



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
CAMPUS DE PATOS**

**LEPTOSPIROSE BOVINA NO ESTADO DA PARAÍBA: PREVALÊNCIA E  
FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE PROPRIEDADES  
POSITIVAS**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.**

**CARLA LAUISE RODRIGUES MENEZES PIMENTA**

**PATOS – PB  
FEVEREIRO – 2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CAMPUS DE PATOS**

**LEPTOSPIROSE BOVINA NO ESTADO DA PARAÍBA: PREVALÊNCIA E  
FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE PROPRIEDADES  
POSITIVAS**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.**

**Mestranda: Carla Louise Rodrigues Menezes Pimenta**

**Orientador: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo**

**PATOS – PB**  
**FEVEREIRO – 2014**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG**

P6441 Pimenta, Carla Louise Rodrigues Menezes  
Leptospirose bovina no estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas / Carla Louise Rodrigues Menezes Pimenta. – Patos, 2014.  
49f. : il.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2014.

"Orientação: Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo"

Referências.

1. *Leptospira spp.* 2. Bovinos. 3. Epidemiologia. I. Título.

CDU 614.9

**CARLA LAUISE RODRIGUES MENEZES PIMENTA**

**LEPTOSPIROSE BOVINA NO ESTADO DA PARAÍBA: PREVALÊNCIA E  
FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE PROPRIEDADES  
POSITIVAS**

Dissertação aprovada em:

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dr. Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

---

Dr. Severino Silvano dos Santos Higinio  
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

---

Prof. Dr. Sidnei Miyoshi Sakamoto  
Departamento de Ciências Animais/UFERSA

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelas bênçãos a mim concedidas, por me dar tanta força durante esta caminhada;

Ao meu marido pela eterna amizade, pelo carinho, por me fazer feliz nas horas de tristeza, pelo encorajamento em momentos de fraqueza, pela paciência, incentivo, compreensão, pela paz compartilhada, cumplicidade e felicidades que junto vivenciamos;

Aos meus pais pelo carinho, amor e apoio em todas as decisões que mesmo longe de casa não deixaram faltar.

À minha irmã bem como a toda a minha família, pelas palavras de incentivo e apoio, pelo orgulho e admiração a mim demonstrados;

Ao Professor Sergio Azevedo, pela orientação na pesquisa, constante incentivo, sempre indicando a direção a ser tomada com valoroso acompanhamento e sábios ensinamentos, além da amizade conquistada ao longo dos tempos;

À Vanessa Castro pela grande ajuda na execução desse experimento, pelos ensinamentos, pelos momentos de alegria e tristeza compartilhados e pela amizade conquistada;

A minha amiga Leíse Fernandes, pela amizade e por sua disposição em ajudar;

Aos meus amigos Emerson e Mirele por toda ajuda, durante minha estadia em São Paulo e por tantos momentos de alegria;

À banca examinadora, pela disponibilidade de participar e pelas contribuições pessoais acerca da dissertação;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, pela contribuição acadêmica e convívio harmonioso;

À toda equipe do laboratório de Doenças Transmissíveis do CSTR/UFCG por toda ajuda prestada e pela amizade;

À dona Francinete, técnica do Laboratório de Doenças Transmissíveis UFCG/CSTR, pelo apoio e disposição.

Aos que contribuíram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

A todos muito obrigada!

## RESUMO

A leptospirose bovina é uma enfermidade causada por bactérias do gênero *Leptospira* e está associada a prejuízos econômicos, principalmente relacionados a problemas reprodutivos como abortamentos, natimortalidade e diminuição da produção de leite. O objetivo do presente trabalho foi determinar as prevalências de propriedades positivas e de animais positivos, bem como identificar fatores de risco associados à leptospirose em vacas no Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Foram aleatoriamente selecionadas 2.317 vacas com idade  $\geq 24$  meses, procedentes de 450 propriedades. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi empregado o teste de soroaglutinação microscópica (SAM), utilizando-se 24 sorovares como antígenos. Uma propriedade foi considerada positiva quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. Das 450 propriedades investigadas 398 (89,7%; IC 95% = 86,6 – 92,2) apresentaram pelo menos um animal reagente na SAM para qualquer sorovar, e 1.349 (61,1%; IC 95% = 56,6 – 65,4) animais foram soropositivos. O sorovar Hardjo foi o mais prevalente nas propriedades e nos animais, com frequências de 58,17% e 54,69%, respectivamente. Propriedade ser localizada no Sertão (*odds ratio* = 3,20;  $p = 0,003$ ), presença de animais silvestres (*odds ratio* = 2,89;  $p = 0,005$ ), não resfriar o leite (*odds ratio* = 3,83;  $p = 0,034$ ) e presença de pastos alagados (*odds ratio* = 2,36;  $p < 0,001$ ) foram identificados como fatores de riscos associados à prevalência de propriedades positivas. Conclui-se que a leptospirose encontra-se amplamente difundida em bovinos do Estado da Paraíba, o que reforça a necessidade de intensificação de medidas de prevenção e controle, como a vacinação dos rebanhos. De acordo com os resultados da análise de fatores de risco, sugere-se que o controle sanitário antes da introdução de animais, drenagem de áreas alagadas e melhora nas condições de manejo são importantes medidas para a prevenção da infecção.

**Palavras-chave:** *Leptospira* spp., bovinos, epidemiologia, controle, Nordeste do Brasil.

## ABSTRACT

Bovine leptospirosis is a disease caused by bacteria of the genus *Leptospira* and is associated with economic losses, mainly related to reproductive problems such as miscarriage, stillbirth and decreased milk production. The aim of this survey was to determine the herd-level and animal-level prevalences, as well as to identify risk factors associated with leptospirosis in cattle in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. A total of 2,317 cows with  $\geq 24$  months of age from 450 herds were randomly sampled. For the serological diagnosis of *Leptospira* spp. infection, the microscopic agglutination test (MAT) was carried out using 24 serovars as antigens. A herd was considered positive when presented at least one seropositive animal. Of the 450 investigated herds, 398 (89.7%; 95% CI = 86.6 – 92.2) presented at least one reactant animal at MAT to any serovar, and 1,349 (61.1%; 95% CI = 56.6 – 65.4) animals were seropositive. Serovar Hardjo was the most prevalent in herds and animals, with frequencies of 58.17% and 54.69%, respectively. Location of the herd in the Sertão (odds ratio = 3.20;  $p = 0.003$ ), presence of wildlife (odds ratio = 2.89;  $p = 0.005$ ), not cooling milk (odds ratio = 3.83;  $p = 0.034$ ) and presence of flooded pastures (odds ratio = 2.36;  $p < 0.001$ ) were identified as risk factors for herd-level prevalence. It is concluded that leptospirosis is widely spread in cattle in the State of Paraíba, which reinforces the need for increased prevention and control measures, such as vaccination of herds. According to the results of the analysis of risk factors, it is suggested that the sanitary control before the introduction of animals, drainage of wetlands and improvement in management conditions are important measures to preventing the infection.

**Key words:** *Leptospira* spp., cattle, epidemiology, control, Northeastern Brazil.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	9
CAPÍTULO I .....	11
Leptospirose bovina: situação epidemiológica atual no Brasil .....	11
Agente Etiológico .....	13
Inquéritos sorológicos da leptospirose em bovinos no Brasil .....	14
Isolamentos de <i>Leptospira</i> spp. em bovinos no Brasil.....	16
Fatores de risco para leptospirose em bovinos .....	17
Patogenia da leptospirose em bovinos .....	18
Aspectos clínicos da leptospirose em bovinos .....	18
Diagnóstico.....	19
Controle e Profilaxia .....	20
Referências .....	21
CAPÍTULO II.....	26
Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas .....	26
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	29
<b>RESULTADOS</b> .....	32
<b>CONCLUSÃO</b> .....	34
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	41
ANEXOS.....	42



## LISTA DE TABELAS E QUADROS

### **Capítulo II – Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas**

Quadro 1. – Dados censitários da população bovina do Estado da Paraíba em 2013, segundo o circuito produtor. ....	37
Quadro 2 – Prevalência de focos de leptospirose bovina, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba. ....	37
Quadro 3 – Prevalência de bovinos sororreagentes para leptospirose, segundo o circuito produtor, no Estado da Paraíba. ....	38
Quadro 4 – Resultados da análise univariada dos possíveis fatores de risco para leptospirose bovina por qualquer sorovar no Estado da Paraíba para as variáveis com $p \leq 0,20$ .....	38
Quadro 5 – Modelo final da regressão logística multivariada de fatores de risco ( <i>odds ratio</i> ) para leptospirose bovina no Estado da Paraíba .....	39

## LISTA DE FIGURAS

### **Capítulo II – Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas**

Figura 1 – Mapa demonstrando a divisão do Estado da Paraíba em circuitos produtores..... 37

## INTRODUÇÃO GERAL

1  
2  
3  
4 A leptospirose é uma zoonose bacteriana causada por espiroquetas do gênero  
5 *Leptospira* (FAINE et al., 1999). Com vasta distribuição geográfica, é evidenciada em todo o  
6 mundo e particularmente prevalente em países de clima tropical e subtropical, principalmente  
7 nos períodos de altos níveis pluviométricos (ACHA; SZYFRES, 2001).

8 Nos animais de produção, a enfermidade está associada a abortamentos, nascimento de  
9 animais debilitados e natimortalidade. Nos bovinos, especificamente, as perdas econômicas  
10 causadas pela leptospirose estão ligadas às falhas reprodutivas como infertilidade e  
11 abortamento, bem como à queda da produção de carne e leite, além de custos com despesas de  
12 assistência veterinária, vacinas e testes laboratoriais (FAINE et al., 1999). Esses animais são  
13 considerados hospedeiros de manutenção da sorovariedade Hardjo, pois possuem elevada  
14 suscetibilidade à infecção, apresentando a doença na forma crônica, caracterizada por  
15 problemas reprodutivos (CHIARELI et al., 2012).

16 Os inquéritos sorológicos exercem um papel de relevância indiscutível no controle da  
17 leptospirose, pois permitem o conhecimento dos diferentes sorovares existentes em  
18 determinada região (FAINE et al., 1999). No Estado da Paraíba, embora haja descrição de  
19 estudos epidemiológicos para leptospirose bovina, ainda não foi conduzido inquérito com  
20 base em amostragem planejada, o que permite o levantamento adequado de indicadores  
21 epidemiológicos da infecção.

22 Esta Dissertação é composta por dois capítulos. No capítulo 1 é apresentada uma  
23 revisão de literatura sobre a leptospirose bovina, com enfoque principal na situação atual no  
24 Brasil; a revisão foi submetida ao periódico Arquivos do Instituto Biológico. O capítulo 2  
25 contempla um artigo científico submetido ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira, cujo  
26 objetivo foi a determinação da prevalência e dos fatores de risco para leptospirose bovina no  
27 Estado da Paraíba utilizando-se fêmeas bovinas com idade  $\geq 24$  meses selecionadas com base  
28 em amostra planejada.

29  
30  
31  
32  
33  
34

## 35 REFERÊNCIAS

36

37 ACHA, P.N.; SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a*  
38 *los animales. Bacteriosis y micosis*. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la  
39 Salud, v.1, 2001. 398 p.

40

41 CHIARELI, D.; COSATE, M.R.V.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C.; LOBATO, F.C.F.;  
42 SILVA, J.A.; TEIXEIRA, J.F.B.; MARCELINO, A.P. Controle da leptospirose em bovinos  
43 de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. *Pesquisa*  
44 *Veterinária Brasileira*, v. 32, n.7, p. 633-639, 2012.

45

46 FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira and leptospirosis*. 2 ed.  
47 Melbourne: MediSci, 1994.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

**CAPÍTULO I**

**Leptospirose bovina: situação epidemiológica atual no Brasil**

**(Artigo de revisão submetido ao periódico Arquivos do Instituto Biológico)**

## 1 LEPTOSPIROSE BOVINA: SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA ATUAL NO BRASIL

2  
3 **C.L.R.M. Pimenta<sup>1</sup>, L.G. Fernandes<sup>1</sup>, S.S. Azevedo<sup>1</sup>**4  
5 <sup>1</sup> Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Centro de Saúde e  
6 Tecnologia Rural (CSTR), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av.  
7 Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB, 58700-970, Brasil. E-mail:  
8 sergio.azevedo@pq.cnpq.br9  
10 **RESUMO**11  
12 A leptospirose bovina é uma enfermidade causada por bactérias do  
13 gênero *Leptospira* e está associada a prejuízos econômicos, principalmente relacionados a  
14 problemas reprodutivos como abortamentos, natimortalidade e diminuição da produção de  
15 leite. Ocorre com maior frequência em países de clima tropical e subtropical, principalmente  
16 nos períodos de altos níveis pluviométricos, devido a elevada sobrevivência do agente em  
17 ambientes úmidos. Vários inquéritos soroepidemiológicos recentemente conduzidos no Brasil  
18 apontam frequências de soropositividade variando de 12,42% a 98,8% em bovinos, sendo os  
19 sorovares Hardjo e Wolffi os mais frequentes. O teste de soroaglutinação microscópica é o  
20 método mais empregado para o diagnóstico da infecção. O controle da leptospirose é baseado  
21 no tratamento de animais infectados com antibioticoterapia, controle de roedores nas  
22 propriedades, eliminação do excesso de água e imunoprofilaxia com vacinas inativadas que  
23 contenham sorovares de leptospiros regionais.24  
25 PALAVRAS-CHAVE: *Leptospira* spp., bovinos, epidemiologia, controle, prevenção.26  
27 **ABSTRACT**28  
29 **BOVINE LEPTOSPIROSIS: CURRENT EPIDEMIOLOGICAL SITUATION IN**  
30 **BRAZIL.** Bovine leptospirosis is a disease caused by bacteria of the genus *Leptospira* and is  
31 associated with economic losses, mainly related to reproductive problems such as miscarriage,  
32 stillbirth and decreased milk production. It occurs most frequently in countries with tropical  
33 and subtropical climates, especially during periods of heavy rainfall, due to high survival of  
34 the agent in humid environments. Several seroepidemiological surveys recently conducted in

35 Brazil indicate frequencies of seropositivity ranging from 12.42% to 98.8 % in cattle, being  
36 Hardjo and Wolffi the most frequent serovars. The microscopic agglutination test is the  
37 method of choice for the diagnosis of the infection. Control of leptospirosis is based on  
38 treating infected animals with antibiotic therapy, rodent control in the herds, elimination of  
39 excess water and immunoprophylaxis with inactivated vaccines containing regional  
40 leptospire serovars.

41

42 KEY WORDS: *Leptospira* spp., cattle, epidemiology, control, prevention.

43

#### 44 **Agente Etiológico**

45

46 O agente etiológico da leptospirose pertence à ordem Spirochaetales, família  
47 Leptospiraceae e gênero *Leptospira*. Recentemente foram reclassificadas em 13 espécies  
48 patogênicas de Leptospiras: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L.*  
49 *interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L.*  
50 *weilii* e *L. wolffi*, distribuídas em mais de 260 sorovares. As espécies saprófitas incluem *L.*  
51 *biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, e contêm mais de 60  
52 sorovares. Estes sorovares são classificados de acordo com os epítomos em um mosaico de  
53 lipopolissacarídeo (LPS) de antígenos, enquanto sua especificidade depende da composição e  
54 orientação do açúcar que o compõe (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

55 São bactérias aeróbicas, helicoidais móveis (0,1 x 6 a 12 µm) com extremidades em  
56 forma de gancho, com multiplicação por divisão simples e o seu deslocamento realizado  
57 mediante movimentos giratórios de propulsão ao redor do eixo corporal (BEER, 1999;  
58 QUINN *et al.*, 2005; TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

59 As leptospiras patogênicas possuem um período de vida variável em águas que  
60 depende da temperatura, pH, salinidade e grau de poluição (BROD *et al.*, 2005). A temperatura  
61 ideal para o crescimento é de 28°C a 30°C, e o tempo de geração em cultura ou em animais  
62 varia de seis a oito horas (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). Exigem pH ótimo compreendido  
63 entre 7,2 e 7,6, com grande sensibilidade frente aos desvios desses valores de pH, possuindo  
64 acentuada sensibilidade frente a toda classe de desinfetantes que desviam o pH abaixo de 6 e  
65 acima de 11. Os agentes morrem rapidamente pela ação do calor, e a dessecação também pode  
66 provocar a morte entre 1,5 e 16 horas e são relativamente resistentes ao frio (BEER, 1999). No  
67 solo, na água e nos alimentos, conservam-se vivas durante 6 a 7 dias, sendo que em condições

68 favoráveis, isto é, águas estagnadas, lama dos canais e margens dos riachos lentos, podem  
69 viver saporitadamente, durante um tempo considerável (ENRIETTI, 2001).

70

### 71 **Inquéritos sorológicos da leptospirose em bovinos no Brasil**

72

73 HERMANN *et al.* (2012) analisaram 1.360 amostras de soros de bovinos, provenientes  
74 de 136 propriedades no Estado do Rio Grande do Sul, e encontraram 38,75% (527) de  
75 positividade. Os sorovares predominantes foram Hardjo amostra norma 396 (29,12%),  
76 Hebdomadis (2,21%), Wolffi (1,54%), Grippytyphosa (1,18%), Pomona (1,10%), Bratislava  
77 (0,88%), Tarassovi (0,44%), Sejroe (0,59%), Pyrogenes (0,51%), Autumnalis (0,44%),  
78 Fortbragg (0,29%), Australis (0,15%) e Icterohaemorrhagiae (0,07%).

79 SILVA *et al.* (2012) analisando 4.832 fêmeas bovinas, provenientes de 573  
80 propriedades localizadas no Estado do Maranhão, encontraram 380 (64,81%; IC 95% =  
81 61,10% - 68,35%) propriedades positivas. A sorovariedade Hardjo foi a mais encontrada  
82 (24,32%) entre os animais reagentes, seguida pelas sorovariedades Wolffi (22,00%), Patoc  
83 (12,42%), Shermani (8,85%), Grippytyphosa (8,21%), Hebdomadis (7,35%), Tarassovi  
84 (2,96%), Autumnalis (2,87%), Pyrogenes (2,58%), Pomona (2,26%), Copenhageni (1,59%),  
85 Australis (1,24%), Canicola (1,15%), Castellonis (1,05%), Icterohaemorrhagiae (0,48%),  
86 Panama (0,38%), Sentot (0,22%) e Andamana (0,06%).

87 OLIVEIRA *et al.* (2010) avaliaram 1.414 propriedades no Estado da Bahia e destas  
88 1.076 (77,9%; IC 95% = 75,7-80,0%) apresentaram pelo menos um animal reagente. O  
89 sorovar Hardjo foi o mais frequente com 34,49%, seguido pelos sorovares Shermani, Hardjo  
90 (Hardjobovis) e Wolffi, com 8,17%, 7,60% e 5,34%, respectivamente.

91 TONIN *et al.* (2010) analisaram 3.945 soros de bovinos no Estado de Santa Catarina, e  
92 destes 2.585 (65,53%) foram positivos. O sorovar Hardjo foi o mais frequente com 31,36%,  
93 seguido do sorovar Wolffi (10,9%), Butembo (8,36%), Grippytyphosa (6,01%),  
94 Icterohaemorrhagiae (2,94%), Bratislava (2,58%), Pomona (1,67%), Canicola (1,12%) e  
95 Australis (0,59%).

96 MARQUES *et al.* (2010) determinaram a prevalência de soroaglutininas anti-*Leptospira*  
97 spp. em bovinos no Estado de Goiás, utilizando 4.571 amostras colhidas em 715 propriedades  
98 e detectaram 62,2% de amostras positivas para pelo menos um dos dezesseis sorovares  
99 testados, com predominância de coaglutinações (40,24%), seguidas pelos sorovares Wolffi  
100 (14,53%), Hardjo (12,70%), Grippytyphosa (10,55%) e Shermani (6,55%).



101 VIANA *et al.* (2010) analisaram 330 amostras de soro bovino, provenientes de 55  
102 propriedades rurais no Estado do Espírito Santo, e encontram 12,42% dos animais reagentes  
103 para pelo menos um sorovar. O sorovar Hardjobovis apresentou-se como o mais frequente  
104 entre os soros reagentes com (12,42%), seguido de Hardjo amostra Bolívia (9,69%), Hardjo  
105 amostra Lagoa (9,09%), Hardjo Norma (6,36%), Hardjo OMS (6,06%) e Wolffi (2,42%).

106 FIGUEIREDO *et al.* (2009) avaliaram amostras de 2.573 animais, pertencentes a 178  
107 rebanhos do Mato Grosso do Sul, e encontraram 1.801 (98,8%) animais e 161 (96,5%)  
108 rebanhos positivos. Os sorovares mais frequentes foram o Hardjo (65,6%), seguido do sorovar  
109 Wolffi (12,3%).

110 CASTRO *et al.* (2008) analisaram 8.216 amostras sorológicas de animais provenientes  
111 de 1.021 propriedades do Estado de São Paulo, e observaram uma soroprevalência de 49,4%  
112 (IC 95% = 44,4%-54,4%) nas fêmeas bovinas e em 718 (71,3%; IC 95% = 68,5%-74%) das  
113 propriedades analisadas. O sorovar Hardjo foi o mais prevalente com (46%) e sua associação  
114 com o sorovar Wolffi (21%), seguido pelos sorovares Shermani (8,9%), Autumnalis (4,4%) e  
115 Gryppotyphosa (3,9%).

116 MINEIRO *et al.* (2007) realizaram estudo sorológico em 1.975 amostras pertinentes a 16  
117 rebanhos na região do Parnaíba no Piauí, destas 1.044 (52,9%) mostraram-se positivas a pelo  
118 menos um sorovar e todos os rebanhos apresentaram animais reagentes. Os sorovares com  
119 maiores frequências foram o Hardjo (39,5%), Wolffi (26,7%), e Hebdomadis (12,2%).

120 LAGE *et al.* (2007) realizando uma estimativa de frequência de infecção por *Leptospira*  
121 spp. em bovinos no Estado da Paraíba, examinaram 2.343 amostras e observaram 759 animais  
122 positivos e uma prevalência de 87,75% das propriedades com no mínimo uma amostra  
123 positiva. O sorovar mais frequente foi o Hardjo com (16,05%), seguido do Szwajizak (2,77%),  
124 Brastilava (2,30%), Tarassovi (1,62%), Wolffi (1,45%), Autumnalis (1,45%) e Hebdomadis  
125 (1,32%).

126 AGUIAR *et al.* (2006) investigaram a prevalência de leptospirose em 2.109 vacas em 86  
127 rebanhos no município de Monte Negro, Rondônia, e 1.114 vacas (52,8%) de 82 (95,3%)  
128 rebanhos, foram reagentes. Os sorovares mais frequentes foram: Hardjo, Wolffi, Shermani e  
129 Patoc com 14,5%, 12,3%, 10,8%, 7,9%, respectivamente.

130 WESCHENFELDER *et al.* (2005) realizaram um levantamento sorológico da leptospirose  
131 bovina no período de 1999 a 2001 no Rio Grande do Sul e testaram 5094 amostras, das quais  
132 1827 (35,8%) apresentaram resposta sorológica à pelo menos um dos sorovares testados.  
133 Observaram resposta sorológica aos sorovares Hardjo (66%), Wolffi (22%),  
134 Icterohaemorrhagiae (13%), Hebdomadis (12%), Bratislava (11%), Australis (8,7%), Pomona

135 (7,9%), Tarassovi (7%), Grippytyphosa (6,2%), Coopenhageni (5%), Pyrogenes (3,9%),  
136 Autumnalis (3%) e Canicola (3%).

137 As diferenças observadas nos resultados obtidos nos diversos inquéritos sorológicos da  
138 leptospirose efetuados em bovinos no Brasil podem variar de acordo com alguns fatores que  
139 influenciam na ocorrência da doença, tais como os reservatórios (domésticos, selvagens ou  
140 sinantrópicos) (ELLIS, 1994), práticas de manejo adotadas nos rebanhos, os sorovares  
141 utilizados como antígenos na sorologia, as condições climáticas e ambientais e as  
142 oportunidades de infecção direta ou indireta (ALVES *et al.*, 2000).

143

#### 144 **Isolamentos de *Leptospira* spp. em bovinos no Brasil**

145

146 O isolamento de leptospiros permite o diagnóstico definitivo e a identificação do  
147 sorovar infectante, e é um passo muito importante na epidemiologia e na profilaxia da doença.  
148 No Brasil, até o presente, há um número restrito de investigações que tiveram êxito no  
149 isolamento de leptospiros em bovinos.

150 SEIXAS NETO *et al.* (2010) coletaram amostras de 20 rins bovinos em três frigoríficos de  
151 Pelotas no Rio Grande do Sul e obtiveram um isolado a partir do rim de um bovino abatido,  
152 sendo denominado de Bov. 3 e considerado uma leptospira patogênica devido à amplificação  
153 do gene LipL32, porém a completa caracterização molecular do isolado não foi realizada.

154 ZACARIAS *et al.*(2008) coletaram 698 amostras de urina durante o abate em um  
155 frigorífico do Estado do Paraná, e destas cinco amostras de urina foram positivas e semeadas  
156 em meio EMJH modificado, sendo possível o crescimento de leptospiros em duas delas. As  
157 estirpes isoladas foram tipificadas como sendo os sorovares Canicola e Copenhageni.

158 MAGAJEVSKI *et al.* (2007) realizaram uma pesquisa em fetos de vacas abatidas no  
159 Estado de São Paulo e conseguiram através de PCR confirmar três isolamentos, dois isolados  
160 de rim e um de fígado para *Leptospira* spp.

161 MAGAJEVSKI *et al.* (2005) estudando amostras pareadas de sêmen e de urina de 10  
162 touros naturalmente infectados com *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo, detectaram DNA  
163 de leptospira em apenas uma amostra de urina e em nenhuma das amostras de sêmen. No  
164 isolamento em meio de cultura, cinco amostras foram positivas.

165 FREITAS *et al.* (2004) utilizando um protocolo diferenciado de cultivo, obtiveram o  
166 isolamento a partir da urina de dois bovinos naturalmente infectados.

167

## 168 Fatores de risco para leptospirose em bovinos

169

170 Fatores como tipo de ocupação, geografia, organização social e clima contribuem para  
171 a prevalência da leptospirose (FAINE *et al.*, 1999). A infecção ocorre com maior frequência em  
172 países de clima tropical e subtropical, principalmente nos períodos de altos níveis  
173 pluviométricos, devido à elevada sobrevivência da bactéria em ambientes úmidos (OLIVEIRA  
174 *et al.*, 2010). A persistência desta bactéria no meio e o elevado potencial de infecção são  
175 assegurados por diversos fatores, tais como a diversidade de sorovares, a multiplicidade de  
176 espécies hospedeiras que podem albergá-los e o relativo grau de sobrevivência no ambiente  
177 sem parasitismo, desde que haja elevado grau de umidade, proteção contra raios solares,  
178 temperaturas adequadas (em torno de 20°C) e valores de potencial hidrogeniônico (pH) neutro  
179 ou levemente alcalino, em torno de 7,2 a 7,4. Entretanto, as leptospiras patogênicas não se  
180 multiplicam fora do organismo dos hospedeiros (VASCONCELLOS, 1993).

181 Vários estudos foram conduzidos no Brasil com objetivo de identificar fatores de risco  
182 associados à infecção. HASHIMOTO *et al.* (2012) realizando um estudo de prevalência e fatores  
183 de risco para leptospirose em 1.880 fêmeas provenientes de 274 rebanhos no Estado do  
184 Paraná, identificaram como fatores de risco para qualquer sorovar a presença de  $\geq 43$  bovinos,  
185 compra de reprodutores, aluguel de pasto e presença de piquete de parição, enquanto que os  
186 fatores de risco para a infecção pelo sorovar Hardjo foram presença de  $\geq 43$  bovinos, compra  
187 de reprodutores, aluguel de pasto e presença de equinos. Os autores sugeriram que as medidas  
188 de controle devem ser norteadas na compra de animais com prévio diagnóstico, desestimular  
189 o aluguel de pastos entre propriedades, e evitar o uso de piquetes de parição sem um correto  
190 manejo sanitário.

191 SILVA *et al.* (2012) investigaram a prevalência e os fatores de risco da leptospirose  
192 bovina no Estado do Maranhão e identificaram as variáveis presença de equinos, presença de  
193 capivaras e rebanhos bovinos com 32 ou mais fêmeas adultas como fatores de risco.

194 OLIVEIRA *et al.* (2010) analisaram fatores de risco associados à leptospirose em 10.823  
195 fêmeas bovinas de 1.414 propriedades no Estado da Bahia e identificaram como fatores de  
196 risco para leptospirose por qualquer sorovar a presença de mais de 28 fêmeas bovinas em  
197 idade reprodutiva no rebanho, presença de cervídeos, compra de animais, abate de animais na  
198 própria fazenda e utilização de pastos compartilhados. Os fatores de risco para leptospirose  
199 pelo sorovar Hardjo foram a presença de suínos e a compra de animais.

200 FIGUEIREDO *et al.* (2009) examinaram 2.573 amostras de soro sanguíneo provenientes  
201 de 178 rebanhos de 22 municípios do Estado do Mato Grosso do Sul e verificaram que os

202 fatores de risco identificados e associados à infecção foram o tipo de exploração pecuária de  
203 corte e a raça Zebu.

204 CASTRO *et al.* (2008) estudando a soroprevalência de leptospirose bovina no Estado  
205 de São Paulo, observaram como fatores de risco para a enfermidade o tamanho do rebanho  
206 (OR=3,03), a compra de animais (OR=1,78), o compartilhamento de pastagem (OR=1,80), a  
207 criação de ovinos e suínos (OR=3,89) e o uso de inseminação artificial (OR= 2,50).

208 MARTINS (2005) estudaram a situação epidemiológica da leptospirose bovina em 2.279  
209 animais provenientes de 86 propriedades rurais do município de Pirassununga, em São Paulo,  
210 e concluíram que ter mais de 21 cabeças no rebanho (OR = 14,354; IC 95% = 1,535 -  
211 134,215) e presença de cocho com sal mineral (OR= 6,537; IC95%=1,008 -42,397) foram  
212 fatores de risco para leptospirose por qualquer sorovariedade.

213

#### 214 **Patogenia da leptospirose em bovinos**

215

216 As portas de entrada da bactéria são a pele lesada, mucosas, ou até mesmo através da pele  
217 integra. Após penetrarem no organismo, as leptospirosas se multiplicam no interstício e nos  
218 humores orgânicos, caracterizando um quadro agudo septicêmico, chamado de leptospiremia  
219 (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). Esta fase aguda dura, em geral, de dois a três dias, ocorrendo  
220 uma fase febril discreta e, no quarto dia, as leptospirosas estão presentes nos rins onde se  
221 localizam no lúmen dos túbulos proximais, causando nefrite intersticial (CORRÊA; CORRÊA,  
222 1992). Com o desaparecimento completo da bactéria na circulação, constitui-se a fase imune,  
223 que é caracterizada pelo surgimento de anticorpos (LEVETT, 2001; MARINHO *et al.*, 2003).

224 Em animais que sobrevivem à fase aguda, as leptospirosas persistem em sítios  
225 imunologicamente protegidos, como os túbulos proximais, câmara anterior do olho e trato  
226 genital (SULLIVAN, 1974). A leptospirose tem início entre o sétimo e o décimo dia da  
227 evolução da doença. Nesta fase, ocorre a eliminação para o meio exterior de enormes  
228 quantidades de leptospirosas, especialmente nos primeiros meses de infecção, depois diminui e  
229 cessa como um todo (ACHA; SZYFRES, 2001).

230

#### 231 **Aspectos clínicos da leptospirose em bovinos**

232

233 Os sinais clínicos de leptospirose em bovinos vão desde uma forma totalmente  
234 inaparente até uma forma aguda, febril e severa. Os sintomas clínicos não são específicos ou

235 patognomônicos e a severidade da doença dependem da idade e da imunidade do animal, do  
236 sorovar infectante, da concentração e virulência do agente (FAINE *et al.*, 1999).

237       Nos bovinos, em casos mais graves, tem sido observada febre por três a sete dias,  
238 acompanhada de anorexia, depressão, discreta diarreia a às vezes hemoglobinúria e paresia do  
239 rúmen. Nos bezerros há letargia, febre, anorexia e discreta anemia e alguns animais podem  
240 apresentar rigidez dos membros posteriores (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Em vacas os sinais  
241 clínicos de leptospirose incluem abortamentos, natimortos, mumificação fetal, bezerros fracos  
242 ou agalactia (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). Bovinos infectados com os sorovares  
243 Grippotyphosa e Pomona geralmente apresentam quadro agudo, com manifestações clínicas  
244 aparentes; já na infecção pelo sorovar Hardjo ocorre doença crônica e subclínica associada a  
245 problemas reprodutivos (VARGES, 2009).

246

## 247 **Diagnóstico**

248

249       Devido à grande variedade de sinais clínicos, o diagnóstico da leptospirose pode ser  
250 confirmado por diferentes métodos laboratoriais baseados na detecção de anticorpos, ou por  
251 métodos que revelam a presença do microrganismo ou do seu ácido nucleico (FAINE *et al.*,  
252 1999; LEVETT, 2001). Para a solicitação dos exames laboratoriais é importante que se  
253 considere que a doença apresenta comportamento bifásico. Na fase inicial, septicêmica, as  
254 leptospiras podem ser encontradas no sangue, líquido, e na maioria dos tecidos. Na fase  
255 crônica, devido ao aparecimento dos anticorpos séricos a presença das leptospiras ficará  
256 restrita nos locais de privilégio imunológico e as leptospiras passarão a ter como via de  
257 eliminação a urina, sêmen e as secreções vaginais.

258       A reação de soroaglutinação microscópica (SAM) é o teste recomendado pela  
259 Organização Mundial de Saúde (OMS) para o diagnóstico da leptospirose. Os anticorpos  
260 formados no animal são dirigidos contra o sorovar específico; entretanto, existem reações  
261 cruzadas entre diferentes sorovares e, assim, o animal pode ser reagente a vários sorovares  
262 simultaneamente, dificultando a identificação do sorovar mais prevalente, responsável pela  
263 doença (HAGIWARA, 2003).

264       O exame direto em microscopia de campo escuro pode ser utilizado durante a  
265 primeira semana de infecção até os dez dias (fase aguda), especialmente entre três e sete dias,  
266 uma vez que as leptospiras podem ser visualizadas, utilizando-se sangue, exsudato peritoneal,  
267 pleural ou urina. As vantagens da observação direta são a rapidez na obtenção de espécimes  
268 viáveis, o curto período (três a sete dias pós-infecção) em que provavelmente encontra-se um

269 resultado positivo; por outro lado, a interpretação subjetiva dos resultados é uma  
270 desvantagem, visto que coleções de fibrina e proteína em preparações a fresco podem ser  
271 confundidas com leptospiras (FAINE *et al.*, 1999). Em alguns casos a visualização direta das  
272 leptospiras por microscopia de campo escuro ou contraste de fase não é um método  
273 recomendado devido ao grande número de artefatos que podem ser confundidos com  
274 bactérias, resultando em diagnóstico falso-positivo (LEVETT, 2001).

275 Métodos de inoculação em animais são particularmente úteis para o isolamento de cepas  
276 partir de tecidos ou fluidos corporais que contenham microrganismos (MAHON;  
277 MANUSELIS, 1995). O hamster (*Mesocricetus auratus*) são os animais de escolha para a  
278 reprodução experimental da doença e a inoculação pela via intraperitoneal é a mais eficiente  
279 para o estabelecimento e evolução da doença (ENRIETTI, 2001; MACEDO *et al.*, 2004).

280 O isolamento bacteriano é o método definitivo de diagnóstico. A urina deve ser  
281 coletada após aplicação de diurético para aumentar a filtração glomerular, liberando mais  
282 leptospiras e diluindo a urina, aumentando a sobrevivência das leptospiras. Porém é um  
283 processo demorado, decorrente principalmente da baixa taxa de crescimento, muitas vezes  
284 aliado à contaminação concomitante com microrganismos de crescimento mais rápido, e  
285 rigorosas exigências da cultura *in vitro* desta bactéria (GROOMS; BOLIN, 2005; MACHRY *et al.*,  
286 2010).

287

## 288 **Controle e Profilaxia**

289

290 O controle da leptospirose bovina está intimamente ligado às medidas aplicadas aos  
291 diversos elos da cadeia de transmissão: correto diagnóstico e tratamento adequado (fonte de  
292 infecção), implantação de medidas de manejo aplicadas aos animais e ao ambiente juntamente  
293 com o controle de roedores sinantrópicos (vias de transmissão) e imunoprofilaxia  
294 (susceptíveis) (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

295 Recentemente, MUGHINI-GRAS *et al.* (2013) relataram o controle de dois surtos de  
296 leptospirose em rebanho bovinos infectados pelo sorovar Hardjo com vacinação dos animais  
297 em conjunto com medidas de biossegurança adequadas e quimioprofilaxia no rebanho.

298 As medidas sanitárias adotadas para minimizar a propagação da leptospirose bovina  
299 incluem: fornecer água e alimentos limpos, drenagem das áreas alagadiças e higiene das  
300 instalações e equipamentos (ROLIM *et al.*, 2012).

301 Segundo HASHIMOTO *et al.* (2012) para reduzir de forma considerável o risco de  
302 introdução de *Leptospira* spp., os rebanhos livres da infecção devem evitar tanto o contato

303 direto como o indireto com bovinos e outras espécies animais oriundos de locais que possuem  
304 histórico sanitário desconhecido, fazendo-se necessário evitar essa contaminação através de  
305 quarentena nos animais, exames sorológicos periódicos e utilização de inseminação artificial.

306 A vacinação sistemática do rebanho, tratamento de animais doentes com  
307 antibioticoterapia, controle de roedores nas propriedades e eliminação do excesso de água são  
308 as formas de controle mais adotadas na prática veterinária (DE NARDI JÚNIOR, 2005).

309 A vacinação é a medida sanitária mais importante, pois proporciona uma imunidade  
310 humoral nos animais de forma que estes estejam protegidos contra a manifestação dos sinais  
311 clínicos da leptospirose, impedindo que a enfermidade seja transmitida entre os animais e os  
312 seres humanos. Contudo, deve haver a identificação da variante sorológica, uma vez que a  
313 imunidade adquirida é sorovariedade específica, então a imunização protege somente contra  
314 as sorovariedades homólogas ou semelhantes antigenicamente (ARDUINO *et al.*, 2009). A  
315 alternativa mais eficaz para controlar a leptospirose em bovinos é o uso de vacina elaborada  
316 com a sorovariedade específica prevalente na propriedade (ARAUJO *et al.*, 2005). CHIARELI *et*  
317 *al.* (2012) isolaram a sorovariedade existente a partir da urina de vacas sorologicamente  
318 positivas e elaboraram uma vacina experimental com esta sorovariedade para avaliar a  
319 eficiência do programa de vacinação, por um período de dois anos. Os autores concluíram que  
320 o uso da vacina foi eficaz no controle da leptospirose do rebanho no período de dois anos,  
321 pois os resultados da sorologia revelaram ausência de animais positivos na última prova  
322 realizada.

323

## 324 Referências

325

326 ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*,  
327 Amsterdam, v.140, n.3-4, p.287-296, 2010.

328

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

333

334 ALVES, C. J.; ANDRADE, J. S. L.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; AZEVEDO,  
335 S. S.; SANTOS, F. A. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em cães no  
336 município de Patos-PB, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.7, n.2, p.17-21,  
337 2000.

338

339 ARAUJO, V.E.M.; MOREIRA, E.C.; NAVEDA, L.A.B.; SILVA, J.A; CONTRERAS, R.L.  
340 Frequência de aglutininas anti-*Leptospira* interrogans em soros sanguíneos de bovinos em

- 341 Minas Gerais, de 1980 a 2202. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57,  
342 n.4, p.430-435, 2005.
- 343
- 344 ARDUINO, G.G.C.; GIRIO, R.J.S.; MAGAJEVSKI, F.S.; PEREIRA, G.T. Títulos de  
345 anticorpos aglutinantes induzidos por vacinas comerciais contra leptospirose bovina. *Pesquisa*  
346 *Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 7, p.575-582, 2009.
- 347
- 348 BEER, J. *Doenças infecciosas em animais domésticos*. 2. ed. São Paulo: Roca, 1999. 380p.
- 349
- 350 BROD, C. S.; ALEIXO, J. A. G.; JOUGLARD, S. D. D.; FERNANDES, C. P. H.;  
351 TEIXEIRA, J. L. R. S.; DELLAGOSTIN, O. A. Evidência do cão como reservatório da  
352 leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em  
353 inquérito. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, São Paulo, v. 38, n. 4, 2005.
- 354
- 355 CASTRO, V.; AZEVEDO, S.S.; GOTTI, T.B.; BATISTA, C.S.A.; GENTILI, J.; MORAIS,  
356 Z.M.; SOUZA, G.O.; VASCONCELLOS, S.A.; GENOVEZ, M.E. Soroprevalência da lep-  
357 tospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos*  
358 *Instituto Biológico*, São Paulo, v.75, n.1, p.3-11, 2008.
- 359
- 360 CHIARELI, D.; COSATE, M.R.V.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C.; LOBATO, F.C.F.;  
361 SILVA, J.A.; TEIXEIRA, J.F.B.; MARCELINO, A.P. Controle da leptospirose em bovinos  
362 de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. *Pesquisa*  
363 *Veterinária Brasileira*, v. 32, n.7, p. 633-639, 2012.
- 364
- 365 CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*.  
366 2.ed. Rio de Janeiro: Editora Médica Científica, 1992. 843p.
- 367
- 368 DE NARDI JÚNIOR, G. *Perfil sorológico de anticorpos anti-Leptospira spp. em búfalos*  
369 *(Bubalus bubalis) vacinadas com tipos de vacinas comerciais anti-leptospirose (Bacterina e*  
370 *Membrana externa)*. 2005. 89f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e  
371 Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São  
372 Paulo, São Paulo, 2005.
- 373
- 374 ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Veterinary Clinics of North*  
375 *America: Food Animal Practice*, v.10, n.3, p.463-478, 1994.
- 376
- 377 ENRIETTI, M.A. Contribuição ao Conhecimento da Incidência de Leptospiras em Murídeos,  
378 Caninos e Suínos no Paraná. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol. jubilee,  
379 p.311-342, 2001.
- 380
- 381 FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira and leptospirosis*. 2 ed.  
382 Melbourne: MediSci, 1999.
- 383
- 384 FIGUEIREDO, A.O.; PELLEGRIN, A.O.; GONÇALVES, V.S.P.; FREITAS, E.B.;  
385 MONTEIRO, L.A.R.C.; OLIVEIRA, J.M.; OSÓRIO, A.L.A.R. Prevalência e fatores de risco  
386 para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.29,  
387 n.5, p.375-381, 2009.
- 388



- 389 FREITAS, J.C.; SILVA, F.G.; OLIVEIRA, R.C.; DELBEN, A.C.B.; MÜLLER, E.; ALVES,  
390 L.A.; TELES, P.S. Isolation of *Leptospira* spp. from dogs, bovine and swine naturally  
391 infected. *Ciência Rural*, v.34, n.3, p.853-856, 2004.  
392
- 393 GROOMS, D.L.; BOLIN, C.A. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus  
394 and *Leptospira* spp. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v.21, n.2,  
395 p.463-72, 2005.  
396
- 397 HAGIWARA, M. K. *Leptospirose canina*. São Paulo: Pfizer Saúde Animal (Boletim  
398 Técnico). 2003. 6p.  
399
- 400 HASHIMOTO, V.Y.; DIAS, J.A.; SPOHR, K.A.H.; SILVA, M.C.P.; ANDRADE, M.G.B.;  
401 MULLER, E.E.; FREITAS, J.C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp.  
402 em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária*  
403 *Brasileira*, v. 32, n.2, p. 99-105, 2012.  
404
- 405 HERMANN, G.P.; RODRIGUES, R.O.; MACHADO, G.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C.;  
406 LEITE, R.C. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas Mesorregiões Sudeste e  
407 Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, v.13, n.1, p. 131-  
408 138, 2012.  
409
- 410 LAGE, A.P.; LEITE, R. DE M.H.; THOMPSON, J.A.; BANDEIRA, D.A.; HERRMANN,  
411 G.P.C.; MOREIRA, C.; GONÇALVES, V.S.P. Serology for leptospira sp. in cattle of the  
412 State of Paraíba, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.74, n.3, p.185-190, 2007.  
413
- 414 LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, p.296–326, 2001  
415
- 416 MACEDO, N. A.; MORAIS, Z. M.; CAMARGO, C. R. A.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S.S.;  
417 NÜRMBERGER JÚNIOR, R.; VASCONCELLOS, S. A. Influência da via de inoculação  
418 sobre o estabelecimento e evolução da leptospirose em hamsters (*Mesocricetus auratus*)  
419 experimentalmente infectados com *Leptospira interrogans* sorovar Pomona. *Brazilian Journal*  
420 *of Veterinary Research and Animal Science*, v.41, n.2, 2004.  
421
- 422 MACHRY, L.; RIBEIRO, R. L.; VITAL-BRAZIL, J.M.; BALASSIANO, I. T.; OLIVEIRA,  
423 I. C. M.; AVELAR, K. E. S.; PEREIRA, M.M. Caracterização de cepas de referência de  
424 *Leptospira* sp utilizando a técnica de pulsed field gel electrophoresis. *Revista da Sociedade*  
425 *Brasileira de Medicina Tropical*, vol.43, n.2, p.166-169, 2010.  
426
- 427 MAGAJEVSKI, F.M.; GÍRIO, R.J.S.; MATHIAS, L.A.; MYASHIRO, S.; GENOVEZ, M.E.;  
428 SCARCELLI, E.P. Detction of *Leptospira* spp. in the semen and urine of bulls serologically  
429 reactive to *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.36,  
430 p.434-437, 2005.  
431
- 432 MAGAJEVSKI, R.J.; GÍRIO, S.; MEIRELLES, R.B. Pesquisa de leptospira em fetos de  
433 vacas abatidas no Estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.74, n.2,  
434 p.67-72, 2007.  
435
- 436 MAHON, C.R.; MANUSELIS, G.Jr. *Textbook of diagnostic microbiology*. United States of  
437 America: W. B. Saunders Company, 1995.  
438

- 439 MARINHO, M.; LANGONI, H.; OLIVEIRA, S.L.; CARREIRA, R.; SILVIA, H.V.P.;  
440 LUVIZOTO, M.C. Resposta humoral, recuperação bacteriana e lesões histológicas em  
441 camundongos geneticamente selecionados para bons e maus produtores de anticorpos e  
442 *Balb/c*, frente à infecção por *Leptospira interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae. *Pesquisa*  
443 *Veterinária Brasileira*, v.23, n. 1, p.5-12, 2003.
- 444  
445 MARQUES, A. E.; ROCHA, W. V.; DE BRITO, M. E. D.; FIORAVANTI, M. C. S.;  
446 PARREIRA, I.M.; JAYME, V. S. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e aspectos  
447 epidemiológicos da infecção em bovinos do Estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, v.  
448 11, n. 3, p. 607-617, 2010.
- 449  
450 MARTINS, L.S. *Situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana na área*  
451 *rural do município de Pirassununga, SP*. 2005. 79f. Tese (Doutorado em Medicina  
452 Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo,  
453 São Paulo, 2005.
- 454  
455 MINEIRO, A.L.B.B.; BEZERRA, E. E. A.; VASCONCELLOS, S.A.; COSTA, F. A. L.;  
456 MACEDO, N. A. Infecção por *Leptospira* em bovinos e sua associação com transtornos  
457 reprodutivos e condições climáticas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*,  
458 v.59, n.5, p.1103-1109, 2007.
- 459  
460 MUGHINI-GRAS, L.; BONFANTI, L; NATALE, A.; COMIN, A.; FERRONATO, A.; LA  
461 GRECA, E.; PATREGNANI, T.; LUCCHESI, L.; MARANGON S. Application of an  
462 integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds.  
463 *Epidemiology and Infection*, 7 Aug, pp1-10, 2013.
- 464  
465 OLIVEIRA, F.C.S.; AZEVEDO S.S.; PINHEIRO, S.R., BATISTA, C.S.A.; MORAES, Z.M;  
466 SOUZA, G.O.; GONÇALES, A.P.; VASCONCELLOS, S.A. Fatores de risco para a  
467 leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil.  
468 *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.5, p.398-402, 2010.
- 469  
470 QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E. *Microbiologia veterinária e doenças*  
471 *infecciosas*. Porto alegre: Artmed, 2005.
- 472  
473 ROLIM, M.B.Q.; BARROS, S.E.M.; SILVA, V.C.L.; SANTANA, V.L.A.; SOUZA, M.A.;  
474 HARROP, M.H.V.; MOTA, R.A.; OLIVEIRA, M.A.L., MOURA, A.P.B.L.; LIMA, P.F.  
475 Leptospirose em bovinos: revisão. *Medicina Veterinária*, Recife, v.6, n.2, p.26-31, 2012.
- 476  
477 SILVA, F.S.; CONCEIÇÃO, W.L.F.; FAGLIARI, J.J.; GIRIO, R.J.S.; DIAS, R.A.; BORBA,  
478 M.R.; MATHIAS L.A. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do  
479 Maranhão. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n.4, p.303-312, 2012.
- 480  
481 SULLIVAN, N.D. Leptospirosis in animals and man. *Australian Veterinary Journal*, v. 50, n.5,  
482 p. 216-223, 1974.
- 483  
484 VIANA, K. F.; ZANINI, M. S.; MOREIRA, E. C. Frequência de anticorpos anti-*Leptospira*  
485 spp em rebanhos bovinos da bacia leiteira do Caparaó, Estado do Espírito Santo. *Archives of*  
486 *Veterinary Science*, n.2, p.100-106, 2010.
- 487

- 488 TONIN, A. A.; AZEVEDO, M. I.; ESCOBAR, T. P.; CASASSOLA, I.; SANTOS, L. G.;  
489 SILVA, A. S.; MARTINS, J. L. R.; SCHAEFER, P. C.; BADKE, M. R. T. Leptospirose  
490 bovina: aumento na incidência da *Leptospira interrogans* sorovar Butembo no rebanho do  
491 Estado de Santa Catarina, Brasil. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.4, n.4, p.294-297, 2010.  
492
- 493 TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. Atheneu, 5ª ed, São Paulo, 2008.  
494
- 495 VARGES, R. G. Correção de fatores de manejo como ferramenta complementar ao controle  
496 de leptospirose em um rebanho bovino no estado do Rio de Janeiro, Brasil. 92f. Tese  
497 (Doutorado) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.  
498
- 499 VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose animal. In: III ENCONTRO NACIONAL EM  
500 LEPTOSPIROSE, Rio de Janeiro: 1993. p.62-65.  
501
- 502 WESCHENFELDER, S.; PIRES NETO, J.A.; SCHMIDT, V. Levantamento sorológico e  
503 distribuição geográfica da leptospirose em bovinos no Rio Grande do Sul, no período de 1999  
504 a 2001. *Pesquisa Agropecuária Gaúcha*, v.11, n.1-2, p 89-93, 2005.  
505
- 506 WOHL, J.S. Canine leptospirosis. *Compendium of Continuing Education Practicing*  
507 *Veterinarian*, v.18, n.11, p.1215-1224, 1996.  
508
- 509 ZACARIAS, F.G.S.; VASCONCELLOS, S.A.; ANZAI, E.K.; GIRALDI, N.; FREITAS, J.C.;  
510 HARTSKEERL, R. Isolation of *Leptospira* serovars Canicola and Copenhageni from cattle  
511 urine in the state of Paraná, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 39, p. 744-748,  
512 2008.

## **CAPÍTULO II**

**Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas**

**(Artigo científico submetido ao periódico Pesquisa Veterinária Brasileira)**

## **Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas<sup>1</sup>**

Carla L.R.M. Pimenta<sup>2</sup>, Vanessa Castro<sup>3</sup>, Inácio J. Clementino<sup>2</sup>, Clebert J. Alves<sup>2</sup>, Leíse G. Fernandes<sup>2</sup>, Arthur W.L. Brasil<sup>2</sup>, Carolina S.A.B. Santos<sup>2</sup>, Sérgio S. Azevedo<sup>2\*</sup>

**ABSTRACT.-** Pimenta C.L.R.M., Castro V., Clementino I.J., Alves C.J., Fernandes L.G., Brasil A.W.L., Santos C.A.S.B & Azevedo S.S. 2014. [**Bovine leptospirosis in Paraíba State: prevalence and risk factors associated with the occurrence of positive herds.**] Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):000-000. Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Av. Universitária s/n, Caixa Postal 61, Santa Cecília, Patos, PB 58700-970, Brasil. E-mail: [sergio@vps.fmvz.usp.br](mailto:sergio@vps.fmvz.usp.br)

Herd-level and animal-level prevalences were determined and risk factors associated with leptospirosis were identified in cows in the State of Paraíba, Northeastern Brazil. A total of 2,317 cows with  $\geq 24$  months of age from 450 herds were randomly sampled. For the serological diagnosis of *Leptospira* spp. infection, the microscopic agglutination test (MAT) was carried out using 24 serovars as antigens. A herd was considered positive when presented at least one seropositive animal. Of the 450 investigated herds, 398 (89.7%; 95% CI = 86.6% – 92.2%) presented at least one reactant animal at MAT to any serovar, and 1,349 (61.1%; 95% CI = 56.6% – 65.4%) animals were seropositive. Serovar Hardjo was the most prevalent in herds and animals, with frequencies of 58.17% and 54.69%, respectively. Location of the herd in the Sertão (odds ratio = 3.20;  $p = 0.003$ ), presence of wildlife (odds ratio = 2.89;  $p = 0.005$ ), not cooling milk (odds ratio = 3.83;  $p = 0.034$ ) and presence of flooded pastures (odds ratio = 2.36;  $p < 0.001$ ) were identified as risk factors for herd-level prevalence. It is concluded that leptospirosis is widely spread in cattle in State of Paraíba, which reinforces the need for increased prevention and control measures, such as

---

<sup>1</sup>Recebido em.....

Aceito para publicação em.....

<sup>2</sup> Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Caixa Postal 61, Santa Cecília, Patos, PB 58700-970, Brasil. \*Autor para correspondência: [sergio@vps.fmvz.usp.br](mailto:sergio@vps.fmvz.usp.br)

<sup>3</sup>Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Instituto Biológico, São Paulo, SP04014-002, Brasil.

vaccination of herds. According to the results of risk factors analysis it is suggested that the sanitary control before the introduction of animals, drainage of wetlands and improvement in management conditions are important measures to preventing the infection.

INDEX TERMS: *Leptospira* spp., cattle, epidemiology, control, Northeastern Brazil.

**RESUMO.-** Foram determinadas as prevalências de propriedades positivas e de animais positivos e identificados fatores de risco associados à leptospirose em vacas no Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Foram aleatoriamente selecionadas 2.317 vacas com idade  $\geq 24$  meses, procedentes de 450 propriedades. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi empregado o teste de soroaglutinação microscópica (SAM), utilizando-se 24 sorovares como antígenos. Uma propriedade foi considerada positiva quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. Das 450 propriedades investigadas 398 (89,7%; IC 95% = 86,6% – 92,2%) apresentaram pelo menos um animal reagente na SAM para qualquer sorovar, e 1.349 (61,1%; IC 95% = 56,6% – 65,4%) animais foram soropositivos. O sorovar Hardjo foi o mais prevalente nas propriedades e nos animais, com frequências de 58,17% e 54,69%, respectivamente. Propriedade ser localizada no Sertão (*odds ratio* = 3,20;  $p = 0,003$ ), presença de animais silvestres (*odds ratio* = 2,89;  $p = 0,005$ ), não resfriar o leite (*odds ratio* = 3,83;  $p = 0,034$ ) e presença de pastos alagados (*odds ratio* = 2,36;  $p < 0,001$ ) foram identificados como fatores de riscos associados à prevalência de propriedades positivas. Conclui-se que a leptospirose encontra-se amplamente difundida em bovinos do Estado da Paraíba, o que reforça a necessidade de intensificação de medidas de prevenção e controle, como a vacinação dos rebanhos. De acordo com os resultados da análise de fatores de risco, sugere-se que o controle sanitário antes da introdução de animais, drenagem de áreas alagadas e melhora nas condições de manejo são importantes medidas para a prevenção da infecção.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Leptospira* spp., bovinos, epidemiologia, controle, Nordeste do Brasil.

## INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose bacteriana causada por espiroquetas do gênero *Leptospira* (Faine et al. 1999). Com vasta distribuição geográfica, é evidenciada em todo o mundo e particularmente prevalente em países de clima tropical e subtropical, principalmente nos períodos de altos níveis pluviométricos (Acha & Szyfres 2001).

Nos animais de produção, a enfermidade está associada a abortamentos, nascimento de animais debilitados e natimortalidade. Nos bovinos as perdas econômicas causadas pela leptospirose estão ligadas às falhas reprodutivas como infertilidade e abortamento, bem como à queda da produção de carne e leite, além de custos com despesas de assistência veterinária, vacinas e testes laboratoriais (Faine et al. 1999). Esses animais são considerados hospedeiros de manutenção da sorovariedade Hardjo, pois possuem elevada suscetibilidade à infecção, apresentando a doença na forma crônica, caracterizada por problemas reprodutivos (Chiareli et al. 2012).

Os inquéritos sorológicos com determinação dos fatores de risco exercem um papel de relevância indiscutível no controle da leptospirose, pois permitem o conhecimento dos diferentes sorovares existentes em determinada região (Faine et al. 1999), bem como as condições associadas à maior ocorrência da infecção, o que possibilita a elaboração de medidas de prevenção e controle e a aplicação das mesmas de maneira correta e eficaz. No Estado da Paraíba, embora haja descrição de estudos epidemiológicos para leptospirose bovina, ainda não foi conduzido inquérito com base em amostragem planejada, o que permite o levantamento adequado de indicadores epidemiológicos da infecção.

Dessa maneira, o objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de propriedades positivas e de bovinos soropositivos para *Leptospira* spp. no Estado da Paraíba, bem como identificar os fatores de risco associados à ocorrência de focos.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Divisão do Estado da Paraíba em estratos amostrais:** O Estado da Paraíba foi dividido em três circuitos produtores (estratos amostrais): circuito produtor 1 (Mesorregião do Sertão), circuito produtor 2 (Mesorregião da Borborema) e circuito produtor 3 (Mesorregiões da Zona da Mata e Agreste) (Fig. 1). Para essa estratificação, foi considerada a capacidade operacional do Serviço de Defesa Agropecuária do Estado da Paraíba para a condução do trabalho de campo, baseando-se nas áreas de atuação das suas unidades regionais.

**População de estudo:** Foi utilizado o banco de soro e o banco de dados oriundos do estudo da situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado da Paraíba, realizado como parte do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) e planejado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em colaboração com o Serviço de Defesa Agropecuária do Estado da Paraíba. A amostragem foi delineada para a determinação da prevalência de propriedades positivas e de animais soropositivos, sendo selecionadas inicialmente

as unidades primárias de amostragem (propriedades), e dentro delas, as unidades secundárias (animais), conforme metodologia descrita por Silva et al. (2012).

Foram analisados 2.317 soros de fêmeas bovinas com idade igual ou superior a 24 meses, provenientes de 450 propriedades, sorteadas dentro dos três estratos amostrais do Estado. Em propriedades com até 99 fêmeas com idade  $\geq$  24 meses foram amostradas 10 fêmeas; em propriedades com 100 fêmeas ou mais foram amostradas 15; e naquelas que apresentavam menos de 10 fêmeas todas foram amostradas.

**Trabalho de campo:** O trabalho de campo foi desenvolvido no período de abril a novembro de 2012. As atividades de campo, realizadas por médicos veterinários e técnicos do Serviço de Defesa Agropecuária do Estado da Paraíba, incluíram a colheita de sangue e aplicação de questionário epidemiológico. As amostras de sangue foram colhidas de fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, em volumes de 10 mL, pela punção da veia jugular com agulha descartável e tubo com vácuo (sem anticoagulante) com capacidade de 15 mL. Após o dessoramento, o soro foi transferido para microtubo e congelado. O transporte das amostras para o laboratório foi feito em caixas de isopor com gelo, com o formulário epidemiológico envolvido em plástico e fixado no lado externo da tampa.

**Diagnóstico sorológico:** O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado com a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), de acordo com Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973), utilizando coleção de antígenos vivos que incluiu os sorovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Grippotyphosa, Wolffi, Hardjo, Andamana, Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Hebdomadis, Javanica, Panama, Patoc, Pyrogenes, Shermani, Tarassovi, Whitcombi e Sentot. Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram titulados pelo exame de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo. Os antígenos foram examinados ao microscópio de campo escuro, previamente aos testes, a fim de verificar a mobilidade e a presença de auto aglutinação ou de contaminantes. Uma propriedade foi considerada positiva (foco) quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. No animal, o provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título, e na propriedade, o sorovar mais frequente foi aquele que apresentou maior número de reações positivas. Os animais que apresentaram dois ou mais sorovares com títulos idênticos foram considerados positivos, porém desconsiderados para o cálculo do sorovar mais frequente.



**Cálculo das prevalências:** Os cálculos das prevalências de focos e de animais no Estado, e das prevalências de animais dentro das regiões foram feitos de forma ponderada, conforme preconizado por Dohoo et al. (2003).

O peso de cada propriedade no cálculo da prevalência de focos no Estado foi dado por:

$$Peso = \frac{\text{propriedades no circuito}}{\text{propriedades amostradas no circuito}}$$

O peso de cada animal no cálculo da prevalência de animais no Estado foi dado por:

$$Peso = \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses na propriedade}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses amostradas na propriedade}} \times \frac{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses no circuito}}{\text{fêmeas} \geq 24 \text{ meses nas propriedades amostradas na região}}$$

Na expressão acima, o primeiro termo refere-se ao peso de cada animal no cálculo da prevalência de animais dentro de região.

**Comparação das prevalências e análise de fatores de risco:** Para a comparação dos circuitos produtores no relativo à prevalência de focos e de animais soropositivos foi utilizado o teste de qui-quadrado. Para a análise de fatores de risco, foram formados dois grupos de propriedades - focos e não focos - que, quando comparados entre si quanto às variáveis pesquisadas no questionário epidemiológico, permitiu medir a força da associação dessas variáveis com a presença da leptospirose. As variáveis analisadas foram: circuito produtor, tipo de exploração (corte, leite e misto), tipo de criação (confinado, semiconfinado, extensivo), número de ordenhas, uso de inseminação artificial, raça predominante, número de bovinos na propriedade, presença de outras espécies domésticas, presença de animais silvestres, compra de animais, resfriamento do leite, aluguel de pastos, utilização de pasto compartilhado, presença de pastos alagados, utilização de piquete de parição e assistência veterinária.

A análise de fatores de risco foi efetuada em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise univariável, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (condição sanitária da propriedade). As que apresentaram um valor de  $p \leq 0,2$  pelo teste de qui-quadrado foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se a regressão logística múltipla (Hosmer & Lemeshow 2000). O ajuste do modelo final foi verificado com o teste de Hosmer e Lemeshow, no qual um  $p > 0,05$  indica que o modelo está ajustado. A colinearidade entre

as variáveis preditoras foi verificada por meio de análise de correlação e, para aquelas que apresentaram forte colinearidade (coeficiente de correlação > 0,9), uma das duas foi excluída da análise múltipla de acordo com a plausibilidade biológica (Dohoo et al. 1996). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. As análises foram feitas considerando reações sorológicas para qualquer sorovar e para o sorovar mais prevalente. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

## RESULTADOS

No Quadro 1 são apresentados os dados censitários e da amostra estudada em cada um dos circuitos produtores. No Quadro 2 são apresentados os resultados de prevalência de focos no Estado e nos circuitos. A prevalência de focos de leptospirose bovina no Estado da Paraíba foi de 89,7% (IC 95% = 86,6% - 92,2%). O circuito produtor 1 foi o que apresentou maior prevalência de propriedades positivas (93,4%; IC 95% = 88,1% - 96,4%), seguido dos circuitos 3 (89,3%; IC 95% = 83,3% - 93,4%) e 2 (82,6%; IC 95% = 75,6% - 87,9%). Houve diferença significativa apenas entre os circuitos 1 e 2 ( $p = 0,007$ ). Os sorovares mais frequentes por propriedade foram Hardjo, Icterohaemorrhagiae e Australis com 58,17%, 17,32% e 4,58%, respectivamente.

Os resultados de prevalência de bovinos sororreagentes são apresentados no Quadro 3. A prevalência no Estado foi de 61,1% (IC 95% = 56,6% - 65,4%). O circuito produtor 3 foi o que apresentou maior prevalência (63,1%; IC 95% = 53,4% - 71,8%), seguido dos circuitos 1 (62,8%; IC 95% = 57,3% - 67,9%) e 2 (50,6%; IC 95% = 41,6% - 59,6%). Houve diferença significativa entre os circuitos 1 e 2 ( $p < 0,001$ ) e 2 e 3 ( $p < 0,0001$ ). Assim como nas propriedades, os sorovares mais frequentes por animais foram Hardjo, Icterohaemorrhagiae e Australis, com 54,69%, 13,28% e 4,92%, respectivamente.

No Quadro 4 são apresentados os resultados da análise univariável dos fatores de risco com as variáveis mais associadas ( $p \leq 0,2$ ), e no Quadro 5 observa-se o modelo final da regressão logística com os fatores de risco para qualquer sorovar. Propriedade ser localizada no Sertão (*odds ratio* = 3,20; IC 95% = 1,47 - 6,99), presença de animais silvestres (*odds ratio* = 2,89; IC 95% = 1,38 - 6,05) e não resfriar o leite produzido (*odds ratio* = 3,83; IC 95% = 1,11 - 13,32) foram identificados como fatores de risco. Também foi efetuada uma análise de fatores de risco apenas para o sorovar Hardjo (dados não apresentados), pela qual além das variáveis propriedade ser localizada no Sertão e não resfriar o leite produzido, a presença de pastos alagados (*odds ratio* = 2,36; IC 95% = 1,56 - 3,56;  $p < 0,001$ ) foi identificada como fator de risco. Os modelos finais apresentaram bom ajuste ( $p > 0,05$ ; teste de Hosmer e Lemeshow).

## DISCUSSÃO

As vacinas anti-leptospirose disponíveis no mercado são bacterinas inativadas baseadas na proteção dirigida ao antígeno LPS das leptospiros, ressaltando-se sua interferência na SAM por cerca de seis meses após a vacinação (De Nardi Jr et al. 2006), o que poderia resultar em reações falso-positivas no presente trabalho, uma vez que a informação de vacinação contra leptospirose não foi investigada. Porém, no Estado da Paraíba, a vacinação de bovinos contra leptospirose não é prática disseminada, fato que exclui uma possível interferência dos resultados da sorologia. Por outro lado, essa prática de não vacinar os rebanhos poderia justificar as altas prevalências (de propriedades positivas e de animais soropositivos) observada no presente trabalho. Levantamentos sorológicos recentes realizados no Brasil evidenciaram elevadas prevalências para *Leptospira* spp., como os de Oliveira et al. (2010), na Bahia, Castro et al. (2008), em São Paulo, e Silva et al. (2012), no Maranhão, que relataram prevalências de 77,9%, 71,3% e 64,81%, respectivamente. Essa semelhança entre os resultados obtidos nos vários estudos de prevalência da leptospirose em bovinos indicam a necessidade da intensificação de medidas de prevenção e controle, em particular a vacinação, por ser um método eficaz e prático, contribuindo para a redução da disseminação da leptospirose, uma vez que grande parte dos problemas reprodutivos e, conseqüentemente, as perdas econômicas ocasionadas podem estar relacionadas à enfermidade.

O sorovar Hardjo foi considerado o mais prevalente nas propriedades e nos animais, corroborando os resultados de inquéritos sorológicos recentes realizados em bovinos no Brasil (Tonin et al. 2010, Hashimoto et al. 2012, Herrmann et al. 2012), e sua identificação como predominante nos rebanhos indica que estão presentes os mecanismos de transmissão de bovino a bovino (Figueiredo et al. 2009). De fato, este sorovar é considerado adaptado aos bovinos (Faine et al. 1999), os quais atuam como reservatórios, mantendo a infecção no rebanho.

Weschenfelder et al. (2005), Tonin et al. (2010), Hermann et al. (2012) e Silva et al. (2012) também observaram reações positivas para os sorovares Icterohaemorrhagiae e Australis, apontados como o segundo e o terceiro mais frequentes, nas propriedades e nos animais, no presente trabalho. A ocorrência destes sorovares, que são mantidos por roedores silvestres, provavelmente deve-se ao contato indireto com água contaminada com urina desses animais, uma vez que os bovinos tem acesso a aguadas (Lilenbaum, 1996). Segundo Cubas et al. (2007), o rato-de-esgoto (*Rattus norvegicus*) e o preá (*Cavia aperea*) são importantes reservatórios da sorovariedade Icterohaemorrhagiae, sendo este último um roedor amplamente encontrado no Nordeste do Brasil, e o rato d'água (*Nectomys squamipes*) é um dos principais reservatórios do sorovar Australis.

A propriedade ser localizada no Sertão foi apontado como fator de risco para a leptospirose por qualquer sorovar e pelo sorovar Hardjo, e isto pode ser justificado por esta ser uma região de

fronteira entre os estados do Rio Grande do Norte, Ceará e Pernambuco, onde ocorre um intenso trânsito de animais, muitas vezes sem o conhecimento da condição sanitária do rebanho de origem. A introdução de animal infectado é considerado um fator de risco (Genovez et al. 2011) e uma forma importante de introdução e dispersão da leptospirose. A presença de animais silvestres como fator de risco aponta para a importância da fauna silvestre na epidemiologia da leptospirose, uma vez que estes animais atuam como reservatórios naturais de leptospiras (Faine et al. 1999).

Não resfriar o leite foi considerado fator de risco, e isto pode estar relacionado a não tecnificação das propriedades. De fato, em propriedades tecnificadas, ou seja, que utilizam inseminação artificial, realizam ordenha mecânica e resfriam o leite produzido, os manejos produtivo e reprodutivo, incluindo medidas higiênico-sanitárias, são adequados, o que pode ter influência na diminuição da disseminação do agente no rebanho.

A presença de pastos alagados foi um fator de risco para leptospirose pelo sorovar Hardjo. A água tem um papel primordial na difusão e manutenção das leptospiras na natureza e assume uma particular importância na transmissão da doença, que ocorre por meio do contato com a água contaminada (Côrtes 1993), e estando o agente presente no ambiente, ele pode permanecer viável por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e sombreamento, aumentando de forma significativa a chance de contato e infecção de um novo indivíduo susceptível (Faine et al. 1999).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que a leptospirose encontra-se amplamente difundida em bovinos do Estado da Paraíba, o que reforça a necessidade de intensificação de medidas de prevenção e controle, como a vacinação dos rebanhos. De acordo com os resultados da análise de fatores de risco, sugere-se que o controle sanitário antes da introdução de animais, drenagem de áreas alagadas e melhora nas condições de manejo são importantes medidas para a prevenção da infecção.

## REFERÊNCIAS

- Acha P.N. & Szyfres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Bacteriosis y micosis. Vol. 1. 3<sup>a</sup> ed. Organización Panamericana de la Salud, Washington. 398p.
- Castro V., Azevedo S.S., Gotti T.B., Batista C.S.A., Gentili J., Morais Z.M., Souza G.O., Vasconcellos S.A. & Genovez M.E. 2008. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil. Arq. Inst. Biol. 75(1):3-11.

- Chiareli D., Cosate M.R.V., Moreira E.C., Leite R.C., Lobato F.C.F., Silva J.A., Teixeira J.F.B. & Marcelino A.P. 2012. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. *Pesq. Vet. Bras.* 32(7):633-639.
- Cole J.R., Sulzer C.R. & Pulssely P.R. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. *Appl. Microbiol.* 28(5):976-980.
- Cortês J. A. 1993. *Epidemiologia: conceitos e princípios fundamentais*. Varela, São Paulo. 227p.
- Cubas Z.S., Silva J.C.R. & Catão-Dias J.L. 2007. *Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária*. Roca, São Paulo. 1376p.
- De Nardi Jr. G., Ribeiro M.G., Vasconcelos S.A., Megid J., Jorge A.M., Geronuti L. & Moraes Z.M. 2006. Perfil de aglutininas anti-*Leptospira* em bezerras búfalas vacinadas com bacterina pentavalente comercial contra leptospirose. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 58(3):299-304.
- Dohoo I.R., Ducrot C., Fourichon C., Donald A. & Hurnik D. 1996. An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. *Prev. Vet. Med.* 29(3):221-239.
- Dohoo I.R., Martin S.W. & Stryhn H. 2003. *Veterinary epidemiologic research*. AVC Incorporated, Charlottetown. 706p.
- Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. 1999. *Leptospira* and leptospirosis. 2<sup>nd</sup> ed. MediSci, Melbourne. 272p.
- 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. 2009. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 29(5):375-381.
- Galton M.M., Sulzer C.R., Santa Rosa C.A. & Fields M.J. 1965. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Appl. Microbiol.* 13(1):81-85.
- Genovez M.E., Escócio C., Castro V., Gabriel F.H.L., Chiebao D.P. & Azevedo S.S. 2011. Fatores de risco associados à infecção pela *Leptospira* spp. sorovar Hardjo em rebanhos exclusivos de ovinos e nos consorciados com bovinos. *Arq. Inst. Biol.* 78(4):587-592.
- Hashimoto V.Y., Dias J.A., Spohr K.A.H., Silva M.C.P., Andrade M.G.B., Muller E.E. & Freitas J.C. 2012. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.* 32(2):99-105.
- Herrmann G.P., Rodrigues R.O., Machado G., Lage A.P., Moreira E.C. & Leite R.C. 2012. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciênc. Anim. Bras.* 13(1):131-138.
- Hosmer D.W. & Lemeshow S. 2000. *Applied logistic regression*. John Wiley and Sons, New York. 375p.

- Lilenbaum W. 1996. Atualização em leptospiroses bovinas. Rev. Bras. Med. Vet. 18(1):9-13.
- Oliveira F.C.S., Azevedo S.S., Pinheiro S.R., Batista C.S.A, Moraes Z.M., Souza G.O., Gonçalves A.P. & Vasconcellos S.A. 2010. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. Pesq. Vet. Bras. 30(5):398-402.
- Silva F.S., Conceição W.L.F., Fagliari J.J., Girio R.J.S., Dias R.A., Borba M.R. & Mathias L.A. 2012. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. Pesq. Vet. Bras. 32(4):303-312.
- Tonin A. A., Azevedo M.I., Escobar T.P., Casassola I., Santos L.G., Silva A.S., Martins J.L.R., Schaefer P.C. & Badke M.R.T. 2010. Leptospirose bovina: aumento na incidência da *Leptospira interrogans* sorovar Butembo no rebanho do Estado de Santa Catarina, Brasil. Acta Vet. Bras. 4(4):294-297.
- Weschenfelder S., Pires Neto J.A. & Schmidt V. 2005. Levantamento sorológico e distribuição geográfica da leptospirose em bovinos no Rio Grande do Sul, no período de 1999 a 2001. Pesq. Agropec. Gaúcha 11(1-2):89-93

## Legenda da Figura

**Fig. 1. Mapa demonstrando a divisão do Estado da Paraíba em circuitos produtores.**

### Os Quadros

**Quadro 1. Dados censitários da população bovina do Estado da Paraíba em 2013, segundo o circuito produtor**

Circuito produtor	Propriedades com atividade reprodutiva		Fêmeas com idade $\geq$ 24 meses	
	Total	Amostradas	Total	Amostradas
1	24.356	151	288.764	916
2	11.603	149	83.428	688
3	18.398	150	192.320	713
Total	54.357	450	564.512	2.317

**Quadro 2. Prevalência de focos de leptospirose bovina no Estado da Paraíba segundo o circuito produtor, no período de abril a novembro de 2012**

Circuito produtor	Propriedades		Prevalência (%)	IC 95% (%)
	Testadas	Positivas		
1	151	141	93,4	[88,1 - 96,4]
2	149	123	82,6	[75,6 - 87,9]
3	150	134	89,3	[83,3 - 93,4]
Estado	450	398	89,7	[86,6 - 92,2]

**Quadro 3. Prevalência de bovinos sororreagentes para leptospirose no Estado da Paraíba segundo o circuito produtor, no período de abril a novembro de 2012**

Circuito produtor	Animais		Prevalência (%)	IC 95% (%)
	Testados	Positivos		
1	916	549	62,8	[57,3 - 67,9]
2	688	338	50,6	[41,6 - 59,6]
3	713	462	63,1	[53,4 - 71,8]
Estado	2.317	1.349	61,1	[56,6 - 65,4]

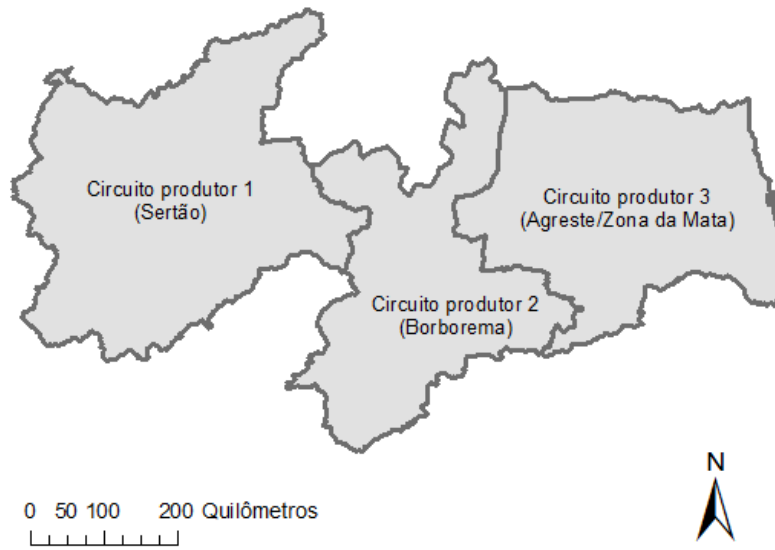
**Quadro 4. Resultados da análise univariável dos fatores de risco para leptospirose bovina por qualquer sorovar no Estado da Paraíba, com as variáveis mais associadas ( $p \leq 0,20$ )**

Variável	Categoria	Total de propriedades	Número de focos (%)	p
Região	Borborema	149	123 (82,6)	0,012
	Agreste/Mata	150	134 (89,3)	
	Sertão	151	141 (93,4)	
Tipo de Exploração	Corte	50	47 (94,0)	0,181
	Leite	130	118 (90,8)	
	Mista	270	233 (86,3)	
Número de ordenhas	Não ordenha	296	255 (86,1)	0,049
	1 vez/dia	108	98 (90,7)	
	2 ou 3 vezes/dia	46	45 (97,8)	
Presença de ovinos/caprinos	Não	277	239 (86,3)	0,096
	Sim	173	159 (91,9)	
Presença de animais silvestres	Não	289	247 (85,5)	0,013
	Sim	161	151 (93,8)	
Resfriamento do leite	Não	435	387 (89,0)	0,082
	Sim	15	11 (73,3)	
Assistência veterinária	Não	380	340 (89,5)	0,165
	Sim	70	58 (82,9)	



**Quadro 5. Fatores de risco para leptospirose bovina no Estado da Paraíba, no período de abril a novembro de 2012**

Variável	<i>Odds ratio</i>	IC 95%	p
Propriedade ser localizada no Sertão	3,20	[1,47 - 6,99]	0,003
Presença de animais silvestres	2,89	[1,38 - 6,05]	0,005
Não resfriar o leite produzido	3,83	[1,11 - 13,32]	0,034



1

2 Figura 1

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14

Com o presente trabalho, foi possível a revisão e atualização de alguns aspectos da leptospirose em bovinos, principalmente no que diz respeito à situação epidemiológica da infecção no Brasil, no tocante aos inquéritos sorológicos e estudos de isolamento do agente.

Também foi possível determinar a prevalência de propriedades positivas e de animais soropositivos, bem como identificar fatores de risco em bovinos do Estado da Paraíba ficando constatado que a infecção por *Leptospira* spp., determinada pela pesquisa de anticorpos, está amplamente difundida e que, para reduzir sua ocorrência e, conseqüentemente, diminuir perdas econômicas ocasionadas e bloquear a possível transmissão do agente aos seres humanos, se faz necessária a implantação de medidas de controle e prevenção, principalmente no tocante à vacinação dos rebanhos, controle sanitário antes da introdução de animais, drenagem de áreas alagadas e melhora nas condições de manejo.

## ANEXOS



Apresentação: os trabalhos deverão ser digitados em Word 97 ou versão superior, página A4, com margens de 2,5 cm, fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço duplo e páginas numeradas em sequência.

As linhas deverão ser numeradas de forma contínua, utilizando a ferramenta Layout em Configurar Página.

O máximo de páginas será 25 para artigos de revisão, 20 para artigos científicos e 10 para comunicação científica, incluindo tabelas e figuras.

Artigo científico: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências.

Comunicação científica: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words, texto sem subdivisões e referências.

Artigo de revisão: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words, texto sem subdivisões e referências.

Aprovação do trabalho pela Comissão de Ética e Biossegurança: quando o trabalho envolver estudos em animais de experimentação e/ou organismos geneticamente modificados, incluir o número do processo no trabalho e encaminhar uma cópia da aprovação fornecida pelo respectivo Comitê responsável da Instituição de origem do primeiro autor.

Idioma: o trabalho poderá ser redigido em português, inglês ou espanhol. Quando escrito em português, o resumo deverá ter uma versão em inglês. No caso de

artigo escrito em inglês ou espanhol deverá ter um resumo em inglês ou espanhol e outro em português.

**Título:** embora breve, deverá indicar com precisão o assunto tratado no artigo, focalizando bem a sua finalidade principal.

**Endereço(s) do(s) autor(es):** abaixo do(s) nome(s) do(s) autor(es), com chamada numérica. Descrever endereço postal (Instituição/Universidade, Centro/Faculdade, Laboratório/Departamento, estado, país) e eletrônico do autor principal. No rodapé da primeira lauda descrever somente a Instituição e Departamento dos demais autores.

**Resumo:** deverá apresentar concisamente o objetivo do trabalho, material e métodos e conclusões, em um único parágrafo. Não ultrapassar 250 palavras.

**Palavras-chave:** abaixo do resumo e separado por um espaço, citar no máximo cinco palavras-chave, separadas por vírgula. Evitar termos que apareçam no título.

**Abstract:** apresentar uma tradução para o inglês, do título do trabalho e do resumo. A seguir, relacionar também em inglês (ou espanhol) as mesmas palavras-chave (key words, palabras-clave) já citadas. Não ultrapassar 250 palavras.

**Introdução:** descrever a natureza e o objetivo do trabalho, sua relação com outras pesquisas no contexto do conhecimento existente e a justificativa da pesquisa feita.

**Material e Métodos:** apresentar descrição breve, porém suficiente para permitir uma repetição do trabalho. Técnicas e processos já publicados, exceto quando modificados, deverão ser apenas citados. Nomes científicos de espécies, bem como drogas, deverão ser citados de acordo com regras e padrões internacionais.

**Resultados:** apresentá-los acompanhado de tabelas e/ou figuras, quando necessário. As tabelas e figuras devem ser inseridas após as referências.

**Discussão:** discutir os resultados obtidos comparando-os com os de outros trabalhos publicados (resultados e discussão poderão fazer parte de um único item).

**Tabelas e Figuras:** incluir título claro e conciso que possibilite o seu entendimento sem consultas ao texto. As tabelas não deverão conter linhas verticais. No texto, use a palavra abreviada (ex.: Fig. 3). As figuras devem estar no formato jpg (fotos) ou gif (gráficos e esquemas) e com tamanho inferior a 500 Kb. As figuras originais ou com maior resolução poderão ser solicitadas após o aceite. Devem ser enviadas em arquivos individuais e nomeadas de acordo com o número da figura. Exemplos: Fig1.gif, Fig2.jpg.

**Conclusões:** serão citadas em ordem de importância. Poderão constituir um item à parte ou serem incluídas na discussão.

Agradecimentos: poderão ser incluídos a pessoas ou instituições. Referências e citações no texto: citações no texto e referências estão diretamente vinculadas. Todos os autores citados devem figurar nas referências, exceção para informações obtidas por canais informais que deverão ser citadas apenas no texto: (JUNQUEIRA, comunicação pessoal), (JUNQUEIRA, informação verbal). A referência no texto deve seguir o sistema sobrenome do autor e ano de publicação e deverá estar em caixa alta reduzida ou versalete, tal como: 1 autor - ALLAN (1979) ou (ALLAN, 1979); 2 autores – LOPES; MACEDO (1982) ou (LOPES; MACEDO, 1982); mais de 2 autores - BESSE et al. (1990) ou (BESSE et al., 1990); coincidências de autoria e ano de publicação - (CURI, 1998a), (CURI, 1998b) ou (CURI, 1998a, 1998b). As referências deverão ser baseadas na Norma NBR 6023/2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e estar em ordem alfabética de primeiro autor. A exatidão dos dados nas referências é da responsabilidade dos autores.



Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <[jurgen.dobereiner@pvb.com.br](mailto:jurgen.dobereiner@pvb.com.br)>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponível no site da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impresa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o Título do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o ABSTRACT deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente;

d) o RESUMO deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;



j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos seguindo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)). A digitalização deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos

demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso);

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada isenta do uso de caixa alta, com os nomes científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse caso, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel

brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e serão apresentadas no final do trabalho.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e colocados no final do texto. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.