou seja, nenhuma das variáveis mostrou-se associada à frequência de anticorpos contra o agente em equídeos.

Tabela 37. Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em suínos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variável	C/E*	C/NE*	Valor de p
Humanos reagentes**	1/16	1/8	1,000
Cães reagentes	1/21	1/3	0,239
Equídeos reagentes	1/20	1/4	0,311
Ovinos reagentes	1/9	1/15	1,000
Caprinos reagentes	1/3	1/21	0,239
Bovinos reagentes	0/11	2/13	0,481
Animais selvagens reagentes	2/22	0/2	1,000
Presença de equídeos	1/20	1/4	0,311
Presença de ovinos	1/10	1/14	1,000
Presença de caprinos	1/3	1/21	0,239
Presença de bovinos	1/16	1/8	1,000
Presença de bubalinos	1/2	1/22	0,163
Presença de animais selvagens	2/24	0/0	1,000
Presença de roedores sinantrópicos***	2/22	0/2	1,000
Presença de ninhos de sinantrópicos****	2/23	0/1	1,000
Controle de roedores sinantrópicos***	0/0	2/24	1,000
Deslocamento para fora da propriedade	2/24	0/0	1,000
Armazenamento da ração animal	0/0	2/24	1,000
Remoção do resto de alimento dos animais	0/0	2/24	1,000
Higienização das instalações	0/0	2/24	1,000
Presença de áreas alagadas	2/21	0/3	1,000
Inseminação artificial	1/5	1/19	0,380

*C/E: Casos entre os Expostos; C/NE: Casos entre os Não Expostos

**Reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. pela SAM

***Ratos

****Ratos, gambás e pequenos carnívoros

Ao analisar a tabela 37, nota-se que nenhuma associação foi significativa ($p>0,05$), ou seja, nenhuma variável esteve associada ao risco de ocorrência de anticorpos contra o agente em suínos.

Tabela 38. Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em ovinos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variável	C/E*	C/NE*	Valor de p
Humanos reagentes**	8/16	1/8	0,178
Cães reagentes	7/21	2/3	0,533
Equídeos reagentes	8/12	1/4	1,000
Suínos reagentes	1/2	8/22	1,000
Caprinos reagentes	3/3	6/21	0,041
Bovinos reagentes	1/11	8/13	0,013
Animais selvagens reagentes	9/22	0/2	0,510
Presença de equídeos	8/20	1/4	1,000
Presença de suínos	2/9	7/15	0,389
Presença de caprinos	3/3	6/21	0,041
Presença de bovinos	4/16	5/8	0,099
Presença de bubalinos	2/2	7/22	0,130
Presença de animais selvagens	9/24	0/0	1,000
Presença de roedores sinantrópicos***	8/22	1/2	1,000
Presença de ninhos de sinantrópicos****	8/23	1/1	0,375
Controle de roedores sinantrópicos***	0/0	9/24	1,000
Deslocamento para fora da propriedade	9/24	0/0	1,000
Armazenamento da ração animal	0/0	9/24	1,000
Remoção do resto de alimento dos animais	0/0	9/24	1,000
Higienização das instalações	0/0	9/24	1,000
Presença de áreas alagadas	7/21	2/3	0,533
Rotação de pastagem	4/13	5/11	0,675
Inseminação artificial	2/5	7/19	1,000

*C/E: Casos entre os Expostos; C/NE: Casos entre os Não Expostos

**Reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. pela SAM

***Ratos

****Ratos, gambás e pequenos carnívoros

Tabela 39. Resultado da regressão logística dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em ovinos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variáveis	Razão de chances	IC 95%	Valor de p
Caprinos reagentes	1539577,7470	[0,000 - 10 ¹²]	0,958
Bovinos reagentes	0,000	[0,0085 - 4,7158]	0,956
Presença de caprinos	1539577,7470	[0,000 - 10 ¹²]	0,958

Após a regressão logística, nota-se que as associações entre “ovinos reagentes” e “caprinos reagentes”, entre “ovinos reagentes” e “bovinos reagentes” e entre “ovinos reagentes” e “presença de caprinos” não são significativas ($p > 0,05$) (tabelas 38 e 39).

Tabela 40. Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em caprinos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variável	C/E*	C/NE*	Valor de p
Humanos reagentes**	2/16	1/8	1,000
Cães reagentes	1/21	2/3	0,031
Equídeos reagentes	2/20	1/4	0,436
Suínos reagentes	1/2	2/22	0,239
Ovinos reagentes	3/9	0/15	0,041
Bovinos reagentes	0/11	3/13	0,222
Animais selvagens reagentes	3/22	0/2	1,000
Presença de equídeos	2/20	1/4	0,436
Presença de suínos	2/9	1/15	0,533
Presença de ovinos	3/10	0/14	0,059
Presença de bovinos	2/16	1/8	1,000
Presença de bubalinos	2/2	1/22	0,010
Presença de animais selvagens	3/24	0/0	1,000
Presença de roedores sinantrópicos***	2/22	1/2	0,239
Presença de ninhos de sinantrópicos****	3/23	0/1	1,000
Controle de roedores sinantrópicos***	0/0	3/24	1,000
Deslocamento para fora da propriedade	3/24	0/0	1,000
Armazenamento da ração animal	0/0	3/24	1,000
Remoção do resto de alimento dos animais	0/0	3/24	1,000
Higienização das instalações	0/0	3/24	1,000
Presença de áreas alagadas	1/21	2/3	0,031
Rotação de pastagem	1/13	2/11	0,576
Inseminação artificial	1/5	2/19	0,544

*C/E: Casos entre os Expostos; C/NE: Casos entre os Não Expostos

**Reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. pela SAM

***Ratos

****Ratos, gambás e pequenos carnívoros

Tabela 41. Resultado da regressão logística dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em caprinos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variáveis	Razão de chances	IC 95%	Valor de p
Cães reagentes	0,025	[0,0011 - 0,5711]	0,020
Ovinos reagentes	1917130,5727	[0,000 - 10 ¹²]	0,962
Presença de bubalinos	9843481,9893	[0,000 - 10 ¹²]	0,956

Após a regressão logística, percebe-se que a associação entre caprinos reagentes e cães reagentes possui valor $p < 0,05$. É o mesmo caso da associação entre “cães reagentes” e “caprinos reagentes” ou “presença de caprinos”. Nesse

caso, a razão do número de casos pelos expostos (1/21) também é bem menor do que a razão do número de casos pelos não expostos (20/21). Mais uma vez o valor de $p=0,020$ estaria indicando uma possível relação de proteção entre a variável dependente e a variável independente, condição que, na prática, não apresenta sentido (tabelas 40 e 41).

O convívio entre essas espécies deve ser discreto em boa parte das propriedades estudadas; dessa forma, a infecção em caprinos foi distinta daquela observada em cães provavelmente por não ter ocorrido transmissão de *Leptospira* spp. entre as duas espécies.

Tabela 42. Resultado da análise univariada dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variável	C/E*	C/NE*	Valor de p
Humanos reagentes**	6/16	5/8	0,390
Cães reagentes	11/21	0/3	0,222
Equídeos reagentes	10/20	1/4	0,596
Suíños reagentes	0/2	11/22	0,481
Ovinos reagentes	1/9	10/15	0,013
Caprinos reagentes	0/3	11/21	0,222
Animais selvagens reagentes	10/22	1/2	1,000
Presença de equídeos	10/20	1/4	0,596
Presença de suínos	5/9	6/15	0,675
Presença de ovinos	3/10	8/14	0,239
Presença de caprinos	0/3	11/21	0,222
Presença de bubalinos	0/2	11/22	0,481
Presença de animais selvagens	11/24	0/0	1,000
Presença de roedores sinantrópicos***	11/22	0/2	0,481
Presença de ninhos de sinantrópicos****	11/23	0/1	1,000
Controle de roedores sinantrópicos***	0/0	11/24	1,000
Deslocamento para fora da propriedade	11/24	0/0	1,000
Armazenamento da ração animal	0/0	11/24	1,000
Remoção do resto de alimento dos animais	0/0	11/24	1,000
Higienização das instalações	0/0	11/24	1,000
Presença de áreas alagadas	10/21	1/3	1,000
Rotação de pastagem	8/13	2/11	0,047
Inseminação artificial	3/5	8/19	0,629

*C/E: Casos entre os Expostos; C/NE: Casos entre os Não Expostos

**Reagentes a anticorpos contra *Leptospira* spp. pela SAM

***Ratos

****Ratos, gambás e pequenos carnívoros

Tabela 43. Resultado da regressão logística dos possíveis fatores de risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos nas 24 propriedades rurais estudadas no Brasil, 2011 a 2013.

Variáveis	Razão de chances	IC 95%	Valor de p
Ovinos reagentes	0,059	[0,0048 - 0,7249]	0,027
Rotação de pastagem	5,101	[0,5252 - 49,5634]	0,160

A associação entre “bovinos reagentes” e “ovinos reagentes” possui valor $p < 0,05$. Mais uma vez observa-se caso semelhante às outras duas situações antes mencionadas. A razão do número de casos pelos expostos (1/9) é bem menor do que a razão do número de casos pelos não expostos (10/15). Na prática, a possível relação de proteção entre a variável dependente e a variável independente não tem sentido (tabelas 42 e 43).

Ao ser analisada a tabela 30, as sorovariedades Hebdomadis, Australis, Canicola, Shermani e Javanica são achados sorológicos comuns entre as duas espécies. Mesmo assim, o convívio entre ovinos e bovinos deve ser bastante restrito em boa parte das propriedades estudadas e, por isso, a infecção em bovinos foi distinta daquela observada em ovinos provavelmente por não ter ocorrido transmissão de *Leptospira* spp. entre essas espécies.

É interessante observar que, no caso das variáveis “equídeos reagentes” e “presença de equídeos”, ocorrem, dentro de cada tabela, os mesmos valores para “C/E”, para “C/NE” e, conseqüentemente, para “p”. Essa coincidência existiu porque, em todas as propriedades onde havia equídeos, os equídeos foram amostrados e, ainda, todas as propriedades com presença de equídeos tiveram equídeos reagentes. Essa mesma situação ocorreu com as variáveis “caprinos reagentes” e “presença de caprinos”. Ou seja, apenas para essas espécies, onde havia a presença dos animais, havia a presença de reagentes.

Com o auxílio da regressão logística, o presente estudo constatou que nenhuma das variáveis examinadas esteve associada ao risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. nas diferentes espécies examinadas.

6.6. Tabulação das anotações do questionário

O questionário está apresentado no item Apêndices, Apêndice B.

Em todo o trabalho de campo nas pequenas propriedades rurais, houve o convívio diário com 184 pessoas das distintas faixas etárias e sexos (tabela 44).

Tabela 44. Pessoas com as quais houve convívio diário durante todo trabalho de campo nas pequenas propriedades rurais. Brasil, 2011 a 2013.

Faixa etária	Mulheres	Homens	Total
60 anos ou mais	11	13	24
16 a 60 anos	47	69	116
Até 16 anos	20	24	44
Total	78	106	184

Das 184 pessoas com as quais houve o convívio diário, 159 (86,41%) possuem algum grau de escolaridade. A Tabela 45 demonstra o nível de escolaridade de acordo com a faixa etária.

Tabela 45. Grau de escolaridade das pessoas com as quais houve convívio diário durante todo o trabalho de campo nas propriedades rurais de acordo com a faixa etária. Brasil, 2011 a 2013.

Grau de escolaridade	Faixa etária		Total
	Até 16 anos	Acima de 16 anos	
Primário	39	98	137
Fundamental	2	10	12
Médio	-	7	7
Superior	-	1	1
Técnico	-	2	2
Total	41	118	159

Das 39 pessoas com até 16 anos de idade que completaram o nível primário, 30 (76,92%) não continuaram os estudos e das duas pessoas dessa mesma faixa etária, uma continua os estudos e a outra parou de estudar ao completar o nível fundamental.

Das 118 pessoas com idade acima de 16 anos e que possuem certo nível de escolaridade, apenas três (2,54%) concluíram os estudos e se especializaram em uma profissão, sendo dois formados no nível técnico e um no nível superior. É

importante destacar que a única pessoa com nível superior completo possui mais de 60 anos. São dados descritivos que revelam a preocupante situação da educação no Brasil.

Quanto à visita de médico nas propriedades rurais, em apenas uma (4,17%) das 24 há o relato de visita mensal desse profissional. O mesmo número foi obtido em relação ao médico veterinário. Esses dados revelam o quanto as pequenas propriedades rurais brasileiras são mal assistidas por esses dois profissionais da saúde.

Quanto à presença de roedores, presença de ninhoss de roedores e de outros animais sinantrópicos e presença de animais selvagens nas propriedades e nos seus arredores, todas as 24 propriedades relataram essas ocorrências. Quanto à presença de outros animais sinantrópicos, tais como *Didelphis spp.*, *Euphractus sexcinctus*, *Nasua nasua*, houve relato da ocorrência dessas espécies em 16 (66,67%) das 24 propriedades.

Em todas as 24 propriedades houve resposta positiva em relação ao contato de animais selvagens de vida livre com animais domésticos e com humanos, e esse dado é alarmante, uma vez que animais selvagens podem ser reservatórios de agentes com potencial zoonótico para populações humanas e de animais domésticos.

Medidas sanitárias importantes como ações de antirratização, armazenamento adequado da ração animal, remoção diária dos restos de alimento fornecido aos animais e prática de quarentena não foram constatadas em nenhuma das 24 propriedades rurais. Além disso, não é feito nenhum tipo de higienização das instalações animais em 22 (91,67%) propriedades.

Quanto à prática de rotação de pastagem, seis (25%) realizam semanalmente, cinco (20,84%) fazem mensalmente e uma (4,17%) realiza apenas duas vezes ao ano. Nas demais propriedades (12 - 50%) a rotação de pastagem não é realizada.

Foi perguntado às pessoas o que elas achavam da qualidade das coleções de água em suas propriedades rurais. Em uma escala crescente de 1 a 5 foram quantificadas as avaliações em péssima, ruim, regular, boa e muito boa. Em 18 (75%) propriedades as pessoas responderam “5 - muito boa”, em 3 (12,5%) as

peças responderam “1 - péssima”, em 2 (8,34%) responderam “4 - boa”, em 1 (4,17%) responderam “3 - regular” e em nenhuma propriedade as pessoas relataram ser suas coleções de águas de qualidade ruim. É um dado descritivo que demonstra que a maior parte das pessoas acredita ser ótima a qualidade das coleções de água de suas propriedades. Todavia, em apenas três (12,5%) propriedades é feita análise microbiológica das coleções de água duas vezes ao ano. Nas outras 21 (87,5%) propriedades nunca houve nenhum tipo de análise de qualidade de água.

A tabela 46 descreve a procedência da água para consumo humano, animal e para irrigação em cada uma das 24 propriedades rurais nas quais houve trabalho de campo.

Tabela 46. Procedência da água para consumo humano, animal e para irrigação em cada uma das 24 propriedades rurais nas quais houve trabalho de campo. Brasil, 2011 a 2013.

Propriedade rural	Procedência da água para consumo
1	Lagoas e banhados
2	Poço e córrego
3	Estação municipal de tratamento e de distribuição
4	Caixa d'água rural
5	Córrego
6	Caixa d'água rural
7	Rio
8	Mina d'água
9	Mina d'água
10	Cisterna aberta
11	Rio
12	Minas d'água
13	Rio
14	Riacho
15	Rio
16	Caminhão-pipa municipal e cisterna
17	Poço artesanal e açude
18	Açude
19	Riacho
20	Minas d'água e riachos
21	Rio
22	Rio e cisterna
23	Caixa d'água rural
24	Poço e cacimba

6.7. Mapeamento

Os mapas das áreas de estudo e dos locais nos quais houve isolamento de *Leptospira* spp. estão apresentados no final do trabalho, no item Apêndices, em Apêndice A.

6.8. Problemática

6.8.1. Amostragem

Por ser um estudo realizado em pequenas propriedades rurais e sem o objetivo de trabalhar com uma espécie-alvo, o número de amostras de uma mesma espécie em cada unidade, conforme já esperado, foi bastante reduzido. Além disso, como a escolha de cada local não foi feita utilizando pré-requisitos específicos, e sim variedade de espécies domésticas e selvagens, as diferentes propriedades examinadas não tiveram sempre as mesmas espécies examinadas. Dessa forma, o presente trabalho não teve o escopo de comparar os resultados obtidos entre propriedades e biomas, mas sim de descrever a infecção e as respostas de anticorpos contra *Leptospira* spp. nas distintas regiões e nas diferentes espécies, tendo como unidade de estudo propriedades de agricultura familiar.

6.8.2. Escassez de referências

Como o trabalho foi realizado em distintas regiões do território nacional, tendo como unidades de estudo pequenas propriedades rurais e, ainda, avaliou ampla variedade de espécies, a discussão dos resultados obtidos com outros estudos da área ficou dificultada justamente pela falta de referências análogas.

Também conforme já dito, as diferentes propriedades trabalhadas não tiveram sempre as mesmas espécies, condição que não permitiu a comparação com outros estudos da área por dificilmente haver coincidência espécie-região entre os trabalhos.

Assim como já descrito, o número de animais de uma mesma espécie examinados em cada propriedade foi pequeno, o que impossibilitou uma comparação sólida com outros estudos de prevalência específicos, mesmo quando ocorreu coincidência espécie-região entre os trabalhos.

7. DISCUSSÃO

É válido comentar sobre a ampla gama de sorovariedades de *Leptospira* spp. contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos nas 24 propriedades estudadas, sendo um total de 21 sorovariedades. Das sorovariedades estudadas, somente Butembo, Cynopteri e Sentot não foram encontradas. Esses achados se devem, muito provavelmente, à enorme amplitude geográfica e à grande biodiversidade de espécies selvagens como qualidades próprias do Brasil. Além desses fatores, há, em áreas rurais, a proximidade entre animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos, condição que favorece a transmissão do agente e a infecção por ele.

Menor, porém expressiva, quantidade de sorovariedades foi encontrada por Favero et al. (2002) em animais domésticos. Títulos de anticorpos foram encontrados contra oito das 24 sorovariedades examinadas, sendo Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Copenhageni, Hardjo, Pomona, Pyrogenes, Patoc e Autumnalis.

As sorovariedades Australis, Shermani, Bratislava, Hebdomadis, Javanica, Andamana, Castellonis, Bataviae, Whiticombi, Patoc, Autumnalis e Pyrogenes foram encontradas como reagentes nas diferentes espécies nos distintos biomas e foram descritas por Girio et al. (2004), Corrêa et al. (2004), Souza-Junior et al. (2006), Corrêa (2007), Silva et al. (2010) e Ullmann et al. (2012) como frequentes em respostas sorológicas de diversas espécies selvagens. Pode-se, ainda, relacionar a ocorrência de títulos de anticorpos contra essas sorovariedades em populações humanas e de animais domésticos expostas ao contato com populações selvagens.

O presente estudo obteve isolados de *L. interrogans* sorogrupo Pomona, e resultado semelhante ao encontrado, mas em suínos, foi descrito por Miraglia et al. (2008), os quais realizaram a caracterização molecular dos isolados pela análise Multiple Locus Variable number tandem repeat (MLVA), a qual também revelou padrão semelhante ao de *L. interrogans* sorogrupo Pomona sorovar Pomona estirpe GR6 (autóctone).

Os resultados de isolamento e os obtidos por Miraglia et al. (2008), assim como de estudos sorológicos (YASUDA; SANTA ROSA; YANAGUITA, 1980; LIMA et al., 1990; ALMEIDA et al., 1994; JULIANO et al., 2000; HOMEM et al., 2001; FAVERO et al., 2002; SCHMIDT; AROSI; SANTOS, 2002; BATISTA et al., 2004; CORRÊA et al., 2004; HERRMANN et al., 2004; SOUZA-JUNIOR et al., 2006; AGUIAR et al., 2007; TOMICH et al., 2007; FIGUEIREDO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010; SILVA et al., 2010; CASTRO et al., 2011; ULLMANN et al., 2012), refletem a importância da *L. interrogans* sorogrupo Pomona para a saúde animal e para a saúde pública.

Os isolados de *L. interrogans* Canicola e *L. interrogans* Copenhageni obtidos em humanos corroboram parte dos resultados descritos por Sakata et al. (1992). Estirpes autóctones de *L. interrogans* Canicola foram isoladas por Oliveira et al. (2005), Ahmed et al. (2006), Fagundes et al. (2008), Delbem et al. (2002), Freitas et al. (2004) e por Zacarias et al. (2008), e uma estirpe autóctone de *L. interrogans* Copenhageni foi isolada por Correa et al. (2004), por Ahmed et al. (2006) e por Fagundes et al. (2008).

Além dos achados de isolamento, estudos sorológicos conduzidos por Juliano et al. (2000), Homem et al. (2001), Herrmann et al. (2004), Aguiar et al. (2007), Figueiredo et al. (2009), Silva et al. (2010), Castro et al. (2011) e também por Almeida et al. (1994), Favero et al. (2002), Corrêa et al. (2004), Tomich et al. (2007) e Ullmann et al. (2012) enfatizam a ocorrência das sorovariedades Canicola e Copenhageni em animais e humanos.

É admirável observar que, na propriedade 7, a espécie patogênica *L. interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV foi identificada nos três elos de fontes de infecção. Esses achados são de grande valia, porque comprovam a transmissão de uma mesma estirpe do agente entre as diferentes espécies que coabitam uma determinada área e chamam atenção para a participação de espécies de animais selvagens de vida livre na transmissão de leptospiros patogênicos para populações humanas e de animais domésticos.

É digno de nota que a espécie *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130 foi isolada nas três propriedades do bioma Campos Sulinos; a propriedade 4 apresentou um animal selvagem e um animal

doméstico infectados pela estirpe Fiocruz L1-130, e a propriedade 6 apresentou um animal doméstico e um humano infectado por essa mesma estirpe. Essas descobertas reforçam a afirmação de que há transmissão de uma mesma estirpe patogênica de *Leptospira* spp. entre as diferentes espécies que vivem em um mesmo local.

Pesquisas realizadas por Ko et al. (2007) e por Athanazio et al. (2008) enfatizaram a importância das infecções pela estirpe Fiocruz L1-130 ao descreverem a patogênese dela e as alterações patológicas causadas por ela.

O isolado da espécie *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae estirpe RGA de um *Myocastor coypus* reforça a condição dos roedores como reservatórios da sorovariedade Icterohaemorrhagiae, tal como citado por Corrêa (2007). Uma série de estudos sorológicos (ALMEIDA et al., 1994; JOUGLARD; BROD, 2000; JULIANO et al., 2000; FAVERO et al., 2002; SCHMIDT; AROSI; SANTOS, 2002; SOUZA-JUNIOR et al., 2006; AGUIAR et al., 2007; FIGUEIREDO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010; SILVA et al., 2010; CASTRO et al., 2011) demonstra as elevadas patogenicidade e virulência e a frequente ocorrência dessa sorovariedade em animais selvagens, animais domésticos e em humanos.

É importante comentar sobre a grande ocorrência de reações sorológicas em *Cerdocyon thous* e em *Euphractus sexcinctus*. No caso da primeira espécie, houve animais reagentes em oito dos 10 biomas estudados. Já na segunda, todos os indivíduos foram reagentes a pelo menos uma sorovariedade do agente em cinco dos 10 biomas estudados. Somado a essas colocações, houve isolamento de *Leptospira* spp. de dois animais da primeira espécie e de três indivíduos da segunda. Essas descobertas revelam uma situação alarmante principalmente a respeito dos achados sorológicos e de isolamento de *Euphractus sexcinctus*, visto que é cultural o hábito da caça e do consumo da carne desses animais nas áreas rurais em todo o território nacional. Essa realidade não ocorre com a espécie *Cerdocyon thous*, no entanto isso não torna menos importante a participação desses indivíduos na transmissão de *Leptospira* spp. para animais domésticos e seres humanos, pois esses carnívoros ocorrem em grande número e habitam todas os biomas brasileiros, sendo uma das espécies mais relatadas em propriedades rurais.

A espécie de *Leptospira* spp. de maior ocorrência no Brasil é a *L. interrogans*, assim como colocado por Hüttner, Pereira e Tanaka (2002). Todavia, cinco (25,00%) das 20 amostras isoladas em cinco espécies diferentes de animais selvagens pertencem à espécie *Leptospira borgpetersenii*, e essa é outra descoberta de enorme valor ao expor a ocorrência de outro agente etiológico da leptospirose também de elevadas patogenicidade e virulência para humanos e animais domésticos, como citado por Faine (1999).

Resultados bem sucedidos de isolamento de *L. borgpetersenii* também foram obtidos por Felix et al. (2008), sendo isolada *L. borgpetersenii* sorogrupo Ballum de camundongos.

Ainda relacionando estudos de isolamento cujos achados foram semelhantes ao do presente trabalho, Brod et al. (2005) isolaram *L. interrogans* sorovariedade Canicola amostra Moulton e *L. meyeri* amostra Bandicoot. Em pesquisa realizada há duas décadas, Sakata et al. (1992) isolaram, de humanos, estirpes de *L. interrogans* sorovariedades Copenhageni, Canicola e Castellonis. Ainda identificaram, em uma das amostras de isolado, uma estirpe pertencente ao sorogrupo Pomona.

Outras estirpes autóctones de *Leptospira* spp. foram tipificadas por Vasconcellos et al. (2001), Marvulo et al. (2002) e Ahmed et al. (2006), identificadas como sorogrupo Bataviae sorovariedade Brasiliensis estirpe NA 776 (SANTA ROSA et al., 1972), sorogrupo Sejroe sorovariedade Guaricura estirpe M4/98, sorogrupo Grippothyphosa sorovariedade Bananal estirpes 2ACAP e 21 CAP.

Houve concordância dos achados na genotipagem MLVA com os achados sorológicos na SAM em 14 dos 20 indivíduos dos quais houve isolamento de *Leptospira* spp. Esses resultados são importantes, pois elevam a validade dos dois testes e evidenciam a presença do agente etiológico infectando populações animais e humanas e induzindo respostas sorológicas. Apenas em três desses 20 indivíduos não houve reação sorológica às sorovariedades estudadas, situação que pode estar relacionada a uma infecção recente, ainda sem a presença de respostas sorológicas contra o agravo. Em outros três indivíduos houve discordância da MLVA com a SAM, o que pode revelar a ocorrência, na SAM, de reação cruzada contra outra sorovariedade do mesmo sorogrupo, podendo até ser uma sorovariedade autóctone brasileira, a qual não constou na bateria de antígenos do teste.

A maioria dos trabalhos vincula a cadeia epidemiológica da infecção por *Leptospira* spp. e da ocorrência de anticorpos contra esse agente a condições ambientais tais como chuvas e enchentes, descrevendo-a como uma zoonose sazonal. Porém esses trabalhos são, em sua grande maioria, realizados em áreas urbanas, locais onde as chuvas ocasionam inundações, expondo pessoas e animais domésticos a águas de esgoto contaminadas com urina de animais infectados. Essa situação não ocorre ou é raramente observada em áreas rurais.

As precárias práticas sanitárias, demasiadamente observadas em propriedades rurais nas diversas regiões do Brasil, tais como acúmulo de entulhos e de lixo orgânico, falta de higienização de comedouros e bebedouros dos animais, mau acondicionamento da ração e descaso com a qualidade da água, favorecem a proliferação de organismos sinantrópicos (ratos, preás) e de animais selvagens de vida livre (gambás, cachorros-do-mato, quatis, macacos-prego, tatus) nos arredores das propriedades e, assim, estreita-se o contato entre esses potenciais reservatórios de *Leptospira* spp. e as pessoas e seus animais domésticos. Embora a transmissão desse agente seja mais facilitada durante o período de chuvas, a presença de reservatórios selvagens em áreas rurais ocorre o ano todo, pelos fatores sanitários já mencionados, o que faz um ambiente de uma propriedade rural (pastos, piquetes, baias, cochos, salas de ordenha, galpões de ração, bebedouros) ser constantemente exposto a esse agente etiológico pela urina dos animais infectados, situação que torna constante a chance de infecção de um hospedeiro suscetível ao longo do ano.

Relacionando estudos em grandes centros urbanos no Município de São Paulo, ao pesquisarem a variação sazonal na prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em cães de rua, Yasuda, Santa Rosa e Yanaguita (1980) colocaram que houve influência sazonal na frequência de animais reagentes. Resultados parecidos foram obtidos por Costa et al. (2001), que constataram relação direta entre aumento da precipitação pluviométrica e aumento do número de internações hospitalares em Salvador, BA. Batista et al. (2005) também relataram a ocorrência de enchentes como fator de risco dessa enfermidade. No Município de Belo Horizonte, MG, Figueiredo et al. (2001) relataram que os principais focos da doença foram identificados nas áreas de favelas e bolsões de pobreza e observaram que

grande parte dos casos estavam localizados nas áreas com maior concentração de redes fluviais e tiveram contato com água contaminada ou animais infectados.

Mesmo em um estudo em área urbana, resultados semelhantes à observação feita na presente investigação foram encontrados por Soares et al. (2010) no Município de São Paulo, os quais descreveram que a incidência e a letalidade estão relacionadas com as condições socioeconômicas, independentemente da sazonalidade. Conclusões parecidas também foram obtidas por Oliveira et al. (2012) no Município do Rio de Janeiro. Nele, concluíram que a oscilação do número de casos não é determinada apenas pelo índice pluviométrico e que outros fatores influenciam essa dinâmica, como saneamento, fatores ambientais e sociais. Também não focando somente em problemas tais como enchentes, Barcellos e Sabroza (2001), relatando o surto de 1996 na Zona Oeste do Rio de Janeiro, colocaram que, além de regiões sujeitas a inundação, maiores taxas de incidência foram verificadas em torno de localidades de acumulação de lixo.

Da mesma maneira, Silva et al. (2010), em uma pesquisa no Campus Universitário da FCAV-Unesp, Jaboticabal, SP, relataram que houve influência sazonal na ocorrência de anticorpos, sendo o maior número de casos observado durante o período de baixo índice pluviométrico.

A elevada ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp., encontrada nas 24 propriedades estudadas - menor na Propriedade 17 (30,77%) e maior na Propriedade 13 (100%) -, a grande diversidade de sorovariedades contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos e os achados de isolamento de *L. borgpetersenii* e de *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Pomona e Canicola evidenciam a persistência desse agente infeccioso em áreas rurais nos diversos biomas brasileiros. Acrescentando, pelo fato de as leptospiros terem sido isoladas em diferentes regiões do Brasil, sob realidades distintas em termos de umidade, temperatura, topografia e hidrografia, este estudo abre uma discussão para o fato de a leptospirose nas áreas rurais ser uma zoonose cuja cadeia epidemiológica está diretamente relacionada às más práticas sanitárias, independentemente da sazonalidade.

O presente estudo constatou que nenhuma das variáveis examinadas esteve associada ao risco de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. nas diferentes

espécies estudadas. Esse resultado já era esperado, pois as atividades de campo foram realizadas em locais muito heterogêneos entre si, as espécies examinadas nem sempre foram as mesmas e, ainda, o número de animais de uma mesma espécie amostrados em uma mesma propriedade foi reduzido.

Semelhante às análises do presente trabalho, Araújo Neto et al. (2010) não encontraram variáveis associadas à ocorrência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em caprinos.

Os achados obtidos após detalhamento das anotações do questionário refletem o preocupante atraso higiênico-sanitário e, até mesmo, sociocultural das propriedades rurais estudadas nas diferentes regiões do Brasil.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A relação desarmônica com a natureza é uma cultura que o brasileiro herda. Vastas são as fontes de proteína animal encontradas no campo e, salvo em algumas áreas específicas no Brasil onde a produção não é possível, a caça deixou de ser necessária há décadas. Comércio ilegal de madeira e demais produtos vegetais, queimadas e tráfico de animais são outros modelos de atividades que apenas reafirmam que uma qualidade marcante do brasileiro é a de não valorizar a natureza.

Deve ser do consenso de todo cidadão que a preservação da fauna e da flora não é apenas importante para o ambiente. Uma ação sustentável vai muito além disso. O ambiente humanizado é prejudicial ao animal selvagem. A curto prazo, gera danos muitas vezes irreversíveis, como lesões graves ocasionadas por brigas, por acidentes em rodovias, ou por invasão de residências e de demais edificações urbanas. Anula, a médio prazo, qualquer instinto selvagem do indivíduo ou do grupo de indivíduos que sofre a ação desse meio. E, a longo prazo, gera um desequilíbrio ecológico que pode extinguir populações de várias espécies por, principalmente, alterar toda uma teia alimentar. Por outro lado, a presença de animais selvagens no ambiente humanizado é bastante prejudicial a pessoas e seus animais domésticos. Em um ambiente natural há equilíbrio nas relações entre grupos de hospedeiros e agentes microbiológicos potencialmente causadores de agravos. Uma vez que populações de hospedeiros selvagens migram para áreas rurais ou urbanas, esse equilíbrio é desfeito e os agentes entram em contato com espécies domésticas e com humanos, ocasionando, muitas vezes, um processo doença. Portanto, o contato de populações de animais selvagens com humanos e animais domésticos acarreta prejuízos para ambos os lados, e a preservação dos ecossistemas é uma atitude urgente e necessária para o bem-estar das populações.

No contexto da epidemiologia e da medicina preventiva, a sociedade ainda não fez palpável o fato de que animais selvagens de vida livre têm importante papel como reservatórios de ampla gama de agentes etiológicos, afirmação também descrita por Aguiar et al. (2007) e por Subharat (2010). Muitos agravos poderiam ser evitados se a relação humano-ambiente fosse menos estreita e mais planejada.

Ao tangenciar a área do conhecimento, percebe-se que a televisão é uma fonte comum de informação, visto que, independentemente do município, do estado ou da região, as pessoas dizem basicamente as mesmas frases sobre a leptospirose, como sendo uma enfermidade transmitida por urina de rato durante as enchentes. Isso é basicamente o que a mídia assistida insistentemente divulga durante a estação das chuvas nos grandes centros urbanos. A população sucumbe em um horizonte muito próximo devido à carência de informações novas.

Durante a aplicação de um questionário, praticamente não há relatos de pessoas com enfermidades em propriedades rurais. São muitos os fatores, sendo alguns deles o viés de recordação, o receio em se abrir a um estranho e também a falta de assistência médica, não somente para diagnosticar e controlar agravos mas também para divulgar informações relevantes para a sua prevenção.

Além da quase inexistente presença do médico nas comunidades rurais brasileiras, a figura do médico veterinário é vista apenas em fotos. Dessa forma, os rebanhos mantêm portadores sãos circulando, as pessoas carecem de boa assistência à saúde e jazem sem informações a respeito de como as boas práticas sanitárias podem melhorar a qualidade de suas vidas.

A ausência de práticas sanitárias se reflete na qualidade da água. É trivial encontrar animais mortos em coleções de água como cacimbas e cisternas, lixo nas matas ciliares, dejetos lançados diretamente em corpos d'água. Essas águas são para consumo de toda a propriedade, para animais, humanos e para as plantações.

E, ao analisar uma conjuntura mais ampla, os produtos de uma pequena propriedade rural, seja de origem vegetal, seja animal, abastecem toda uma cidade ou uma região. Hospitais recebem alimentos vindos desses campos, também por isso o insucesso na redução das taxas de incidência de agravos. Escolas utilizam matérias-primas rurais em suas merendas. Toda uma teia abastecida por um meio mantenedor de agentes causadores de muitos agravos com potencial zoonótico. Deve-se ter mais respeito. Produzir alimento é uma responsabilidade imensurável e fornecer alimento de qualidade é um compromisso de cidadão.

Todas essas colocações demonstram que os profissionais de saúde no Brasil precisam ser mais comprometidos com a atenção primária à saúde e rotineiramente aplicar ações de medicina preventiva nas comunidades rurais.

O presente trabalho foi o primeiro a estudar e descrever os aspectos epidemiológicos da infecção por *Leptospira* spp. e da ocorrência de anticorpos contra o agente em ambiente rural em todos os biomas brasileiros; foi o primeiro a obter resultados de isolamento de leptospiros patogênicos em várias localidades do território nacional e foi o primeiro a demonstrar o isolamento de uma estirpe de *Leptospira interrogans* em animal selvagem de vida livre, animal doméstico e ser humano em uma mesma propriedade rural.

9. CONCLUSÃO

Observou-se elevada frequência de reagentes contra *Leptospira* spp. nas diferentes espécies em todas as regiões e biomas brasileiros e foi observada uma ampla gama de sorovariedades do agente contra as quais foram encontrados títulos de anticorpos.

Os isolamentos de *Leptospira interrogans*, *L. interrogans* sorogrupo Pomona, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Icterohaemorrhagiae estirpe RGA, *L. interrogans* Icterohaemorrhagiae Copenhageni estirpe Fiocruz L1-130, *L. interrogans* Canicola Canicola estirpe Hond Utrecht IV e *Leptospira borgpetersenii* comprovam que ocorre infecção por estirpes de elevadas patogenicidade e virulência em animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos em áreas rurais nas distintas regiões brasileiras.

O isolamento de uma mesma estirpe de *Leptospira* spp. em diferentes espécies que vivem em uma mesma área, fato que ocorreu em três propriedades rurais, reforça a possibilidade de transmissão interespecífica do agente.

Os achados de isolamento evidenciam o importante papel de espécies selvagens de vida livre como reservatórios de leptospirosas para animais domésticos e para seres humanos, condição que serve de alerta para a necessidade de melhorias das práticas sanitárias em propriedades rurais, a fim de reduzir o risco vinculado à presença dessas fontes de infecção.

No presente estudo não foi possível constatar associação entre a ocorrência de reagentes contra *Leptospira* spp. e os fatores examinados.

Os profissionais de saúde no Brasil precisam ser mais comprometidos com a atenção primária à saúde e rotineiramente aplicar ações de medicina preventiva nas comunidades rurais, de modo que seja alcançado o sucesso no controle da leptospirose e de outras importantes zoonoses.

10. REFERÊNCIAS

- AHMED, N.; MANJULATA, D. S.; VALVERDE, M.; VIJAYACHARI, P.; MACHANG, R. S.; ELLIS, W. A.; HARTSKEERL, R. A. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, Merkes, v. 5, n. 28, p. 1-10, 2006.
- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; MARVULO, M. V. F.; SILVA, J. C. R.; PINTER, A.; MORAIS, Z.M. LABRUNA, M. B.; VASCONCELLOS, S. A.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Anti-*Leptospira* spp and anti-*Brucella* spp antibodies in humans from rural area of Monte Negro municipality, state of Rondônia, Brazilian Western Amazon. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 93-96, 2007.
- ALMEIDA, L. P.; MARTINS, L. F. S.; BROD, C. S.; GERMANO, P. M. L. Levantamento soropidemiológico de leptospirose em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental em localidade urbana da região sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 76-81, 1994.
- ALVES, C. J.; ALCINO, J. F.; FARIAS, A. E. M.; HIGINO, S. S. S.; SANTOS, F. A.; AZEVEDO, S. S.; COSTA, D. F.; SANTOS, C. S. A. B. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslanados do semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 6, p. 523-528, 2012.
- ARAÚJO NETO, J. O.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; SILVA, M. L. C. R.; BATISTA, C. S. A. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 150-155, 2010.
- ATHANAZIO, D. A.; SILVA, E. F.; SANTOS, C. S.; ROCHA, G. M.; VANNIER-SANTOS, M. A.; MCBRIDE, A. J. A.; KO, A. I.; MITERMAYER, G. R. *Rattus norvegicus* as a model for persistent colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 105, p. 176-180, 2008.
- 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. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1283-1292, 2003.
- BARCELLOS, C.; SABROZA, P. C. The place behind the case: leptospirosis risks and associated environmental conditions in a flood-related outbreak in Rio de Janeiro. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 59-67, 2001.

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, supl. 2, p. 179-185, 2005.

BATISTA, C. S. A.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; CLEMENTINO, I. J.; ALVES, F. A. L.; LIMA, F. S.; ARAÚJO NETO, J. O. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 2, p. 131-136, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso**. 8.ed. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, 2010. p. 274-282.

BROD, C. S.; ALEIXO, J. A. G.; JOUGLARD, S. D. D.; FERNANDES, C. P. H.; TEIXEIRA, J. L. R.; DELLAGOSTIN, O. A. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito sorológico. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 294-300, 2005.

CASTRO, J. R.; SALABERRY, S. R. S.; SOUZA, M. A.; LIMA-RIBEIRO, A. M. C. Sorovares de *Leptospira* spp. predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 2, p. 217-222, 2011.

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

CORRÊA, S. H. R. Leptospirose. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária**. Primeira Edição São Paulo: Roca, 2007. p. 736-741.

COSTA, E.; COSTA, Y. A.; LOPES, A. A.; SACRAMENTO, E.; BINA, J. C. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 261-267, 2001.

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.

DELBEM, A. C. B.; FREITAS, J. C.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; MÜLLER, E. E.; OLIVEIRA, R. C. Leptospirosis in slaughtered sows: Serological and

histopathological investigation. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, p. 174-177, 2002.

DORJEE, S.; HEUER, C.; JACKSON, R.; WEST, D.; COLLINS-EMERSON, J. M.; MIDWINTER, A. C.; RIDLER, A. L. Prevalence of pathogenic *Leptospira* spp. in sheep in a sheep-only abattoir in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, Palmerston North, v. 56, p. 164-170, 2008.

DORJEE, S.; HEUER, C.; JACKSON, R.; WEST, D. M.; COLLINS-EMERSON, J. M.; MIDWINTER, A. C.; RIDLER, A. L. Assessment of occupational exposure to leptospirosis in a sheep-only abattoir. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 139, p. 797-806, 2011.

ELLIS, W. A. Bovine leptospirosis: Serological findings in aborting cows. **The Veterinary Record**, London, v. 110, p. 178-180, 1982.

FAGUNDES, M. Q.; SEIXAS, F. K.; HARTWIG, D.; SILVA, E.; GRASSMANN, A. A.; DELLAGOSTIN, O. A. Tipificação de isolados de *Leptospira* pela análise de VNTR (número variável de repetições em tandem) através da eletroforese capilar. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 27, 2008, Pelotas, RS. **Anais 27º Congresso de Iniciação Científica**, Pelotas, RS, 2008.

FAINE, S. **Leptospira and Leptospirosis**. 2nd.ed. Melbourne: MedSci, 1999. 272p.

FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA-NETO, J. S. Sorovares de leptospiros predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.

FELIX, S. R.; SILVA, E. F.; CERQUEIRA, G. M.; SEIXAS, F. K.; GALLINA, T.; HARTMANN, D. M.; DELLAGOSTIN, O. A. Quatro estirpes de *Leptospira borgpetersenii* isoladas de camundongos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35., 2008, Gramado. **Anais do 35º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Gramado, 2008. p. 738-742.

FIGUEIREDO, C. M.; MOURÃO, A. C.; OLIVEIRA, M. A. A.; ALVES, W. R.; OOTEMAN, M. C.; CHAMONE, C. B.; KOURY, M. C. Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 331-338, 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.

FREITAS, J. C.; SILVA, F. G.; OLIVEIRA, R. C.; DELBEM, A. C. B.; MÜLLER, E. E.; ALVES, L. A.; TELES, P. S. Isolation of *Leptospira* spp from dogs, bovine and swine naturally infected. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 853-856, 2004.

GIORGI, W. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 47, p. 47-53, 1981.

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

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. **Ciência 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.

HÜTTNER, M. D.; PEREIRA, H. C. P.; TANAKA, R. M. Pneumonia por leptospirose. **Jornal de Pneumologia**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 229-232, 2002.

JOUGLARD, S. D. D.; BROD, C. S. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural do Município de Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 181-185, 2000.

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 na microrregião de Goiânia, GO. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 857-862, 2000.

KO, A. I.; FARIA, M. T.; ATHANAZIO, D. A.; RAMOS, E. A. G.; SILVA, E. F.; REIS, M. G. Morphological alterations in the kidney of rats with natural and experimental *Leptospira* infection. **Journal of Comparative Pathology**, Liverpool, v. 137, p. 231-238, 2007.

KO, A. I.; REIS, M. G.; DOURADO, C. M. R.; JOHNSON JR, W. D.; RILEY, L. W. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. **The Lancet**, London, v. 354, p. 820-825, 1999.

LIMA, S. C. SAKATA, E. E.; SANTO, C. E. R.; YASUDA, P. H.; STILIANO, S. V.; RIBEIRO, F. A. Surto de leptospirose humana por atividade recreacional no Município de São José dos Campos, São Paulo: estudo soroepidemiológico. **Revista**

do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 474-479, 1990.

MACHRY, L.; RIBEIRO, R. L.; VITAL-BRAZIL, J. M.; BALASSIANO, I. T.; OLIVEIRA, I. C. M.; AVELAR, K. E. S.; PEREIRA, M. M. Caracterização de estirpes de referência de *Leptospira spp.* utilizando a técnica de *pulsed field gel electrophoresis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 2, p. 166-169, 2010.

MAJED, Z.; BELLENGER, E.; POSTIC, D.; POURCEL, C.; BARANTON, G.; PICARDEAU, M. Identification of variable-number tandem-repeat loci in *Leptospira interrogans* sensu stricto. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 43, p. 539-545, 2005.

MARVULO, M. F. V.; PAULA, C. D.; FERREIRA, P. M.; MORAIS, Z. M.; DELBEM, A. C. B.; FAVERO, A. C. M.; MIRAGLIA, F.; CASTRO, V.; GENOVEZ, M. E.; FERRAZ, E.; PENTEADO, M.; FERREIRA NETO, J. S.; FERREIRA, F.; VASCONCELLOS S. A. Detection of *Leptospira* in two free living populations of capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) from São Paulo State, Brazil. **International Leptospirosis Society**, Bridgetown, p.62, 2002.

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

MIRAGLIA, F.; MORENO, A. M.; GOMES, C. R.; PAIXÃO, R.; LIUSON, E.; MORAIS, Z. M.; MAIORKA, P.; SEIXAS, F. K.; DELLAGOSTIN, O. A.; VASCONCELLOS, S. A. Isolamento e caracterização de *Leptospira interrogans* de suínos abatidos no Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 501-507, 2008.

OLIVEIRA, R. C.; FREITAS, J. C.; SILVA, F. G.; SOUZA, E. M.; DELBEM, A. C. B.; ALVES, L. A.; MÜLLER, E. E.; BALARIM, M. S.; REIS, A. C. F.; BATISTA, T. N.; VASCONCELLOS, S. A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose em um cão utilizando diferentes técnicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 111-113, 2005.

OLIVEIRA, F. C. S.; AZEVEDO, S. S.; PINHEIRO, S. R.; BATISTA, C. S. A.; MORAIS, 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.

OLIVEIRA, T. V. S.; MARINHO, D. P.; COSTA NETO, C.; KLIGERMAN, D. C. Variáveis climáticas, condições de vida e saúde da população: a leptospirose no município do Rio de Janeiro de 1996 a 2009. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 6, p. 1569-1576, 2012.

PAVAN, M. E.; CAIRÓ, F.; PETTINARI, M. J.; SAMARTINO, L.; BRIHUEGA, B. Genotyping of *Leptospira interrogans* strains from Argentina by Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis (MLVA). **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Davis, v. 34, p. 135-141, 2011.

ROMERO, E. C.; BERNARDO, C. C. M.; YASUDA, P. H. Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 45, n.5, p. 245-248, 2003.

SAKATA, E. E.; YADUDA, P. H.; ROMERO, E. C.; SILVA, M. V., LOMAR, A. V. Sorovares de *Leptospira interrogans* isolados de casos de leptospirose humana em São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 217-221, 1992.

SALAÜN, L.; MÉRIEN, F.; GURIANOVA, S.; BARANTON, G.; PICARDEAU, M. Application of Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis for Molecular Typing of the Agent of Leptospirosis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 44, p. 3954-3962, 2006.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. 3.ed., Belo Horizonte: FEP-MVZ, 2007. 264 p.

VASCONCELLOS, S. A.; OLIVEIRA, J. C. F.; MORAIS, Z. M.; BARUSELLI, P. S.; AMARAL, R.; PINHEIRO, S. R.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; SCHOUBERG, A.; HARTSKEERL, R. A. Isolation of *Leptospira santarosai*, serovar Guaricura from buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, p. 298-300, 2001.

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; CASTRO, A. F. P. A new Leptospiral Serotype in the Bataviae Group Isolated in São Paulo, Brazil. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 33, n. 8, p. 1719-1721, 1972.

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.

SCHMIDT, V.; AROSI, A.; SANTOS, A. R. Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 609-612, 2002.

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 Veterinaria**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-25, 2010.

SILVA, F. J.; CONCEIÇÃO, W. L. F.; FAGLIARI, J. J.; GIRIO, R. J. S.; DIAS, R. A.; BORBA, M. R.; MATHIAS, L. A. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32 n. 4, p. 303-312, 2012.

SOARES, T. S. M.; LATORRE, M. R. D. O.; LAPORTA, G. Z.; BUZZAR, M. R. Análise espacial e sazonal da leptospirose no município de São Paulo, SP, 1998 a 2006. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 283-291, 2010.

SOUZA-JÚNIOR, 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, 2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 3, p. 292-294, 2006.

SUBHARAT, S. **Epidemiology, Diagnosis and Vaccination Control of Leptospirosis in Farmed Deer in New Zealand**. 2010. 271p. Thesis (Doctor of Philosophy in Veterinary Clinical Science), Massey University Palmerston North, New Zealand.

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

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA 5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, Oxford, v. 28, p. 2731-2739, 2011.

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

THRUSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**. 3 ed. Blackwell Publishing, Oxford, 2010. 610 p.

TOMA, B.; DUFOUR, B.; SANAA, M.; BÉNET, J. J.; MOUTOU, F.; LOUZÃ, A.; ELLIS, P. **Applied Veterinary Epidemiology and Control of Disease in Populations**. 2nded., Cedex: N.E.V.A., 1999. p. 136-143.

TOMICH, R. G. P.; BOMFIM, M. R. Q.; KOURY, M. C.; PELLEGRIN, A. O.; PELLEGRIN, L. A.; KO, A. I.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F. Leptospirosis serosurvey in bovines from Brazilian Pantanal using IGG ELISA with recombinant protein LipL32 and microscopic agglutination test. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 674-680, 2007.

ULLMANN, L. S.; RAMIRO-NETO, N. D.; TEIXEIRA, R. H. F.; NUNES, A. V.; SILVA, R. S.; PEREIRA-RICHINI, V. B.; LANGONI, H. Epidemiology of leptospirosis at

Sorocaba Zoo, São Paulo state, Southeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 11, p. 1174-1178, 2012.

YASUDA, P. H.; SANTA ROSA, C. A.; YANAGUITA, R. M. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 589-596, 1980.

ZACARIAS, F. G. S.; VASCONCELLOS, S. A.; ANZAI, E. K.; GIRALDI, N.; FREITAS, J. C.; HARTSKEERL, R. Isolation of leptospira serovars Canicola and Copenhageni from cattle urine in the state of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 484-488, 2008.

APÊNDICES

Apêndice A. Mapas



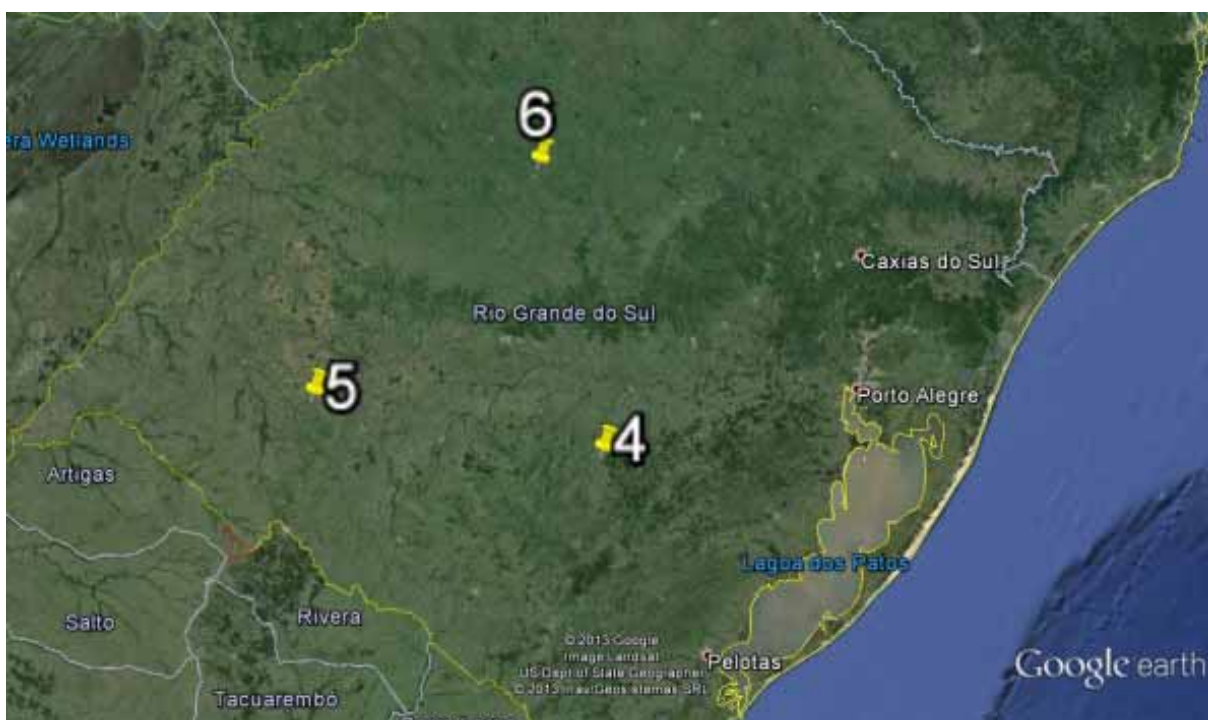
Coordenadas: 1=33°20'47.98"S 53°18'6.81"E; 2=18°57'22.32"S,39°56'51.93"E; 3=2°36'31.89"S 44°16'4.24"E;
 4=30°29'6.13"S,53°8'44.15"E; 5=30°4'41.90"S,55°18'57.53"E; 6=28°36'37.54"S,53°35'16.84"E; 7=28°
 1'58.85"S,49°27'39.24"E; 8=24°32'35.57"S,48°4'8.18"E; 9=15°48'56.10"S,41°12'4.70"E; 10=19°0'54.85"S,47°59'35.75"E;
 11=13°50'45.02"S,47°37'9.70"E; 12=15°25'49.11"S,55°38'50.56"E; 13=19°34'36.60"S,57°1'9.02"E;
 14=17°12'55.82"S,54°58'58.18"E; 15=16°44'34.67"S,56°51'56.77"E; 16=9°35'39.68"S,40°48'50.70"E;
 17=8°52'42.54"S,36°26'9.42"E; 18=3°47'52.20"S,40°31'48.82"E; 19=11°17'35.46"S,58°38'26.68"E;
 20=6°3'4.40"S,49°44'1.05"E; 21=1°43'30.86"S,46°12'30.71"E; 22=14°37'40.09"S,44°14'1.71"E;
 23=13°36'14.81"S,54°52'53.27"E; 24=4°37'6.16"S,44°36'3.78"E.

Figura 1A. Mapa do Brasil com as indicações numéricas e com as coordenadas das 24 propriedades rurais nas quais foram realizadas atividades de campo. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 1=33°20'47.98"S 53°18'6.81"O; 2=18°57'22.32"S,39°56'51.93"O; 3=2°36'31.89"S 44°16'4.24"O.

Figura 2A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das três propriedades rurais estudadas no bioma Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 4=30°29'6.13"S,53°8'44.15"O; 5=30°4'41.90"S,55°18'57.53"O; 6=28°36'37.54"S,53°35'16.84"O.

Figura 3A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das três propriedades rurais estudadas no bioma Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 7=28° 1'58.85"S,49°27'39.24"O; 8=24°32'35.57"S,48°4'8.18"O; 9=15°48'56.10"S,41°12'4.70"O.

Figura 4A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das três propriedades rurais estudadas no bioma Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 10=19°0'54.85"S,47°59'35.75"O; 11=13°50'45.02"S,47°37'9.70"O; 12=15°25'49.11"S,55°38'50.56"O.

Figura 5A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das três propriedades rurais estudadas no bioma Cerrado. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



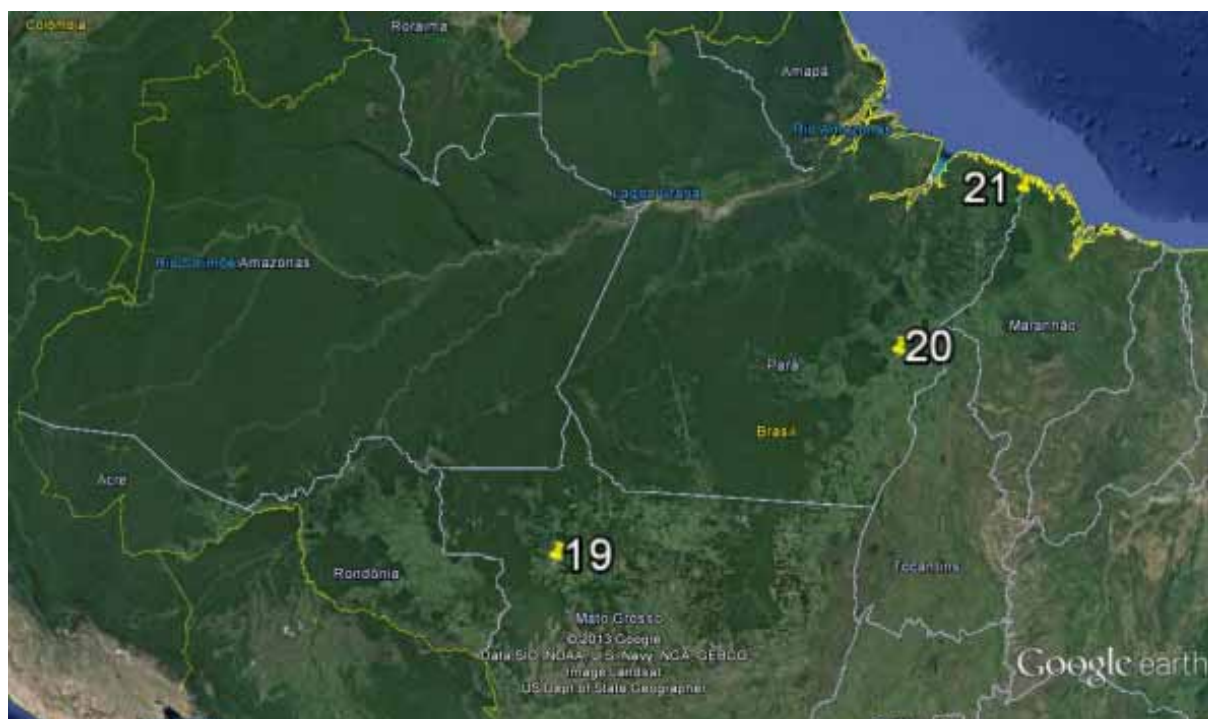
Coordenadas: 13=19°34'36.60"S,57°1'9.02"O;14=17°12'55.82"S,54°58'58.18"O;
15=16°44'34.67"S,56°51'56.77"O.

Figura 6A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das três propriedades rurais estudadas no bioma Pantanal. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 16=9°35'39.68"S,40°48'50.70"O; 17=8°52'42.54"S,36°26'9.42"O; 18=3°47'52.20"S,40°31'48.82"O.

Figura 7A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das três propriedades rurais estudadas no bioma Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



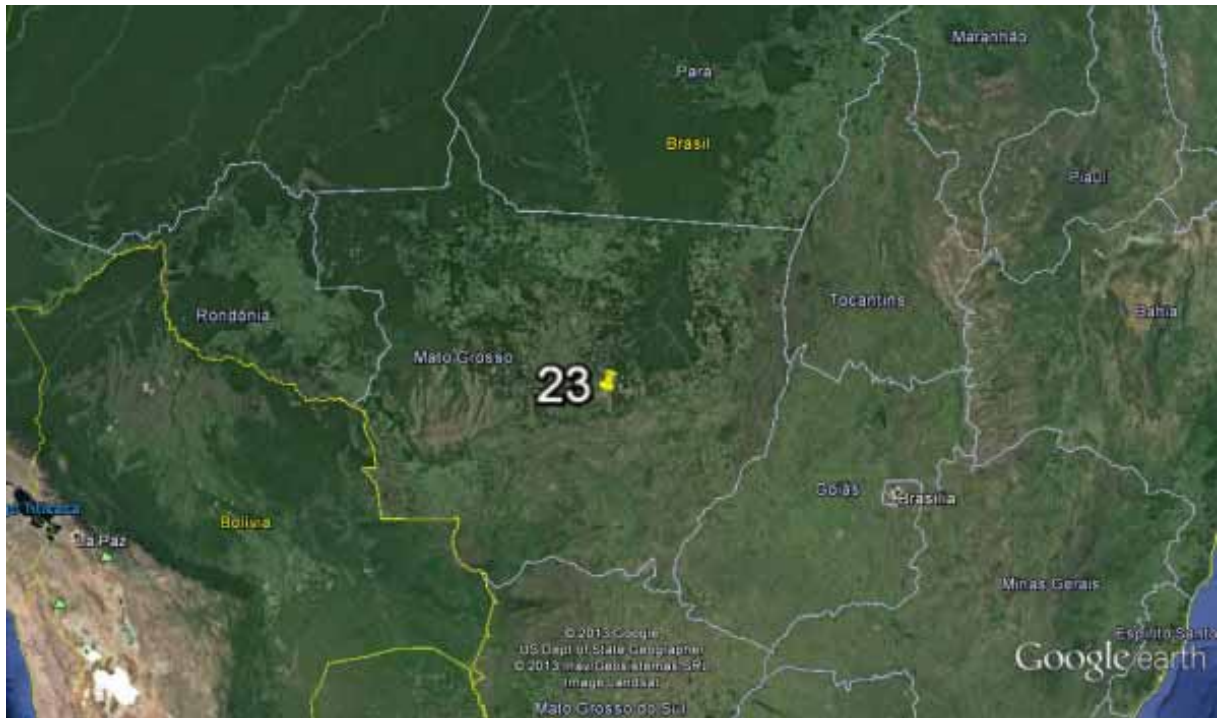
Coordenadas: 19=11°17'35.46"S,58°38'26.68"O; 20=6°3'4.40"S,49°44'1.05"O; 21=1°43'30.86"S,46°12'30.71"O.

Figura 8A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das três propriedades rurais estudadas no bioma Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 14°37'40.09"S,44°14'1.71"O.

Figura 9A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da propriedade rural estudada no bioma de transição Cerrado-Caatinga. Brasil, 2011 a 2013.



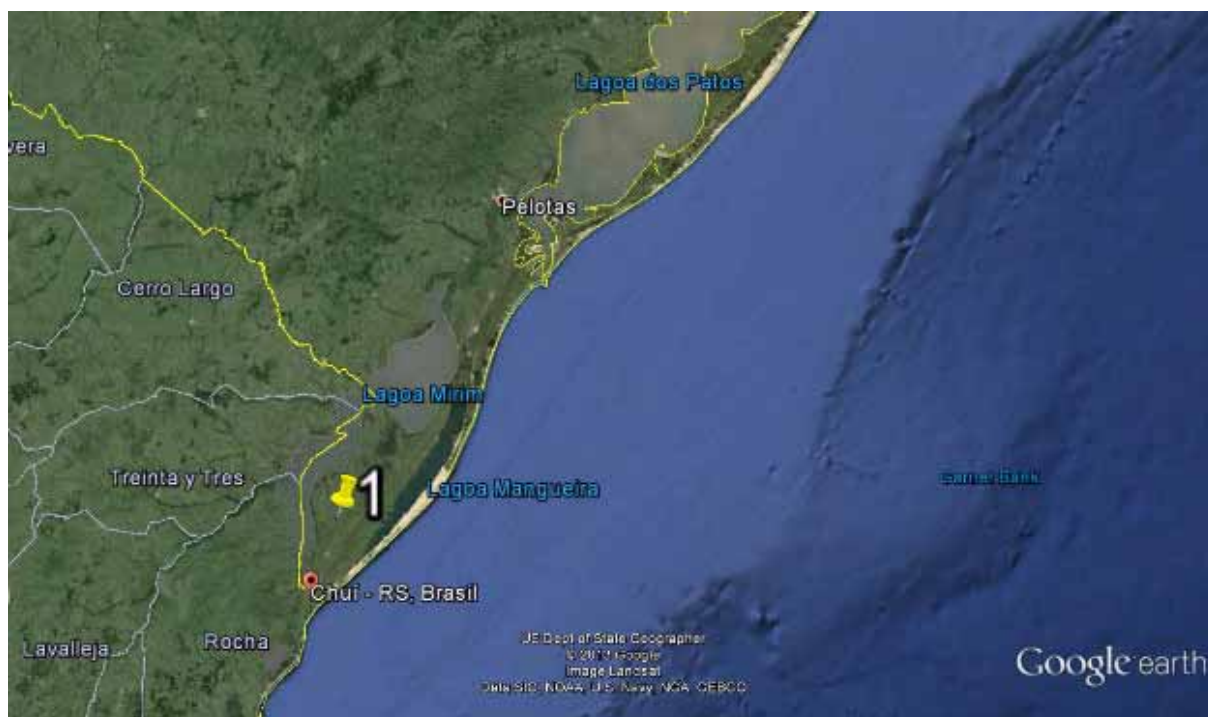
Coordenadas: 13°36'14.81"S, 54°52'53.27"O.

Figura 10A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da propriedade rural estudada no bioma de transição Cerrado-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



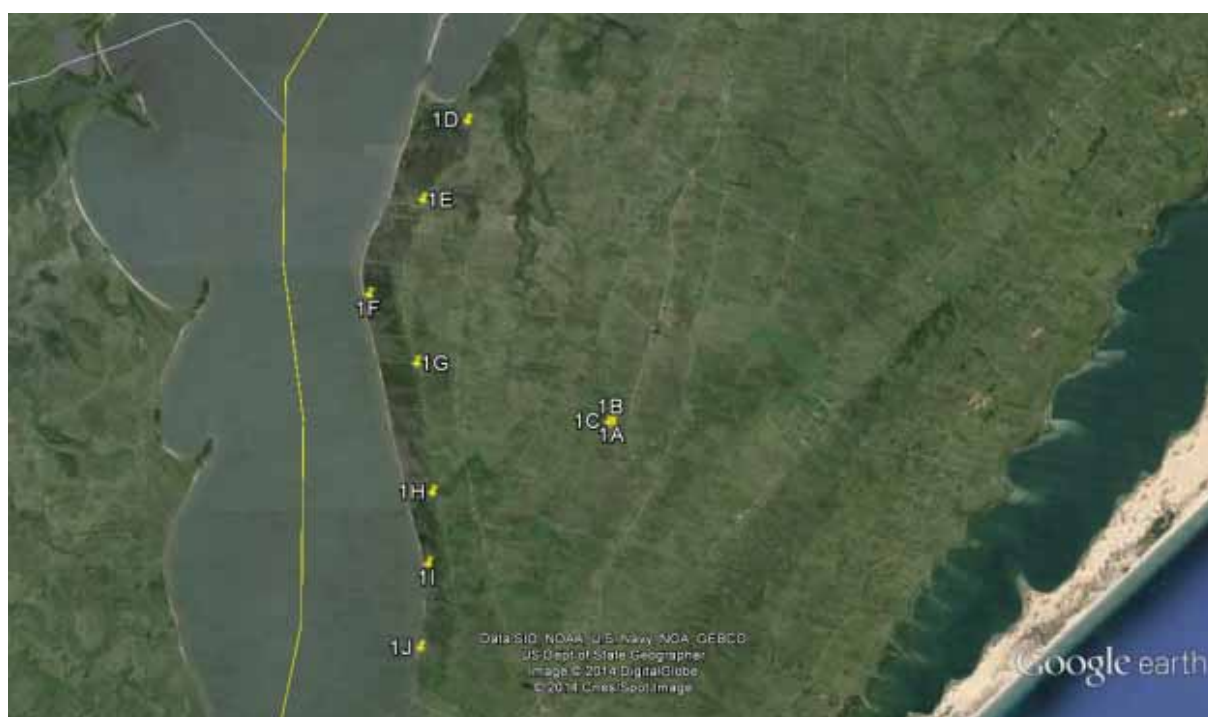
Coordenadas: 4°37'6.16"S, 44°36'3.78"O.

Figura 11A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da propriedade rural estudada no bioma de transição Caatinga-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



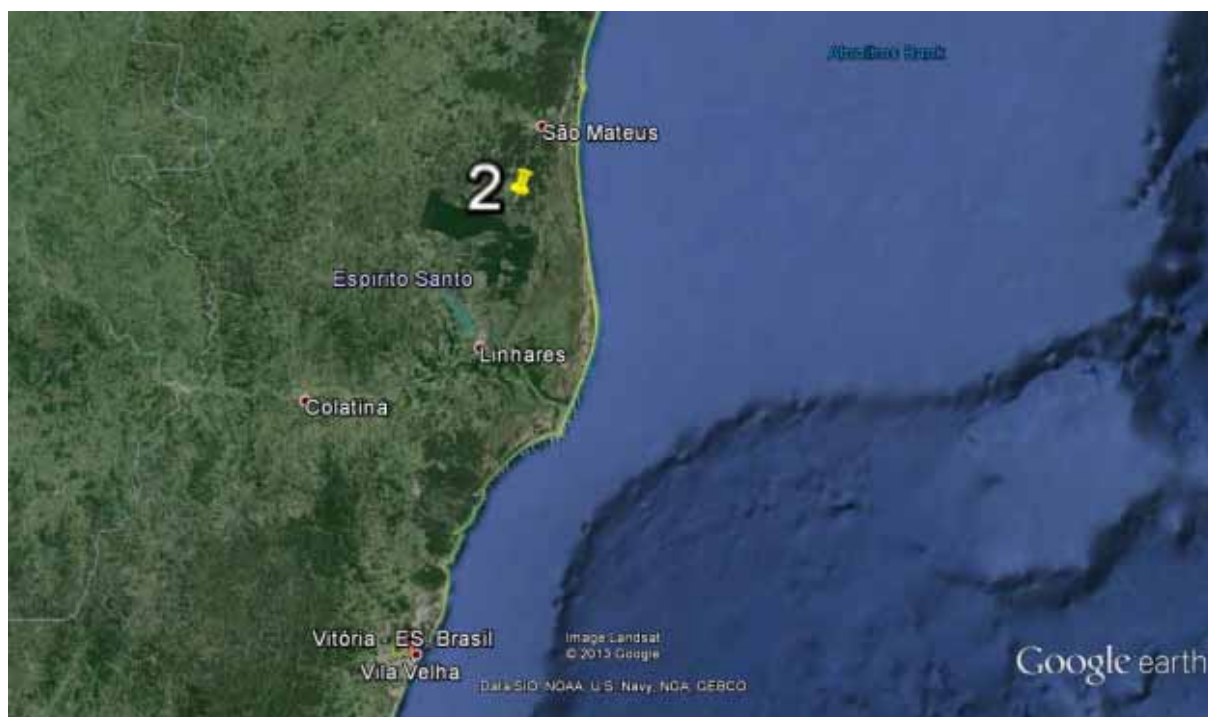
Coordenadas: 33°20'47.98"S 53°18'6.81"O.

Figura 12A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 1, Chuí, RS, Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



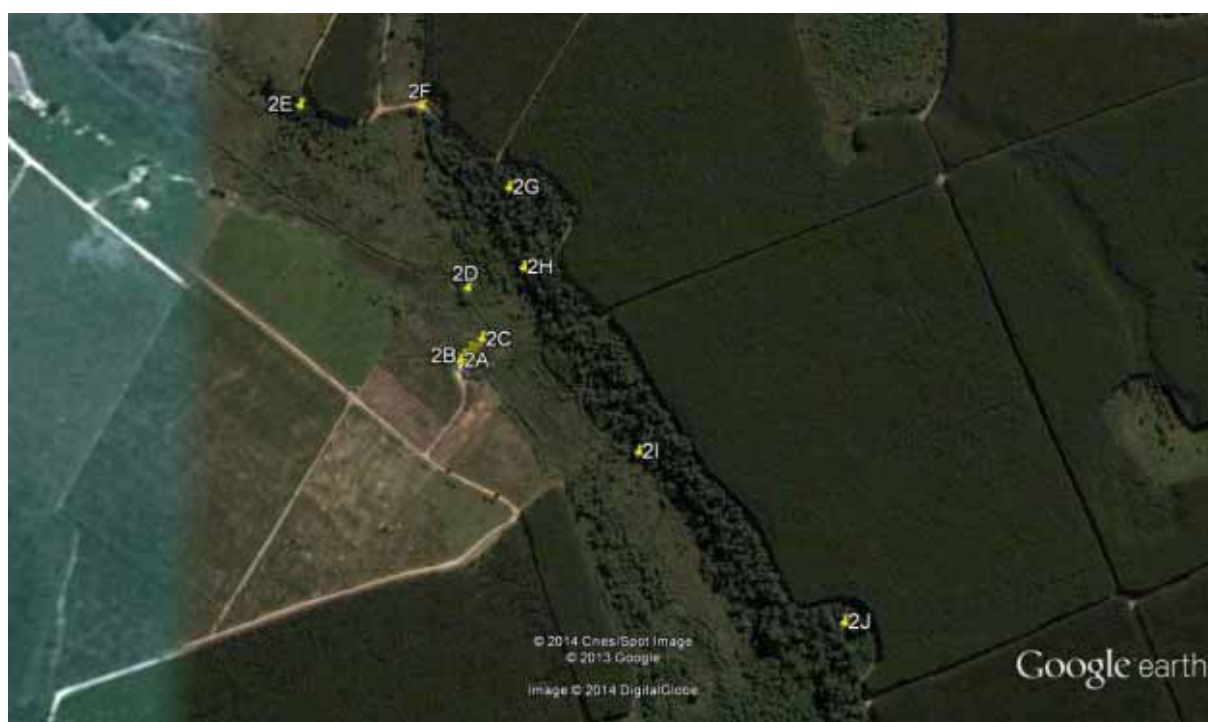
Coordenadas: A=33°20'45.84"S,53°18'7.74"O; B=33°20'46.86"S,53°18'9.00"O; C=33°20'48.34"S,53°18'16.94"O;
D=33°10'42.16"S,53°24'0.74"O; E= 33°13'21.43"S,53°25'46.86"O; F=33°16'33.51"S,53°27'55.12"O;
G=33°18'51.04"S,53°25'59.90"O; H=33°23'11.61"S,53°25'20.51"O; I=33°25'35.67"S,53°25'29.88"O;
J=33°28'24.57"S,53°25'47.35"O.

Figura 13A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 1, Chuí, RS, Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



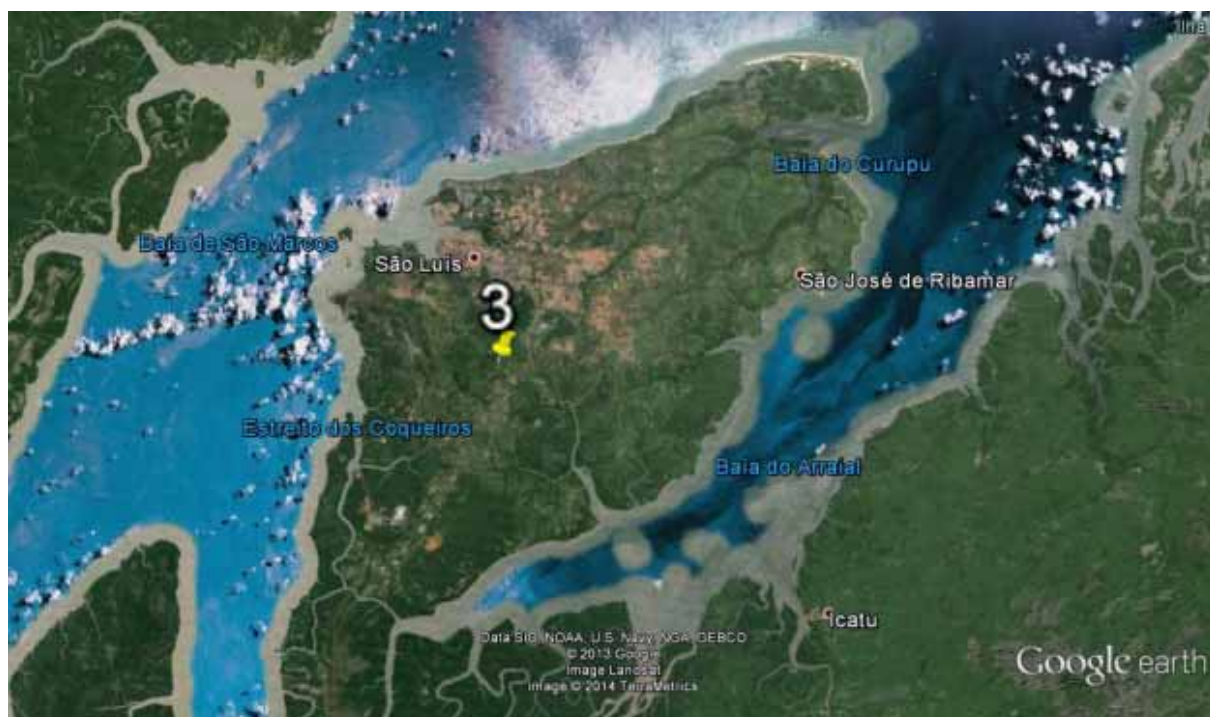
Coordenadas: 18°57'22.32"S, 39°56'51.93"O.

Figura 14A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 2, São Mateus, ES, Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=18°57'21.96"S, 39°56'52.26"O; B=18°57'21.74"S, 39°56'52.08"O; C=18°57'20.89"S, 39°56'51.17"O;
D=18°57'18.45"S, 39°56'51.89"O; E=18°57'9.47"S, 39°57'0.45"O; F=18°57'9.60"S, 39°56'54.24"O;
G=18°57'13.75"S, 39°56'49.75"O; H=18°57'17.57"S, 39°56'49.06"O; I=18°57'26.34"S, 39°56'43.42"O;
J=18°57'34.15"S, 39°56'33.69"O.

Figura 15A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 2, São Mateus, ES, Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



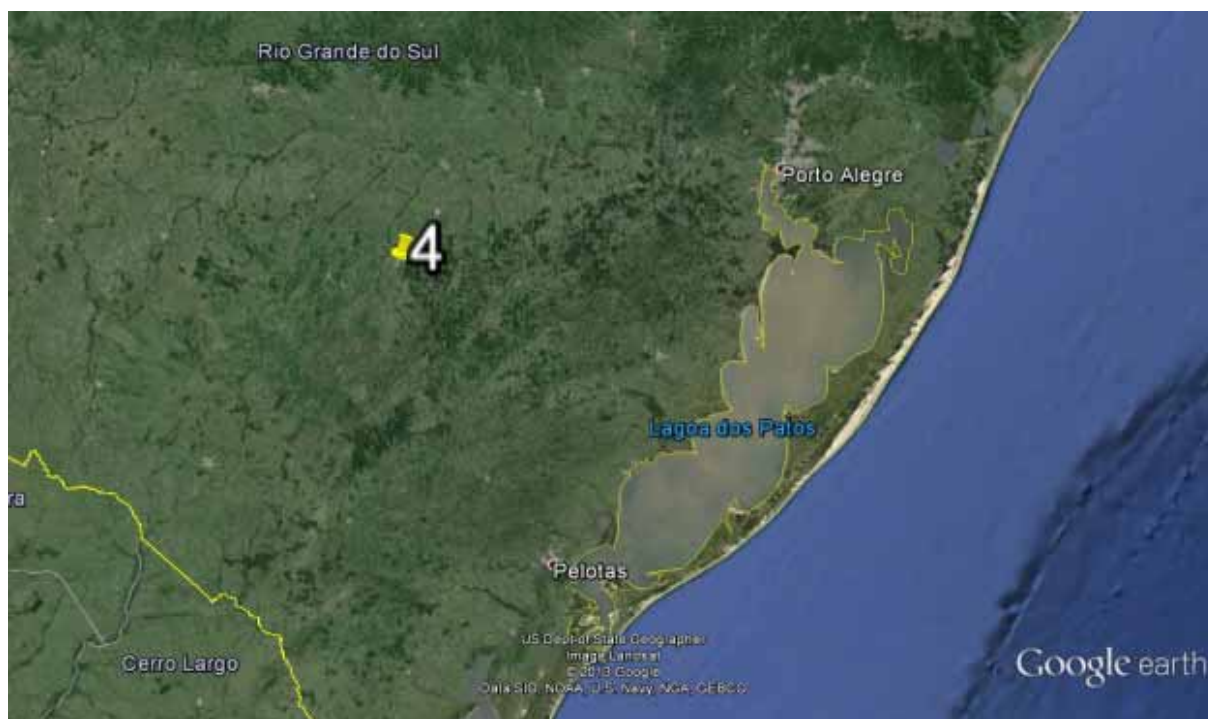
Coordenadas: 2°36'31.89"S 44°16'4.24"O.

Figura 16A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 3, São Luís, MA, Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



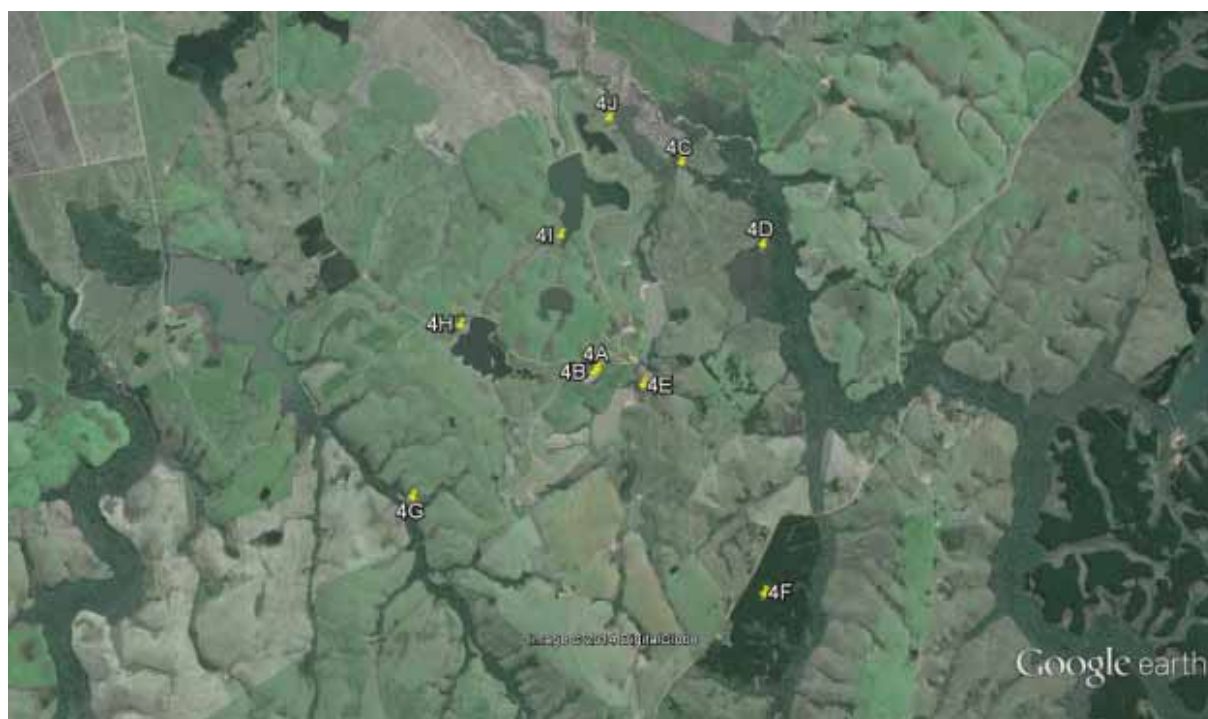
Coordenadas: A=2°36'37.59"S,44°16'8.22"O; B=2°36'42.44"S,44°16'14.84"O; C=2°36'43.94"S,44°16'15.85"O;
D=2°36'50.37"S,44°16'20.00"O; E=2°36'52.47"S,44°16'22.39"O; F=2°36'52.87"S,44°16'23.60"O;
G=2°36'48.73"S,44°16'41.41"O; H=2°36'25.87"S,44°16'20.77"O; I=2°36'27.41"S,44°16'19.62"O; J=2°36'29.05"S,44°16'15.60"O.

Figura 17A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 3, São Luís, MA, Zona Costeira. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 30°29'6.13"S, 53°8'44.15"O.

Figura 18A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 4, Santana da Boa Vista, RS, Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



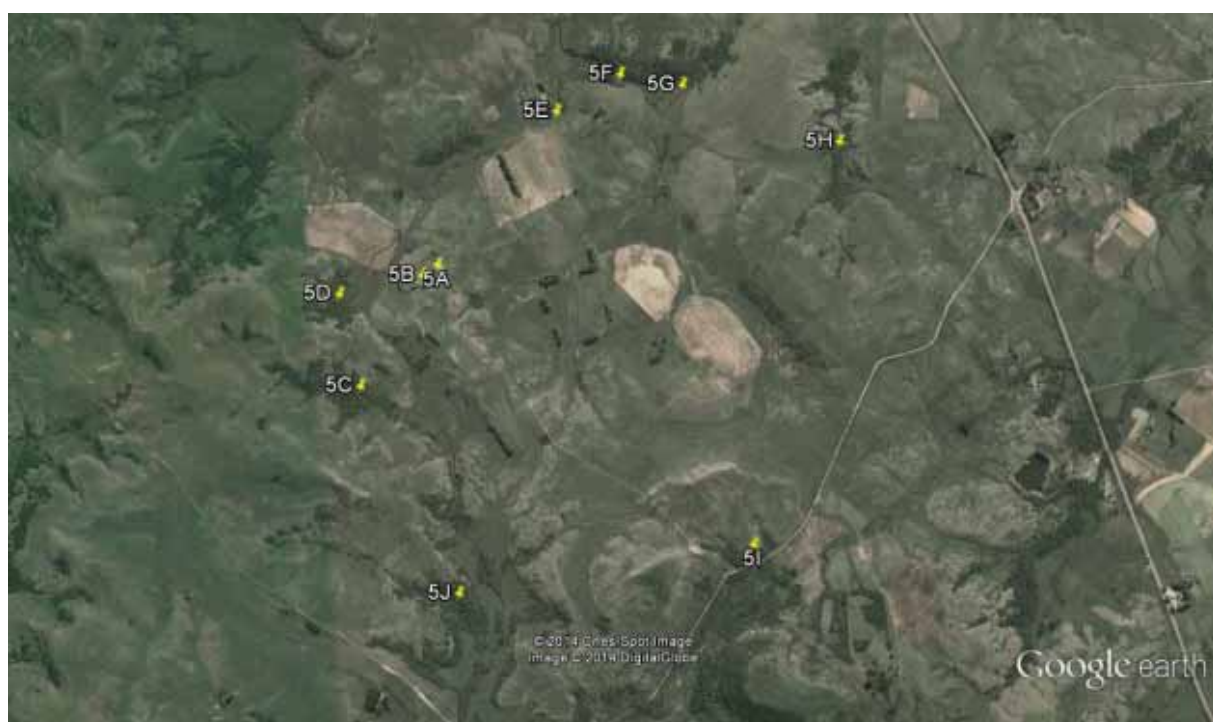
Coordenadas: A=30°29'7.07"S, 53°8'44.89"O; B=30°29'8.01"S, 53°8'46.06"O; C=30°28'9.85"S, 53°8'18.17"O; D=30°28'32.74"S, 53°7'52.47"O; E=30°29'11.38"S, 53°8'30.54"O; F=30°30'6.85"S, 53°7'53.52"O; G=30°29'41.47"S, 53°9'42.60"O; H=30°28'55.14"S, 53°9'28.08"O; I=30°28'30.30"S, 53°8'56.63"O; J=30°27'57.36"S, 53°8'41.25"O.

Figura 19A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 4, Santana da Boa Vista, RS, Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 30° 4'41.90"S, 55° 18'57.53"O.

Figura 20A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 5, Alegrete, RS, Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



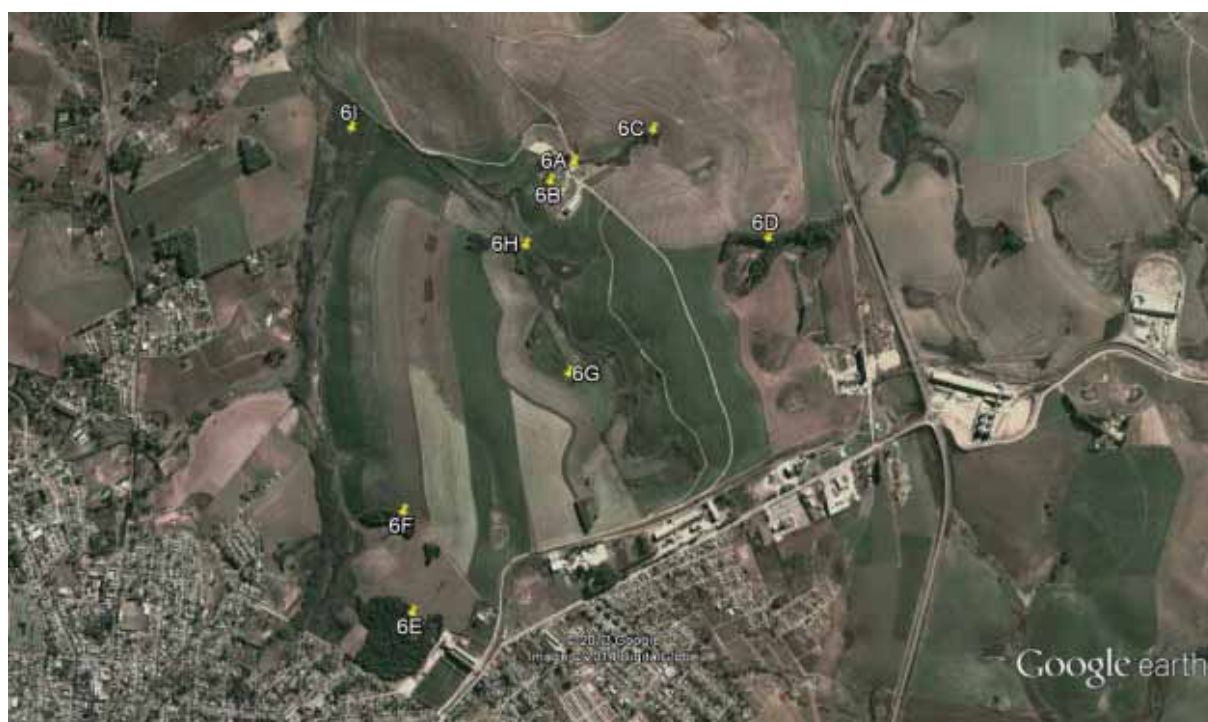
Coordenadas: A=30° 4'42.92"S, 55° 18'58.41"O; B=30° 4'44.60"S, 55° 19'1.31"O; C=30° 5'2.74"S, 55° 19'12.84"O; D=30° 4'47.71"S, 55° 19'16.86"O; E=30° 4'17.46"S, 55° 18'36.00"O; F=30° 4'11.29"S, 55° 18'23.88"O; G=30° 4'12.99"S, 55° 18'12.02"O; H=30° 4'22.39"S, 55° 17'42.12"O; I=30° 5'28.57"S, 55° 17'58.41"O; J=30° 5'36.85"S, 55° 18'54.38"O.

Figura 21A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 5, Alegrete, RS, Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



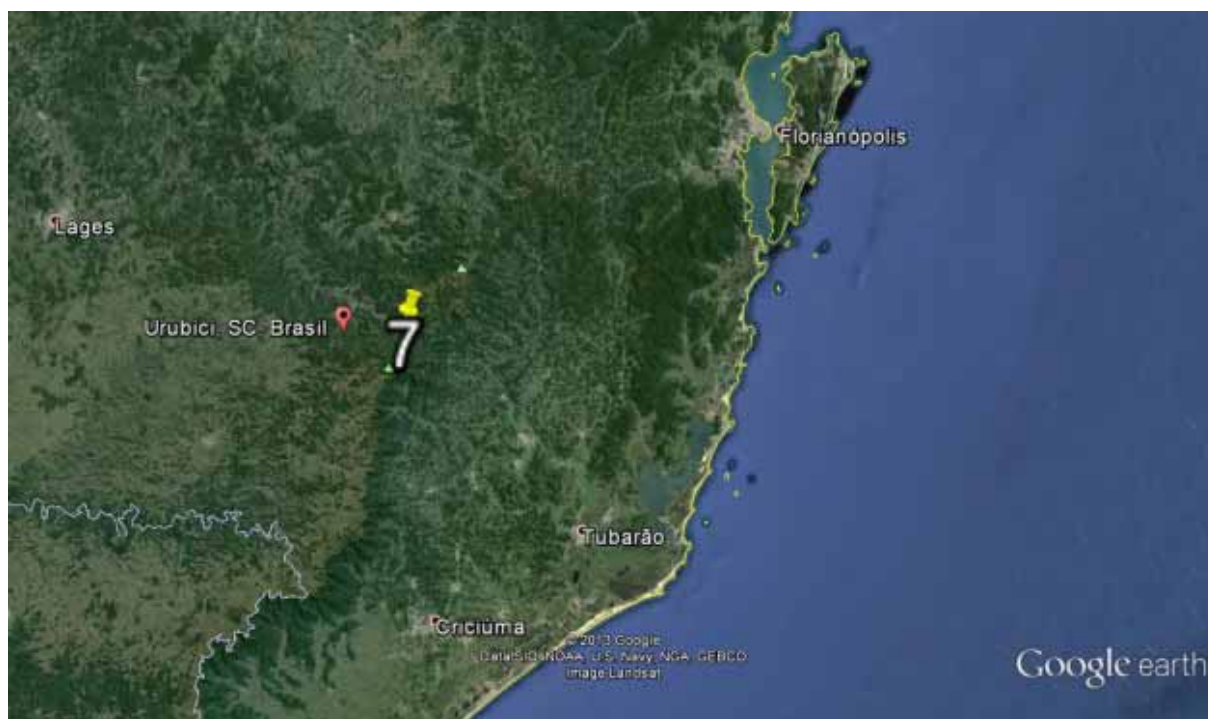
Coordenadas: 28°36'37.54"S, 53°35'16.84"O.

Figura 22A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 6, Cruz Alta, RS, Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=28°36'37.04"S, 53°35'19.25"O; B=28°36'40.08"S, 53°35'22.82"O; C=28°36'31.36"S, 53°35'7.10"O; D=28°36'44.83"S, 53°34'46.74"O; E=28°37'43.14"S, 53°35'37.45"O; F=28°37'29.07"S, 53°35'40.72"O; G=28°37'6.98"S, 53°35'16.43"O; H=28°36'49.48"S, 53°35'25.67"O; I=28°36'35.40"S, 53°35'56.07"O; J=28°36'2.62"S, 53°35'22.88"O.

Figura 23A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 6, Cruz Alta, RS, Campos Sulinos. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 28° 1'58.85"S,49°27'39.24"O.

Figura 24A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 7, Urubici, SC, Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=28° 1'57.81"S,49°27'38.73"O; B=28°1'59.59"S,49°27'33.59"O; C=28°2'0.52"S,49°27'34.56"O;
D=28°2'0.80"S,49°27'31.33"O; E=28°2'1.90"S,49°27'32.71"O; F=28°1'57.13"S,49°27'28.33"O; G=28°1'55.19"S,49°27'31.65"O;
H=28°1'50.03"S,49°27'43.00"O; I=28°1'47.20"S,49°27'45.56"O; J=28°1'43.64"S,49°27'43.05"O.

Figura 25A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 7, Urubici, SC, Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



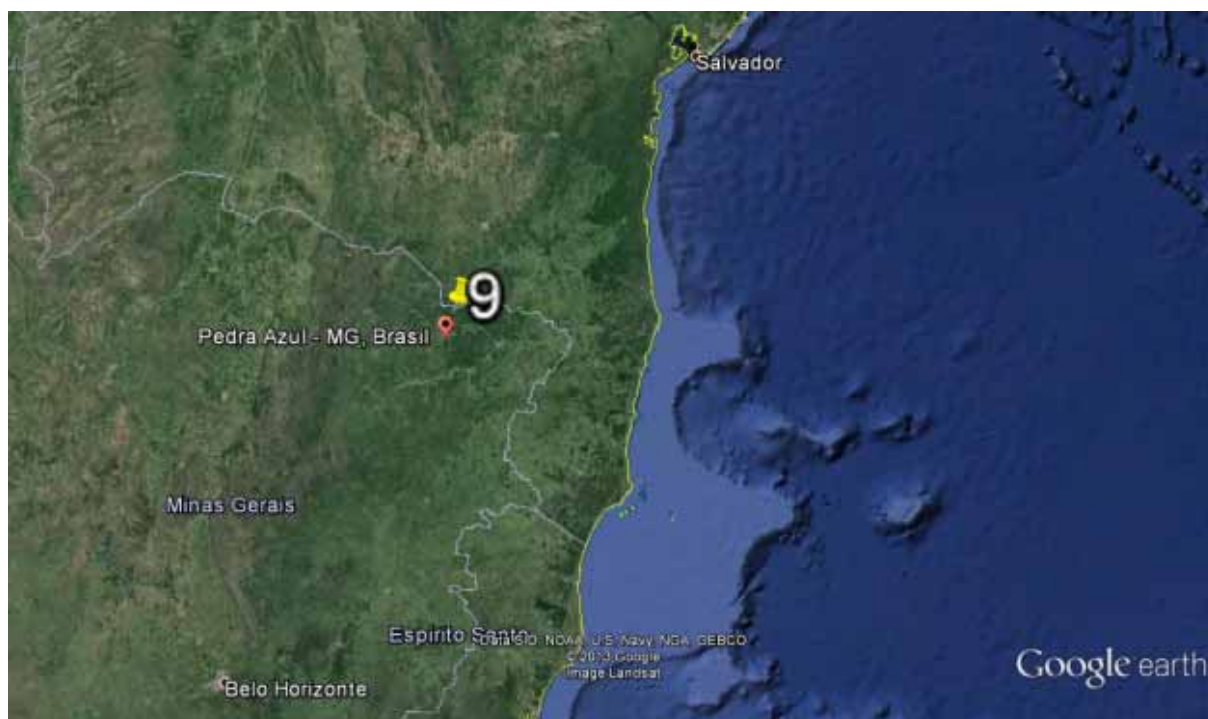
Coordenadas: 24°32'35.57"S, 48°4'8.18"O.

Figura 26A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 8, Eldorado, SP, Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=24°32'32.91"S, 48°4'8.28"O; B=24°32'35.03"S, 48°4'8.37"O; C=24°32'36.37"S, 48°4'8.75"O; D=24°32'12.65"S, 48°4'44.94"O; E=24°32'22.95"S, 48°4'38.33"O; F=24°32'14.70"S, 48°4'20.42"O; G=24°32'40.26"S, 48°4'8.94"O; H=24°32'43.46"S, 48°4'7.57"O; I=24°32'44.61"S, 48°4'10.15"O; J=24°32'40.41"S, 48°4'5.64"O; K=24°32'37.66"S, 48°3'59.48"O; L=24°32'48.63"S, 48°4'1.76"O; M=24°32'49.91"S, 48°4'2.50"O; N=24°33'2.27"S, 48°3'24.45"O; O=24°33'8.63"S, 48°3'25.83"O.

Figura 27A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 8, Eldorado, SP, Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 15°48'56.10"S, 41°12'4.70"O.

Figura 28A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 9, Pedra Azul, MG, Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=15°48'56.15"S, 41°12'4.24"O; B=15°48'56.17"S, 41°12'5.38"O; C=15°48'51.11"S, 41°12'0.18"O;

D=15°48'48.29"S, 41°11'54.11"O; E=15°48'50.39"S, 41°11'49.51"O; F=15°48'55.59"S, 41°12'7.72"O;

G=15°49'1.73"S, 41°12'7.99"O; H=15°49'1.74"S, 41°12'13.64"O; I=15°49'6.77"S, 41°11'58.68"O; J=15°49'20.94"S, 41°12'4.62"O.

Figura 29A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 9, Pedra Azul, MG, Mata Atlântica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 19°0'54.85"S, 47°59'35.75"O.

Figura 30A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 10, Uberlândia, MG, Cerrado. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



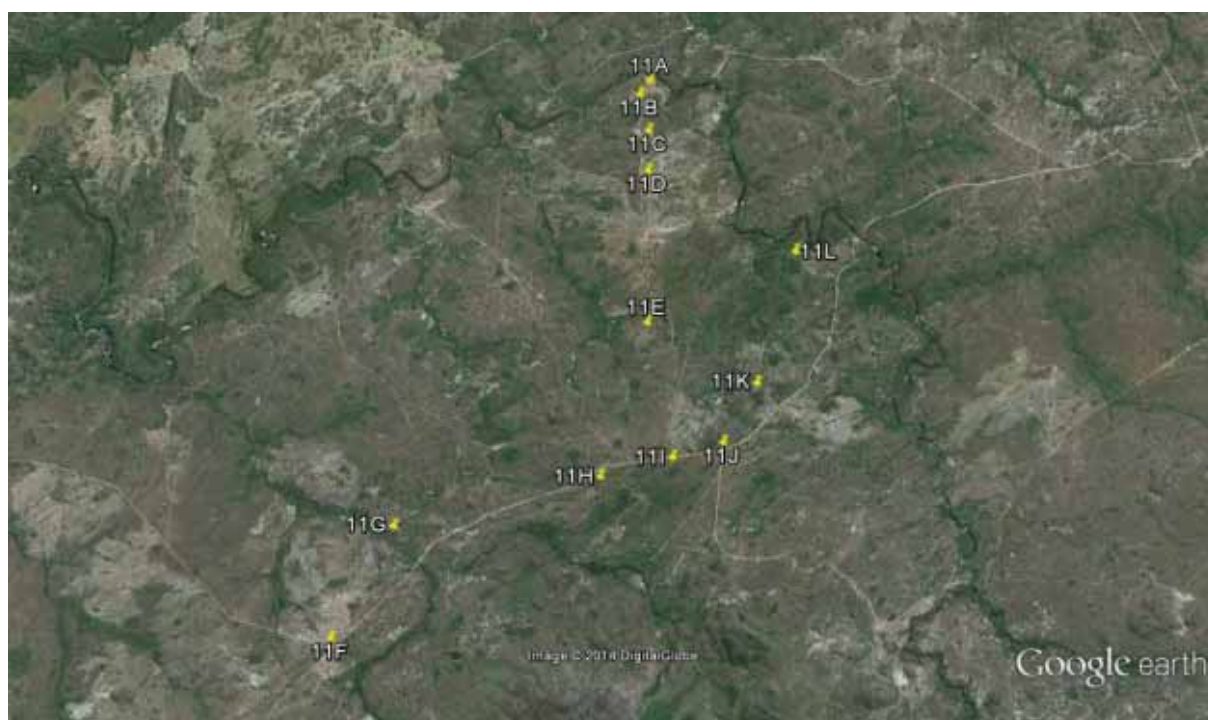
Coordenadas: A=19°0'53.47"S, 47°59'35.76"O; B=19°0'57.15"S, 47°59'36.91"O; C=19°0'57.68"S, 47°59'36.92"O; D=19°0'50.20"S, 47°59'41.44"O; E=19°0'59.22"S, 47°59'25.71"O; F=19°1'1.88"S, 47°59'27.50"O; G=19°1'9.22"S, 47°59'16.43"O; H=19°1'2.30"S, 47°59'20.05"O; I=19°0'55.26"S, 47°59'20.30"O; J=19°0'32.04"S, 47°59'36.15"O; K=19°0'23.35"S, 47°59'6.05"O; L=19°0'12.68"S, 47°59'5.87"O; M=18°59'49.12"S, 47°59'48.09"O.

Figura 31A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 10, Uberlândia, MG, Cerrado, Brasil. 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 13°50'45.02"S,47°37'9.70"O.

Figura 32A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 11, Cavalcante, GO, Cerrado. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=13°50'43.78"S,47°37'9.40"O; B=13°50'48.08"S,47°37'12.07"O; C=13°50'58.57"S,47°37'8.35"O;
D=13°51'10.32"S,47°37'7.27"O; E=13°51'54.71"S,47°37'2.93"O; F=13°53'36.24"S,47°38'28.56"O;
G=13°53'1.73"S,47°38'13.10"O; H=13°52'41.01"S,47°37'12.38"O; I=13°52'33.22"S,47°36'51.25"O;
J=13°52'27.38"S,47°36'36.61"O; K=13°52'9.12"S,47°36'28.22"O; L=13°51'29.54"S,47°36'20.44"O.

Figura 33A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 11, Cavalcante, GO, Cerrado. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 15°25'49.11"S,55°38'50.56"O.

Figura 34A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 12, Chapada dos Guimarães, MT, Cerrado. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=15°25'48.69"S,55°38'50.58"O; B=15°25'48.12"S,55°38'50.14"O; C=15°25'41.43"S,55°38'53.91"O;
D=15°25'47.19"S,55°38'45.37"O; E=15°26'12.46"S,55°38'35.32"O; F=15°26'17.27"S,55°38'37.28"O;
G=15°26'25.17"S,55°38'15.58"O; H=15°26'6.72"S,55°38'23.78"O; I=15°25'44.27"S,55°38'27.24"O;
J=15°25'29.36"S,55°38'41.66"O.

Figura 35A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 12, Chapada dos Guimarães, MT, Cerrado. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



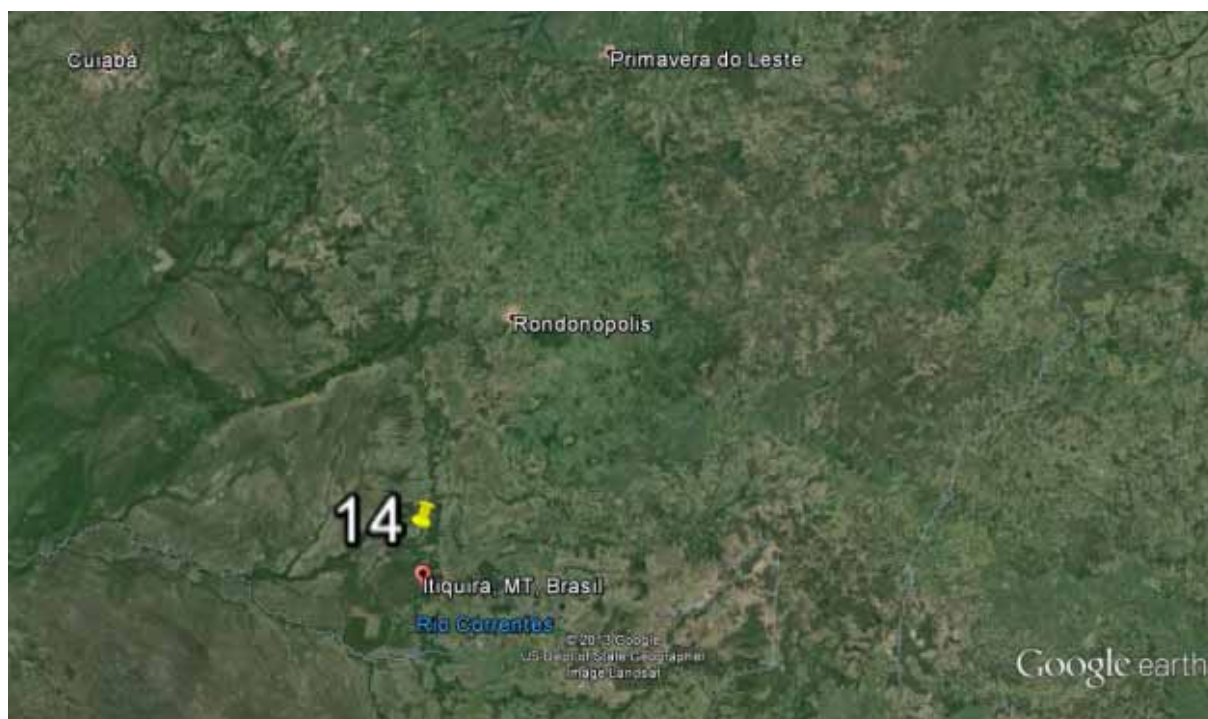
Coordenadas: 19°34'36.60"S, 57°1'9.02"O.

Figura 36A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 13, Miranda, MS, Pantanal. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=19°34'35.49"S, 57°1'4.74"O; B=19°34'34.78"S, 57°1'4.30"O; C=19°34'32.91"S, 57°1'3.97"O; D=19°34'31.49"S, 57°1'2.03"O; E=19°34'32.09"S, 57°0'56.39"O; F=19°34'28.59"S, 57°0'53.22"O; G=19°34'26.51"S, 57°0'51.65"O; H=19°34'31.66"S, 57°1'7.68"O; I=19°34'28.17"S, 57°1'5.70"O; J=19°34'23.32"S, 57°1'11.24"O.

Figura 37A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 13, Miranda, MS, Pantanal. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 17°12'55.82"S, 54°58'58.18"O.

Figura 38A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 14, Itiquira, MT, Pantanal. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=17°12'50.32"S, 54°58'37.20"O; B=17°12'49.45"S, 54°58'31.58"O; C=17°13'34.73"S, 54°58'11.47"O; D=17°13'44.58"S, 54°57'36.41"O; E=17°13'44.34"S, 54°57'30.10"O; F=17°13'47.94"S, 54°57'28.34"O; G=17°12'4.40"S, 55°1'37.87"O; H=17°12'0.10"S, 55°1'34.59"O; I=17°11'59.36"S, 55°1'37.92"O; J=17°11'1.24"S, 55°0'41.38"O; K=17°10'59.47"S, 55°0'35.32"O; L=17°10'57.62"S, 55°0'30.11"O; M=17°10'49.42"S, 55°0'38.84"O.

Figura 39A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 14, Itiquira, MT, Pantanal. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



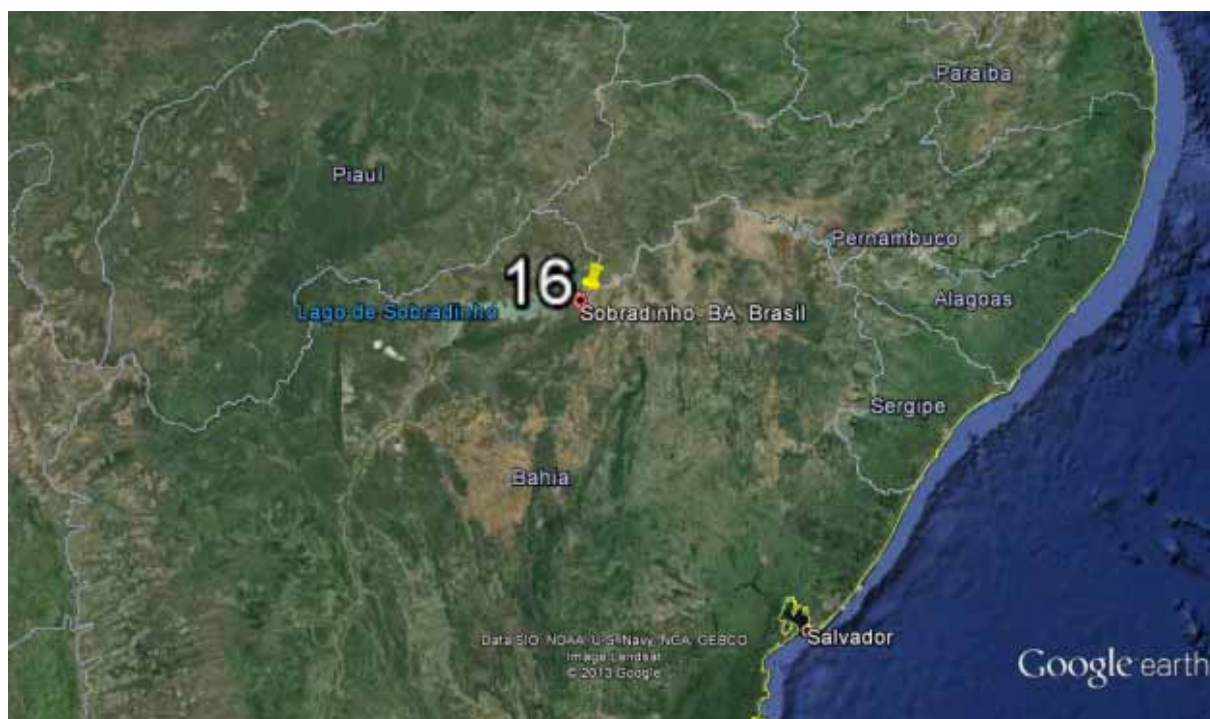
Coordenadas: 16°44'34.67"S, 56°51'56.77"O.

Figura 40A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 15, Poconé, MT, Pantanal. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=16°44'20.96"S, 56°52'15.90"O; B=16°44'11.00"S, 56°52'13.32"O; C=16°44'23.34"S, 56°52'44.64"O; D=16°44'58.98"S, 56°53'14.41"O; E=16°44'57.46"S, 56°53'44.92"O; F=16°44'44.14"S, 56°54'18.16"O; G=16°44'1.62"S, 56°54'39.69"O; H=16°43'52.82"S, 56°55'21.49"O.

Figura 41A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 15, Poconé, MT, Pantanal. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



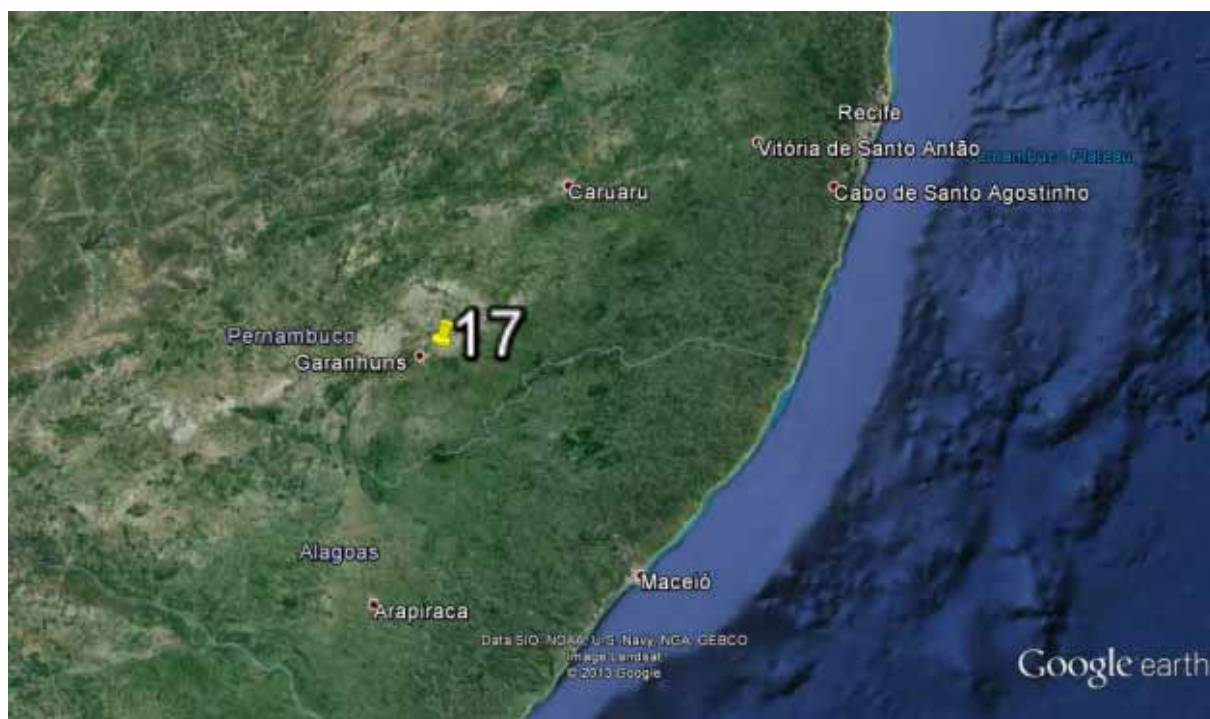
Coordenadas: 9°35'39.68"S, 40°48'50.70"O.

Figura 42A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 16, Sobradinho, BA, Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=9°35'35.47"S, 40°48'58.20"O; B=9°35'29.56"S, 40°48'53.74"O; C=9°35'21.98"S, 40°48'48.67"O; D=9°35'18.21"S, 40°48'37.49"O; E=9°35'29.92"S, 40°49'7.85"O; F=9°35'36.22"S, 40°49'5.28"O; G=9°35'36.05"S, 40°49'14.30"O; H=9°35'42.22"S, 40°49'15.21"O; I=9°35'43.56"S, 40°49'6.51"O; J=9°35'47.50"S, 40°49'9.32"O

Figura 43A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de coleta de amostras na Propriedade 16, Sobradinho, BA, Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 8°52'42.54"S, 36°26'9.42"O.

Figura 44A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 17, Garanhuns, PE, Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=8°52'32.97"S, 36°26'14.25"O; B=8°52'32.51"S, 36°26'14.47"O; C=8°53'1.80"S, 36°26'2.39"O; D=8°53'3.96"S, 36°26'3.15"O; E=8°53'4.60"S, 36°26'4.24"O; F=8°53'4.91"S, 36°26'5.66"O; G=8°52'56.02"S, 36°26'8.23"O; H=8°52'54.73"S, 36°26'8.39"O.

Figura 45A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 17, Garanhuns, PE, Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 3°47'52.20"S, 40°31'48.82"O.

Figura 46A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 18, Sobral, CE, Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



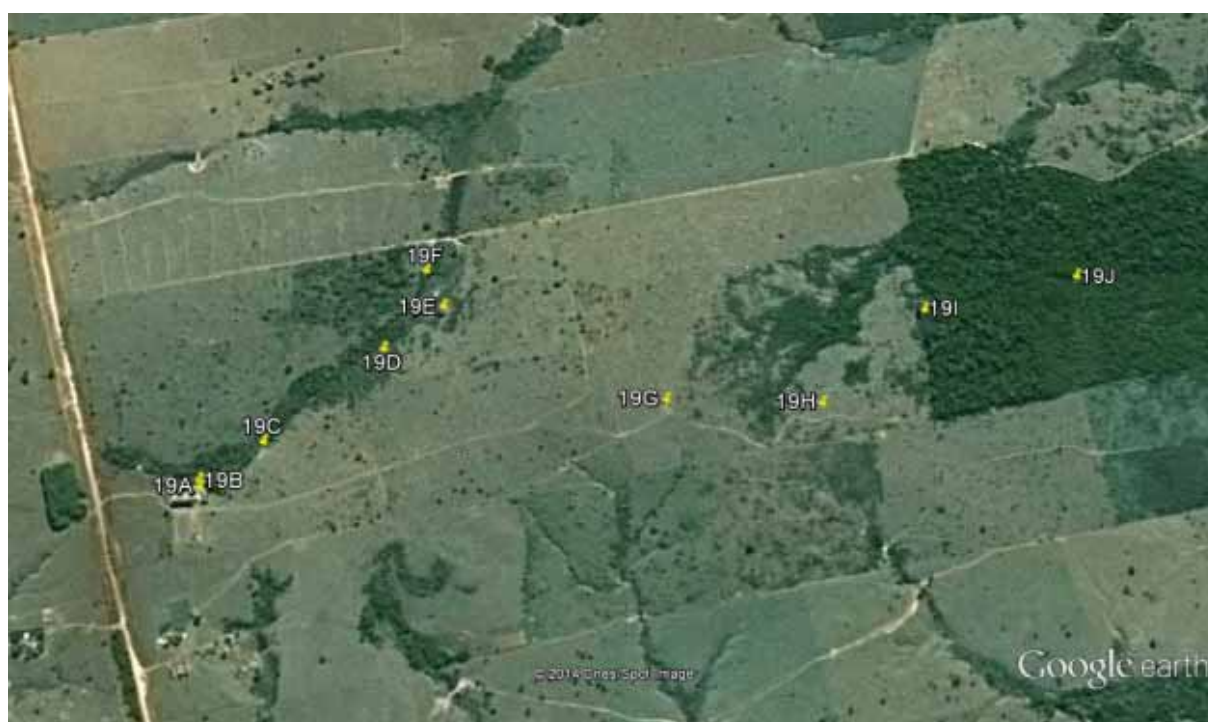
Coordenadas: A=3°47'48.65"S, 40°31'48.56"O; B=3°47'48.44"S, 40°31'48.71"O; C=3°47'53.36"S, 40°31'50.57"O; D=3°47'56.09"S, 40°31'40.54"O; E=3°48'18.39"S, 40°31'54.15"O; F=3°48'9.95"S, 40°32'14.10"O; G=3°48'27.07"S, 40°32'34.88"O; H=3°46'39.23"S, 40°32'30.45"O; I=3°46'36.90"S, 40°31'23.52"O; J=3°46'39.56"S, 40°31'20.72"O.

Figura 47A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de coleta de amostras na Propriedade 18, Sobral, CE, Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



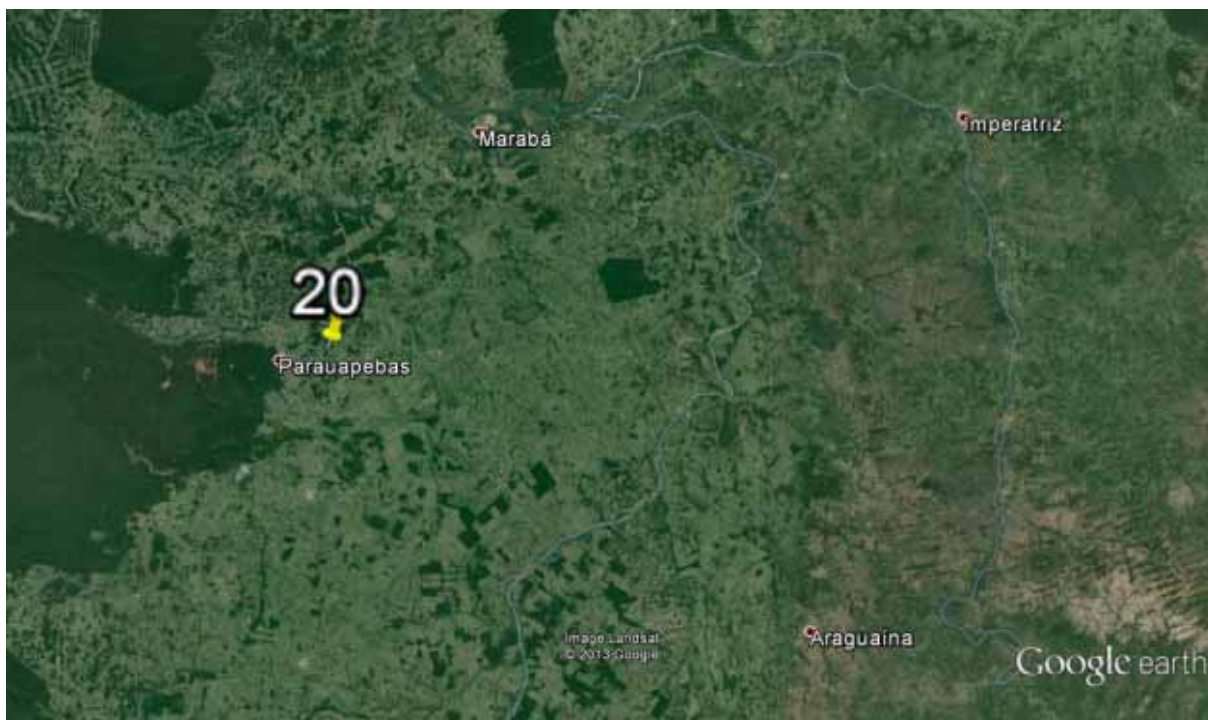
Coordenadas: 11°17'35.46"S, 58°38'26.68"O.

Figura 48A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 19, Juína, MT, Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=11°17'35.37"S, 58°38'26.01"O; B=11°17'34.90"S, 58°38'26.09"O; C=11°17'32.26"S, 58°38'21.86"O; D=11°17'25.63"S, 58°38'13.82"O; E=11°17'22.53"S, 58°38'9.63"O; F=11°17'19.84"S, 58°38'11.02"O; G=11°17'29.36"S, 58°37'53.61"O; H=11°17'29.58"S, 58°37'42.54"O; I=11°17'22.80"S, 58°37'34.79"O; J=11°17'20.24"S, 58°37'23.42"O.

Figura 49A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 19, Juína, MT, Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



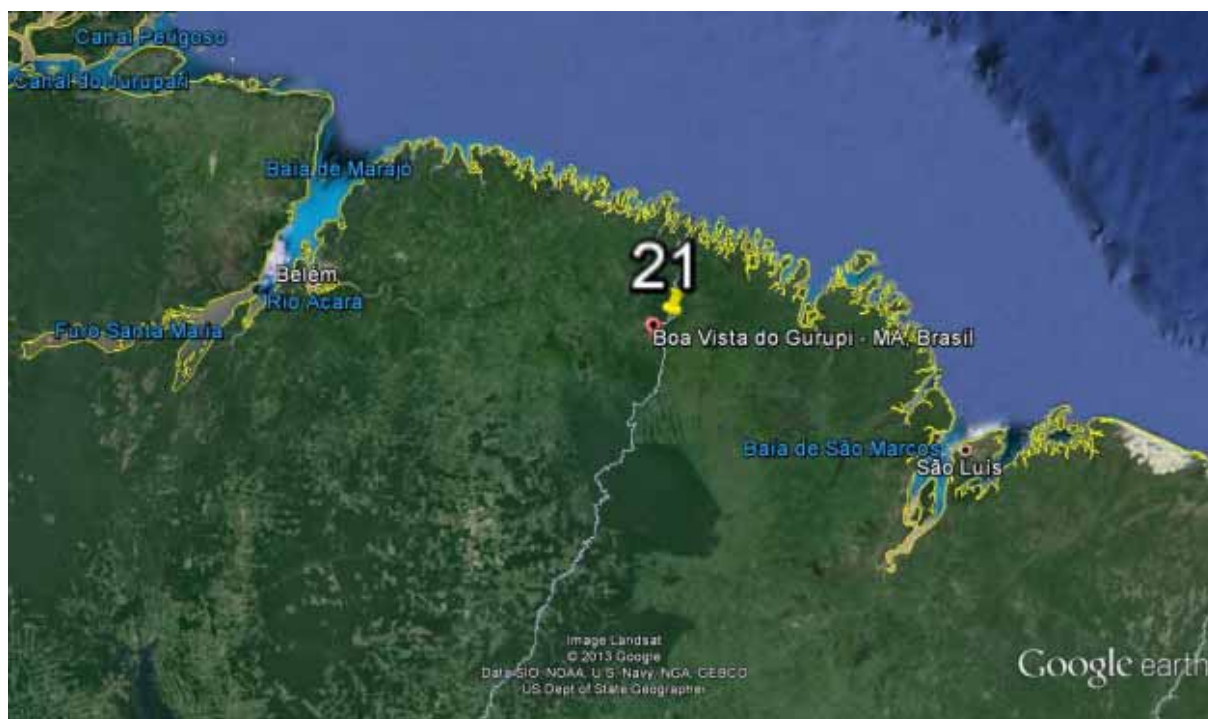
Coordenadas: 6°3'4.40"S, 49°44'1.05"O.

Figura 50A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 20, Parauapebas, PA, Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=6°3'21.03"S, 49°43'50.96"O; B=6°3'23.99"S, 49°44'10.97"O; C=6°3'11.88"S, 49°44'23.00"O; D=6°3'15.30"S, 49°44'38.79"O; E=6°2'38.69"S, 49°44'19.28"O; F=6°2'36.02"S, 49°43'25.37"O; G=6°2'29.43"S, 49°43'10.93"O; H=6°2'53.93"S, 49°42'56.68"O.

Figura 51A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 20, Parauapebas, PA, Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



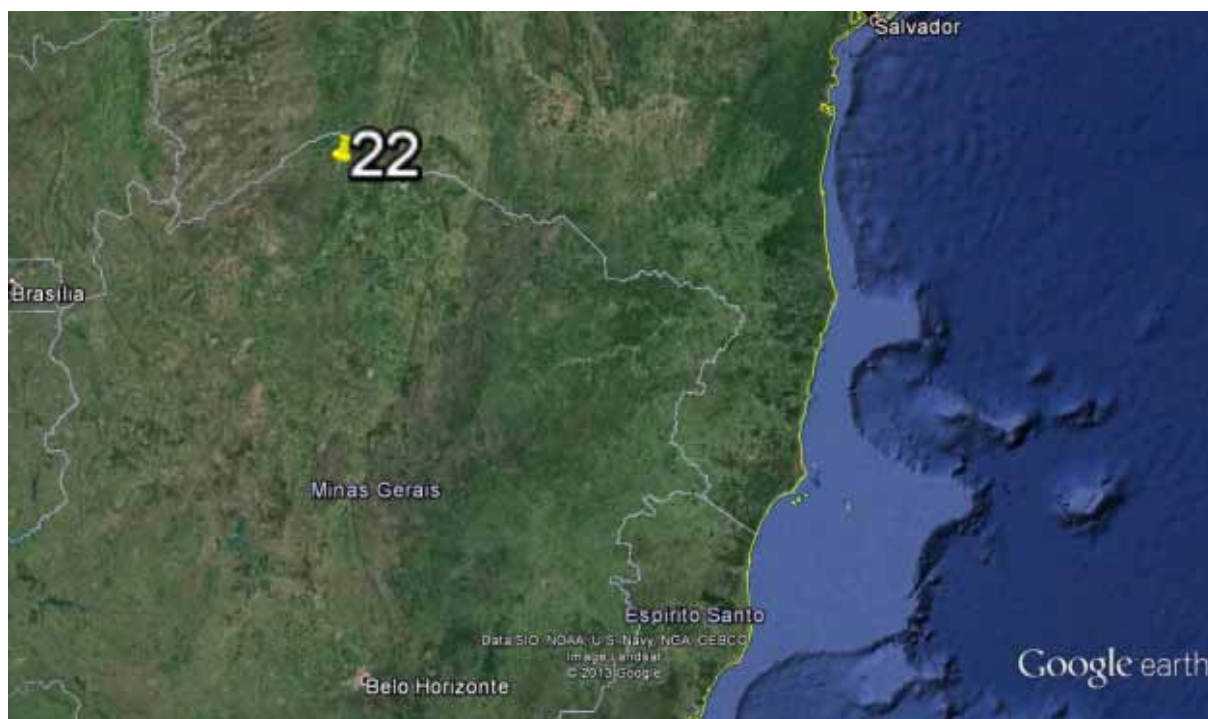
Coordenadas: 1°43'30.86"S, 46°12'30.71"O.

Figura 52A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 21, Boa Vista do Gurupi, MA, Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=1°43'30.68"S, 46°12'6.58"O; B=1°43'23.48"S, 46°11'54.58"O; C=1°43'15.09"S, 46°11'52.10"O; D=1°43'13.35"S, 46°11'40.65"O; E=1°43'34.72"S, 46°11'49.66"O; F=1°43'49.64"S, 46°12'2.06"O; G=1°43'48.08"S, 46°11'42.93"O; H=1°44'7.28"S, 46°11'23.98"O; I=1°44'36.66"S, 46°11'21.28"O; J=1°44'14.65"S, 46°10'49.26"O.

Figura 53A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de coleta de amostras na Propriedade 21, Boa Vista do Gurupi, MA, Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



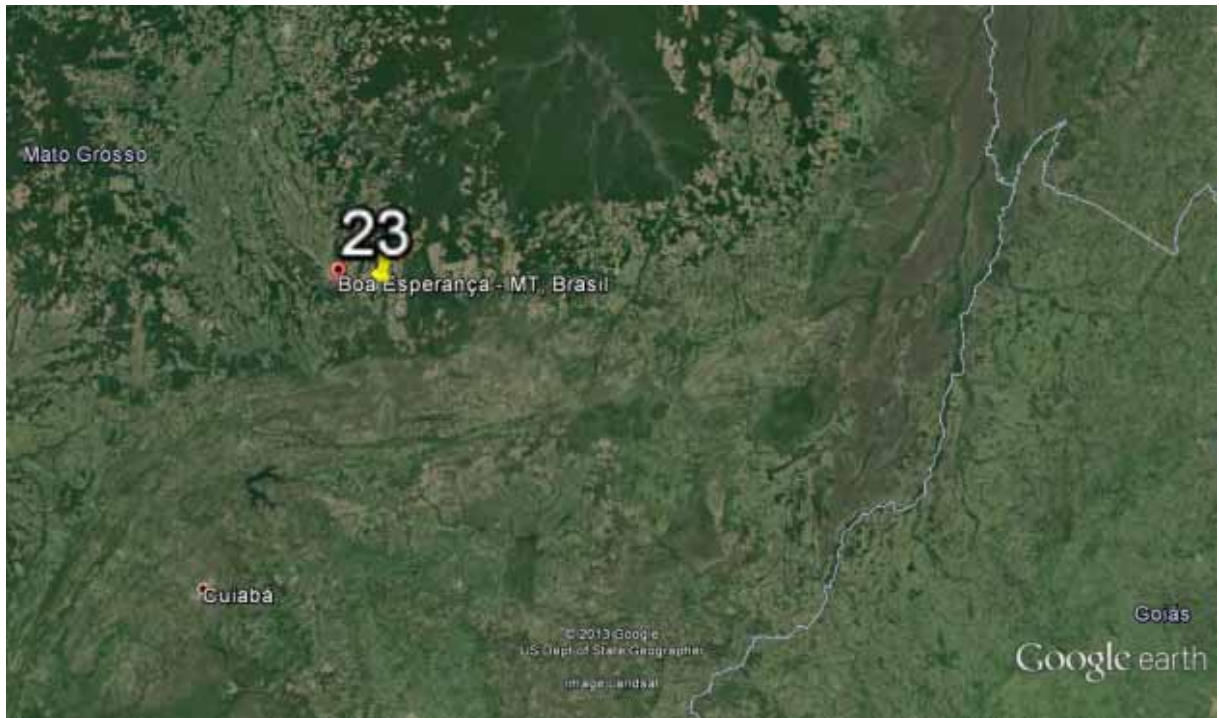
Coordenadas: 14°37'40.09"S,44°14'1.71"O.

Figura 54A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 22, Manga, MG, Transição Cerrado-Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



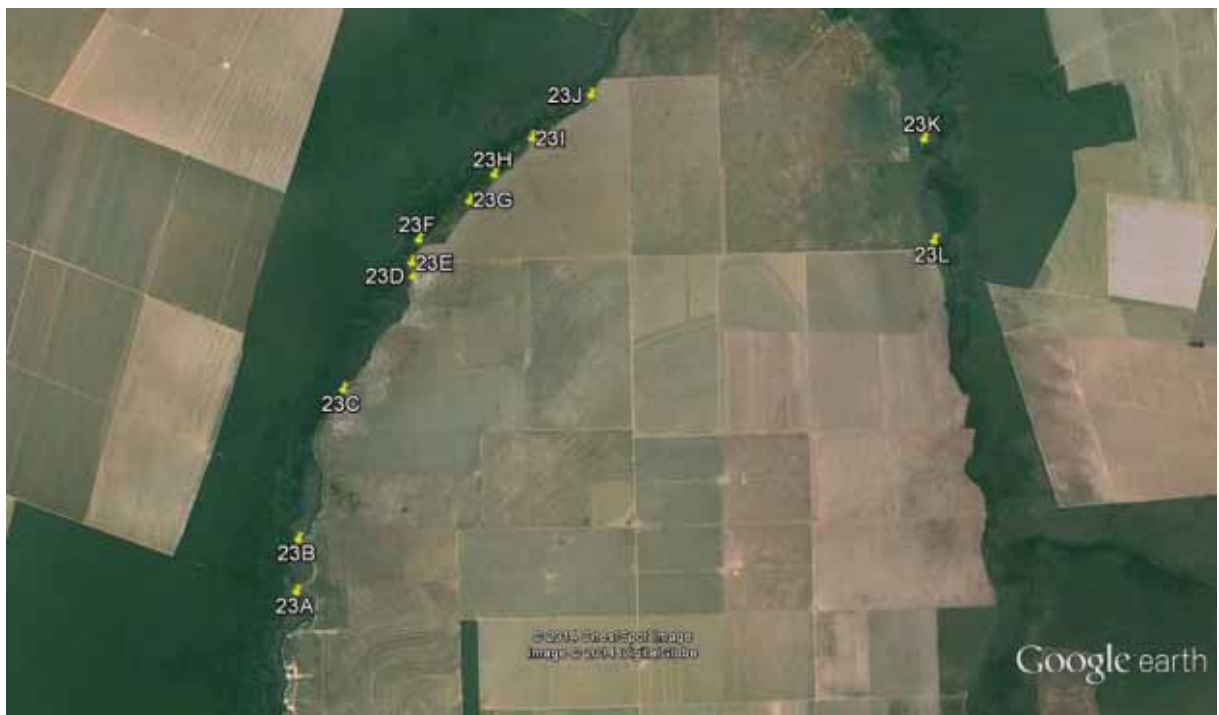
Coordenadas: A=14°37'40.50"S,44°14'1.36"O; B=14°37'38.40"S,44°14'4.69"O; C=14°37'35.72"S,44°14'3.14"O; D=14°37'35.14"S,44°13'56.56"O; E=14°37'46.72"S,44°13'40.72"O; F=14°37'30.71"S,44°14'11.43"O; G=14°37'28.73"S,44°13'59.44"O; H=14°37'30.34"S,44°13'46.84"O; I=14°37'39.56"S,44°13'39.70"O; J=14°37'43.62"S,44°13'33.37"O.

Figura 55A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 22, Manga, MG, Transição Cerrado-Caatinga. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



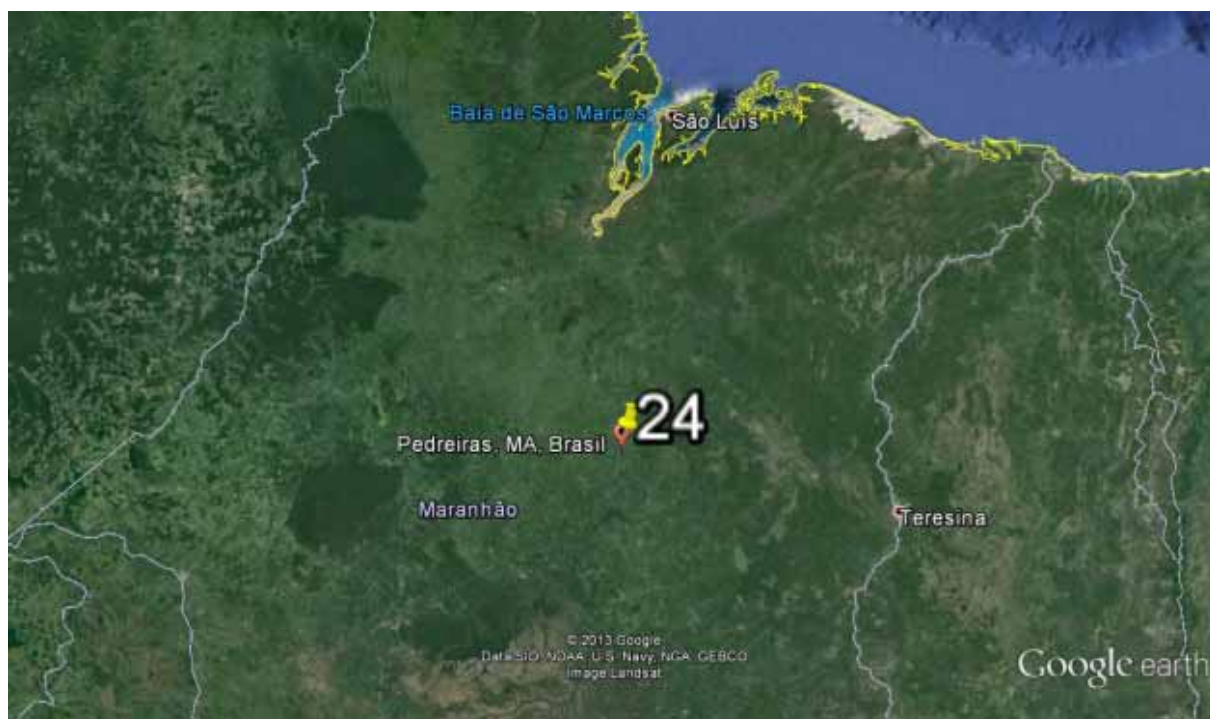
Coordenadas: 13°36'14.81"S,54°52'53.27"O.

Figura 56A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 23, Boa Esperança, MT, Transição Cerrado-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=13°33'31.58"S,54°55'6.95"O; B=13°33'12.28"S,54°55'6.41"O; C=13°32'17.41"S,54°54'50.05"O; D=13°31'35.62"S,54°54'24.18"O; E=13°31'30.63"S,54°54'24.79"O; F=13°31'22.13"S,54°54'22.09"O; G=13°31'7.84"S,54°54'3.22"O; H=13°30'58.01"S,54°53'53.90"O; I=13°30'44.58"S,54°53'39.82"O; J=13°30'28.45"S,54°53'17.69"O; K=13°30'43.37"S,54°51'11.79"O; L=13°31'20.66"S,54°51'7.77"O.

Figura 57A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 23, Boa Esperança, MT, Transição Cerrado-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 4°37'6.16"S, 44°36'3.78"O.

Figura 58A. Mapa com a indicação numérica e com as coordenadas da Propriedade 24, Pedreiras, MA, Transição Caatinga-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: A=4°36'59.79"S, 44°36'39.36"O; B=4°37'14.63"S, 44°35'17.47"O.

Figura 59A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas dos locais de colheita de amostras na Propriedade 24, Pedreiras, MA, Transição Caatinga-Floresta Amazônica. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.



Coordenadas: 1=33°20'47.98"S 53°18'6.81"O; 2=18°57'22.32"S,39°56'51.93"O; 3=2°36'31.89"S 44°16'4.24"O;
 4=30°29'6.13"S,53°8'44.15"O; 5=30°4'41.90"S,55°18'57.53"O; 6=28°36'37.54"S,53°35'16.84"O;
 7=28°1'58.85"S,49°27'39.24"O; 8=24°32'35.57"S,48°4'8.18"O; 12=15°25'49.11"S,55°38'50.56"O;
 16=9°35'39.68"S,40°48'50.70"O; 18=3°47'52.20"S,40°31'48.82"O; 21=1°43'30.86"S,46°12'30.71"O;
 22=14°37'40.09"S,44°14'1.71"O.

Figura 60A. Mapa com as indicações numéricas e com as coordenadas das propriedades rurais nas quais houve isolamento de *Leptospira* spp. das diferentes espécies analisadas. Brasil, 2011 a 2013. Google Earth, 2013.

Apêndice B. Questionário

**Questionário para análise das variáveis
possivelmente associadas ao risco de
ocorrência de anticorpos contra *Leptospira*
spp. em humanos e em animais domésticos e
para avaliação do nível de conhecimento das
pessoas sobre a leptospirose**

Bioma: _____

UF: _____

Município: _____

Propriedade: _____

Assinatura do entrevistador

_____/_____/_____
Data

Parte A. Caracterização das pessoas na propriedade

	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Total de pessoas na propriedade																		
Vivem na propriedade																		
Deslocam todos os dias para trabalhar																		

Idade	proprietário e família		caseiro e família		demais funcionários	
	F	M	F	M	F	M
Até 16 anos						
Entre 16 e 60 anos						
Mais de 60 anos						

Tempo de residência/trabalho na propriedade	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Menos de um ano																		
Entre um e dois anos																		
Entre três e cinco anos																		
Entre seis e dez anos																		
Mais de dez anos																		

Procedência antes de morar/trabalhar na propriedade	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Mesmo Município																		
Outro Município, mas na mesma região do Estado																		
Outra região do Estado																		
Outro Estado, mas na mesma região do Brasil																		
Outra região do Brasil																		

Distância percorrida para trabalhar na propriedade	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Menos de 1Km																		
Entre 1 e 5Km																		
Mais de 5Km																		

Escolaridade	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Ensino Primário																		
Ensino Fundamental																		
Ensino Médio																		
Ensino Superior																		
Ensino Técnico																		

Crianças na escola	filhos do proprietário		filhos do caseiro	
	F	M	F	M
Escola particular				
Escola municipal				
Escola estadual				
Escola federal				

Distância entre a propriedade e a escola	filhos do proprietário		filhos do caseiro	
	F	M	F	M
Menos de 1Km				
Entre 1 e 5Km				
Mais de 5Km				

Forma de locomoção até a escola	filhos do proprietário		filhos do caseiro	
	F	M	F	M
Caminhando sozinhas				
Os pais levam caminhando				
Os pais levam de condução				
Ônibus escolar ou similar				

Nº de pessoas doentes na propriedade	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Nos últimos 15 dias																		
Nos últimos dois meses																		
Nos últimos seis meses																		
No último ano																		
Nos últimos cinco anos																		

Sintomas apresentados	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Febre																		
Dores musculares, principalmente na panturrilha																		
Dores na panturrilha																		
Cansaço fácil																		
Pele e mucosas amareladas																		

Ficou doente em período de chuva: () Sim () Não

Procurou atendimento médico: () Sim () Não

Tipo de atendimento médico procurado	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Particular/convênio																		
Unidade Básica de Saúde																		
Hospital Regional de Saúde																		

Diagnóstico: _____

O que fez de diferente uma ou duas semanas antes de ficar doente	proprietário e família						caseiro e família						demais funcionários					
	crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos		crianças		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Teve contato com enchentes																		
Andou em solo com lama																		
Frequentou local com acúmulo de água																		
Teve contato com roedores																		
Teve contato com demais animais selvagens																		

Visitas regulares de um Médico na propriedade: () Sim () Não

Frequência: _____

- ☐ () Todo mês
- ☐ () A cada dois ou três meses
- ☐ () Duas vezes por ano
- ☐ () Uma vez por ano
- ☐ () Menos que uma vez ao ano

Continuação...	ovinos						caprinos						bovinos						bubalinos					
	filhotes		adultos		idosos		filhotes		adultos		idosos		filhotes		adultos		idosos		filhotes		adultos		idosos	
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Febre																								
Apatia																								
Animal se isolou do grupo																								
Anorexia																								
Mucosas amareladas																								
Perda de peso																								

Quando ficaram doentes era período de chuva? () Sim () Não

Chamou o Médico Veterinário? () Sim () Não

Diagnóstico:

Cães _____

Equídeos _____

Suínos _____

Ovinos _____

Caprinos _____

Bovinos _____

Bubalinos _____

Visitas regulares de um Médico Veterinário na propriedade: () Sim () Não

Frequência

() Todo mês

() A cada dois ou três meses

() Duas vezes por ano

() Uma vez por ano

() Menos que uma vez ao ano

Parte C. Caracterização dos animais selvagens de vida livre e sinantrópicos na propriedade e em seus arredores

Já foi observada a presença de animais selvagens na propriedade ou arredores?

☐ Sim ☐ Não

Em que lugar especificamente?

- ☐ Na propriedade em geral
- ☐ Nos arredores da propriedade
- ☐ Chegam muito próximos à residência
- ☐ Entram na residência

Quais animais já foram observados? Se possível, quantificar.

_____ () , _____ () , _____ () , _____ ()
 _____ () , _____ () , _____ () , _____ ()

Há a presença de roedores nesta propriedade? ☐ Sim ☐ Não

...e de outros animais sinantrópicos (ex.: gambás, quati)? ☐ Sim ☐ Não

Já observou a presença de ninhos de roedores, marsupiais (gambás) ou pequenos carnívoros (quati) na propriedade ou nos arredores?

☐ Sim ☐ Não

Se sim, em que local?

- ☐ Na residência (buraco em parede, telhado)
- ☐ Nos arredores da residência
- ☐ No estábulo
- ☐ No barracão de armazenamento de ração
- ☐ Na floresta dentro da propriedade ou nos arredores
- ☐ Outro

Parte D. Interação entre seres humanos, animais domésticos e animais selvagens

Ocorre contato entre animais selvagens e animais domésticos na propriedade?

() Sim () Não

Se sim,

() Chegam muito próximo e ocorre contato físico com animais domésticos

() Chegam muito próximo , mas não ocorre contato físico com animais domésticos

() Chegam próximo, mas há uma distância física considerável para que não haja contato físico

() Não se aproximam

Animais selvagens que se aproximam dos domésticos e respectivas distâncias de fuga:

_____(), _____(), _____()
 _____(), _____(), _____()

Ocorre contato entre animais selvagens e seres humanos na propriedade?

() Sim () Não

Se sim,

() Chegam muito próximo e ocorre contato físico com as pessoas

() Chegam muito próximo, mas não ocorre contato físico com as pessoas

() Chegam próximo, mas há uma distância física considerável para que não haja contato físico

() Não se aproximam

Animais selvagens que se aproximam dos domésticos e respectivas distâncias de fuga:

_____(), _____(), _____()
 _____(), _____(), _____()

Procedimento feito quando encontram ninhinhos	roedores	gambás	quatis	demaís animais selvagens
Retira				
Tenta proteger				
Não faz nada				

Parte E. Caracterização do manejo feito na propriedade e de suas instalações

É feito o controle de roedores nessa propriedade? () Sim () Não

Se sim,

() pratica medidas anti-roedores? (armazenar ração, boas práticas de higiene...)

() faz uso de rodenticidas? Qual? _____

Onde e como é armazenada a ração?	Cães	Equídeos	Suínos	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Em galpão fechado, elevado em relação ao solo e distante das paredes							
Em galpão fechado, elevado em relação ao solo e apoiado nas paredes							
Em galpão fechado, diretamente no solo e apoiado nas paredes							
Em galpão aberto, elevado em relação ao solo e distante das paredes							
Em galpão aberto, elevado em relação ao solo e apoiado nas paredes							
Em galpão aberto, diretamente no solo e apoiado nas paredes							

Além da ração, qual outro alimento fornecido aos herbívoros, sem contar com as pastagens?

() Silo () Feno () Poupa cítrica () Outros _____

Outro tipo de alimentação aos suínos: _____

Os cães, além da ração e da eventual caça, comem o que?

() comida () restos de alimento () Outros _____

Procedência da água da propriedade: _____

Análise microbiológica da água: () Sim () Não

Frequência:

() Duas vezes por ano

() Uma vez por ano

() Raramente

Tem conhecimento do resultado? _____

Os animais normalmente comem toda comida que é fornecida?	Cães	Equídeos	Suínos	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Sim							
Não							

Os restos são retirados?	Cães	Equídeos	Suíños	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Sim							
Não							

Como é o fornecimento de água para os animais no pasto/piquete?	Equídeos	Suíños	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Baldes						
Cocho						
Cocho com bóia						

Como é o fornecimento de água para os animais nas baias/solários?	Equídeos	Suíños	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Baldes						
Cocho						
Cocho com bóia						

Como é fornecida água aos cães? () Vasilhas () Outros_____

Com que frequência é feita a higienização de...	Cães	Equídeos	Suíños	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Baias							
Solários							
Sala de ordenha							
Canis							
Comedouros							
Bebedouros							

- 1- Diariamente
 2- Duas a três vezes por semana
 3- Uma vez por semana
 4- Duas a três vezes por mês
 5 - Mensalmente

Onde os animais ficam há presença de água empoçada ou o solo úmido, com lama?	Cães	Equídeos	Suíños	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Durante o ano todo							
Durante a estação das chuvas							
Em chuvas esporádicas, mas demora para secar							
Em chuvas esporádicas e seca rapidamente							
Apenas quando a água do cocho transborda							

Rotação de pastagem: () Sim () Não

Frequência:

- () Semanalmente
 () Mensalmente
 () Duas vezes por ano

Manejo reprodutivo	Equídeos	Suíños	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Monta natural						
Inseminação artificial						
Transferência de embrião						

Manejo feito com os animais recém-chegados na propriedade	Equídeos	Suíños	Ovinos	Caprinos	Bovinos	Bubalinos
Quarentena						
Exame visual na chegada						
Manejo normal						

Parte F. Nível de conhecimento dos seres humanos sobre a leptospirose e sobre a importância de boas práticas de higiene, manejo e preservação ambiental para prevenção e controle dessa enfermidade

Você já ouviu falar em leptospirose? () Sim () Não

Se sim o que sabe sobre ela? _____

Em que meio o agente causador vive melhor? () água () solo úmido () ambiente seco
() matéria em decomposição ... em qual temperatura? () ambiente () frio () calor

Os animais podem transmitir a leptospirose? () Sim () Não

Quais? _____

A água tem importância na transmissão da leptospirose? () Sim () Não

Se sim, comente sobre isso _____

Sabe como uma pessoa pode adquirir a leptospirose? () Sim () Não

Se sim, como? _____

Você sabe o que pode fazer para evitar contrair leptospirose? _____

Qualidade da água na propriedade	Rio	Córrego	Lago	Cacimba	Bebedouros	Caixas d'água	Torneiras	Filtros
Muito boa								
Boa								
Regular								
Ruim								
Péssima								

Entre as medidas abaixo, quais são importantes para o controle da leptospirose?

- () controle de roedores através de medidas antirratização (sem uso de raticidas)
- () armazenar alimentos e ração em locais secos, fechados e elevados em relação ao solo
- () evitar acúmulo de lixo e de entulhos
- () evitar que animais domésticos e seres humanos entrem em contato com animais selvagens
- () garantir qualidade da água através de medidas como cloração e limpeza de reservatórios
- () exigir saneamento adequado (rede de esgoto, canalização de córregos etc)
- () limpar comedouros e bebedouros dos animais diariamente
- () limpar as baias dos animais pelo menos duas vezes por semana
- () realizar rotação de pastagem
- () realizar quarentena (observação) de animais recém adquiridos
- () evitar acesso dos animais domésticos a áreas alagadas
- () utilizar botas de borracha quando permanecer em áreas alagadas
- () evitar nadar em águas de enchente
- () evitar o desmatamento, proteger o meio ambiente e a vida selvagem
- () uso de raticidas

Sabe dos riscos e prejuízos do uso de raticidas? () Sim () Não

Se sim, citar alguns riscos e prejuízos _____

Apêndice C. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNESP, CÂMPUS DE JABOTICABAL

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Tendo sido informado(a) pelo Médico Veterinário Felipe Jorge da Silva sobre a utilização de uma amostra do meu sangue e da minha urina, para identificar minha condição em relação à leptospirose, e do preenchimento de um questionário para relacionar os possíveis fatores de risco relacionados à enfermidade supra mencionada, concordo em participar, voluntariamente, da pesquisa: “Estudo epidemiológico da leptospirose em animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos em propriedades de agricultura familiar nos diversos biomas brasileiros”. Todas as informações serão sigilosas e, embora eu saiba da importância da minha participação, poderei deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem qualquer sanção. Fui informado(a) que a colheita de sangue será realizada por meio de punção venosa com coletores individuais tipo “vacutainer” e agulhas individuais descartáveis e que a colheita de urina será realizada com auxílio de coletores estéreis. Também fui informado que esses procedimentos, mesmo sendo realizados sob todos os devidos cuidados, poderão gerar riscos de hematomas e hemorragias, e desconfortos causados pela eventual dor durante a punção venosa. Essas colheitas serão realizadas pelo(a) enfermeiro(a) _____, COREN nº _____, da _____ do Município de _____, no Estado de _____ nas dependências da própria unidade. Concordo que os resultados obtidos com a referida pesquisa sejam divulgados oralmente ou publicados pelos pesquisadores em revistas científicas.

Jaboticabal, ____ de _____ de _____.

Nome por extenso do(a) participante

Assinatura do(a) participante

Felipe Jorge da Silva
Médico Veterinário
Telefone para contato: (16)97615887
e-mail: fjsepi@gmail.com

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
UNESP, CÂMPUS DE JABOTICABAL

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
MENORES DE IDADE

Tenho sido informado(a) pelo Médico Veterinário Felipe Jorge da Silva sobre a utilização de uma amostra do sangue e da urina do menor _____, pelo qual sou responsável, para identificar sua condição em relação à leptospirose, e do preenchimento de um questionário para relacionar os possíveis fatores de risco relacionados à enfermidade supra mencionada, concordo e sou responsável pela sua participação voluntária na pesquisa: “Estudo epidemiológico da leptospirose em animais selvagens de vida livre, animais domésticos e seres humanos em propriedades de agricultura familiar nos diversos biomas brasileiros”. Todas as informações serão sigilosas e embora eu saiba da importância da participação do menor pelo qual sou responsável, poderei impedir sua participação na pesquisa a qualquer momento, sem qualquer sanção. Fui informado(a) que a colheita de sangue será realizada por meio de punção venosa com coletores individuais tipo “vacutainer” e agulhas individuais descartáveis e que a colheita de urina será realizada com auxílio de coletores estéreis. Também fui informado que esses procedimentos, mesmo sendo realizados sob todos os devidos cuidados, poderão gerar riscos de hematomas e hemorragias, e desconfortos causados pela eventual dor durante a punção venosa. Essas colheitas serão realizadas pelo(a) enfermeiro(a) _____, COREN nº _____, da _____ do Município de _____, no Estado de _____ nas dependências da própria unidade. Concordo que os resultados obtidos com a referida pesquisa sejam divulgados oralmente ou publicados pelos pesquisadores em revistas científicas.

Jaboticabal, ____ de _____ de _____.

Nome por extenso do(a) responsável

Assinatura do(a) responsável

Felipe Jorge da Silva
Médico Veterinário
Telefone para contato: (16)97615887
e-mail: fjsepi@gmail.com