



Análise soropidemiológica e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em bovinos no estado do Piauí

Serum Epidemiological Analysis and Risk Factors Associated with *Leptospira* spp. in Cattle in the State of Piauí

Silvana Benvindo Ferreira¹, Katiene Régia Silva Sousa², Vanessa Castro³, Sabrina Thabla Pereira Lopes¹, Sávio Benvindo Ferreira⁴, Lauro César Soares Feitosa¹, Ludmila de Moraes Moura⁵, Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro¹, Daniela Reis Joaquim de Freitas¹ & José Adalmir Torres de Souza¹

ABSTRACT

Background: Leptospirosis is a cosmopolitan zoonosis caused by pathogenic spirochetes of the genus *Leptospira* spp. and it is considered one of the main causes of reproductive problems in cattle. Therefore, the aim of this study was to determine the occurrence of anti-*Leptospira* antibodies and identify the prevalent serovars and risk factors associated with infection in cattle herds, in the microregion of Floriano, Piauí State, Brazil.

Materials, Methods & Results: A total of 414 bovine sera samples were collected (390 females aged over 24 months and 24 bulls) from 22 properties (farms) in the municipalities that compose the study area. The samples were analyzed using the Microscopic Agglutination Test (MAT) to detect anti-*Leptospira* antibodies from 23 pathogenic serovars. An epidemiological questionnaire was applied in each farm to evaluate the risk factors, using a univariate analysis of the variables of interest, by Pearson's Chi-square test (χ^2) or Fisher's exact test, when it was necessary. Then, each independent variable was crossed with the dependent variable and those that presented statistical significance <0.20 were selected for multivariate analysis, using logistic regression, adopting a significance level of 5%. This research identified 143 positive animals (MAT $> 1: 100$) in the 22 evaluated farms; all of them had at least one positive animal, resulting in a prevalence of 34.54%, with 32,8% females (136) and 1,7% males (07), and 8,93% (37) of co-agglutination. Nineteen of the 23 tested serovars were identified; among them, Icterohaemorrhagiae (42.48%), Hardjo (31.2%), Pomona (4.3%), and Castellonis (4.3%) stood out. Absence of quarantine (OR = 16.172, $P = 0.024$), vaccination (OR = 0.090, $P = 0.037$) and isolation of diseased animals (OR = 0.006, $P = 0.030$) were identified, by the multivariate logistic regression analysis, as risk factors for any serovar of *Leptospira* spp.

Discussion: The results of the present study showed that leptospirosis is present in all studied municipalities, in which the prevalence may be related to the variety of factors that influence the occurrence of the disease, such as climatic and environmental conditions, transit of animal, practices of management adopted in the herd, and the lack of information about the disease. The occurrence of co-agglutination can be explained by the possibility of multiple and concomitant contaminations with several serovars. Icterohaemorrhagiae was the most prevalent serovar, which has significant importance to public health since it is considered the main serovar of leptospirosis in humans, associated with the presence of rodents. On the other hand, the serovar Hardjo is related to the chronic leptospirosis in cattle, demonstrated through reproductive problems. The serovars Castellonis and Pomona were also observed in bovine herds, suggesting a possible transmission of the microorganism between animal species, probably due to exposure to the same sources of infection. In fact, the large number of serovarieties of *Leptospira* spp. indicates the presence of one or more maintenance hosts, which are natural reservoirs of this infection. The risk factors confirmed in the logistic regression analysis probably occur due to failures in sanitary management. It is concluded that *Leptospira* spp. is disseminated in cattle in the studied region, with the presence of several serovars, which reinforces the need for intensifying the prevention and control measures, such as vaccination.

Keywords: disorders reproductive, epidemiology, leptospirosis.

Descritores: distúrbios reprodutivos, epidemiologia, leptospirose.

Received: 15 May 2017

Accepted: 20 September 2017

Published: 7 October 2017

¹Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, PI, Brazil. ²Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Chapadinha, MA, Brazil. ³Instituto Biológico de São Paulo, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Governo do Estado de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil. ⁴Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Cajazeiras, PB, Brazil. ⁵Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI), Teresina. CORRESPONDENCE: S.B. Ferreira [siluanabf@hotmail.com - Fax: +55 (86) 3215-5541]. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (PPGCA), Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal (LBRA), UFPI. Campus Socopo. Bairro Ininga. CEP 64049-550 Teresina, PI, Brazil.

INTRODUÇÃO

A leptospirose se destaca como importante causa de diminuição da produção animal sendo incontestavelmente, a zoonose bacteriana mais difundida no mundo, causada por espiroquetas do gênero *Leptospira*, com ocorrência nas áreas urbanas e rurais das regiões tropicais, subtropicais e temperadas [12].

Em bovinos, ela se manifesta principalmente, provocando problemas reprodutivos com perdas econômicas não quantificadas, verificadas por: infertilidade, aumento do intervalo entre partos, ocorrência de natimortos, mumificação fetal e nascimento de bezerras fracas, além de queda da produção de carne e leite. [13,22].

Como medida de controle dessa doença, tem sido utilizado inquéritos sorológicos com determinação dos fatores de risco que, permitem o conhecimento dos diferentes sorovares existentes em determinada região [13], bem como, das condições associadas à maior ocorrência da infecção, o que possibilita a elaboração de medidas de prevenção, e controle e a aplicação de maneira correta e eficaz [29].

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi determinar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp., identificar os sorovares predominantes, e analisar os aspectos epidemiológicos associados à infecção em rebanhos bovinos da microrregião de Floriano, estado do Piauí, Brasil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local de estudo e amostras

Esta pesquisa foi realizada na microrregião de Floriano, que integra uma das quinze microrregiões do estado do Piauí, pertencente à mesorregião Sudoeste Piauiense. Ela se caracteriza pelo predomínio do clima tropical semiárido quente, com duas estações bem definidas, sendo uma com período chuvoso, nos meses de dezembro a abril, e outra com um período seco prolongado, com duração de sete meses (maio a novembro). A temperatura varia de 28°C a 38°C, com precipitação pluviométrica variando de 804,6mm a 1186,1mm e umidade relativa do ar de 30 a 80%. Sua vegetação é composta por amplas áreas de campo cerrado e cerradão, caatinga arbórea e arbustiva [17].

Possui uma área total de 18.333,419 km² e está dividida em doze municípios: Canaveira, Flores do Piauí, Floriano, Guadalupe, Itaueira, Jerumenha, Nazaré do Piauí, Pavussú, Rio Grande do Piauí, São

Francisco do Piauí, São José do Peixe e São Miguel do Fidalgo (Figura 1) [21]. E, sua população bovina estimada em 2014, pela Agência de Defesa Agropecuária do Piauí é de 103.681 bovinos [2].

Em cada propriedade amostrada foi aplicado um questionário epidemiológico, que contemplou dados dos seus, animais como: idade, sexo, espécie, raça, tipo de criação, procedência, manejo sanitário e reprodutivo, entre outros.

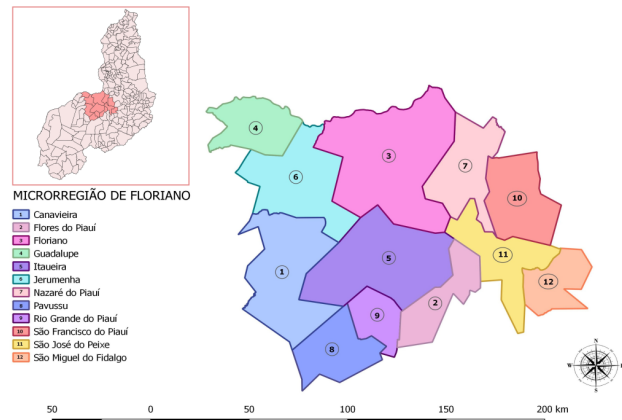


Figura 1. Mapa da microrregião de Floriano, estado do Piauí, Brasil.

Cálculo Amostral

Para determinação do tamanho da amostra, a população total de bovinos da microrregião foi utilizada como base, considerando a soma do rebanho dos doze municípios estudados, de acordo com dados obtidos pelo censo pecuário da ADAPI. Assim, obteve-se uma amostra total de 414 animais, acrescidos 10% para eventuais perdas. Como referência optou-se por uma prevalência esperada de 50%, um intervalo de confiança de 95% e uma possibilidade de erro absoluto de 0,05 [32].

Coleta das amostras

Foram colhidas amostras de 390 fêmeas bovinas em idade reprodutiva (superior a 24 meses), e 24 reprodutores, provenientes de 22 propriedades distribuídas nos municípios que compõem a área de estudo.

Essas amostras foram obtidas através da venopunção jugular nos bovinos utilizando tubos a vácuo sem anticoagulante, previamente identificados, acondicionados e posteriormente encaminhadas ao laboratório de doenças infecciosas e fisiopatologia da reprodução da fêmea, da Universidade Federal do Piauí. Em seguida as mesmas foram centrifugadas para obtenção de soros, posteriormente armazenados e congelados a -80°C até a realização dos testes de diagnóstico.

Sorologia

Para a pesquisa de aglutininas antileptospiras, utilizou-se o teste de aglutinação microscópica (MAT) [18, 9], contra 23 sorovares patogênicos: Australis, Autmnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Canicola, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Grippytyphosa, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Shermani, Sentot, Tarassovi, Whitcombi e Wolffii.

As leituras foram realizadas em microscópio de campo escuro, com objetiva 10x, e o critério adotado para o soro ser considerado como reagente foi de 50% de leptospiras aglutinadas por campo microscópico em aumento de 100 vezes. O sorovar registrado, entre os citados acima, foi aquele que apresentou maior título, sendo as demais aglutinações consideradas reações cruzadas. As amostras positivas ao título inicial foram novamente diluídas sucessivamente, na razão dois, e testadas para o(s) sorovar (es) que reagiram anteriormente. O título final foi aquele que ainda apresentou 50% ou mais de aglutinação, e o ponto de corte da reação foi a diluição de 1:100.

Análise Estatística

Foram determinadas as frequências absolutas e para a análise de possíveis fatores de risco (variáveis independentes) associados com a soropositividade para leptospirose (variável dependente) foi realizado o teste Qui-quadrado do teste Qui-quadrado ou teste exato de Fisher. As análises que apresentaram valor $P \leq 0,20$

foram incluídas na análise de regressão logística, com nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 23.0 - Statistical Package for Social Science.

RESULTADOS

Das 414 amostras utilizadas para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira*, revelaram que 100% das propriedades possuem pelo menos um animal sororeagente, na MAT com 143 positivos, resultando em uma prevalência de 34,54% (Tabela 1) sendo, entre eles, 32,8% de fêmeas (136) e 1,7% de machos (07). Ainda, entre machos e fêmeas, 8,93% (37) apresentaram co-aglutinações. Também, observou-se a presença de 19 sorovares, dos 23 testados, destacando-se o Icterohaemorrhagiae (42,48%) como o de maior prevalência, seguidos pelo sorovar Hardjo (31,2%), Pomona (4,3%) e Castellonis (4,3%) [Tabela 2].

A análise univariada dos fatores de risco está disposta na Tabela 3, em que se verificou associação significativa das seguintes variáveis: exploração extensiva, pastejo em áreas alagadas, fornecimento de concentrado, tipo de ordenha, retenção de placenta, venda de animais e assistência veterinária, todavia, não foram verificados como fatores de risco.

Foram identificados como fatores de risco para a infecção para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. na análise de regressão logística: quarentena (OR = 16,172; $P = 0,024$), vacinação (OR = 0,090; $P = 0,037$) e isolamento de animais doentes (OR = 0,006; $P = 0,030$) [Tabela 4].

Tabela 1. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* e sorovares predominantes por município da microrregião de Floriano, Piauí, Brasil.

Município	Animais		Prevalência (%)	Sorovares predominantes
	Amostrados	Reagentes		
Canavieira	39	7	17,94	Ca, Ha, Ic
Flores do Piauí	36	12	33,33	Ic, Po
Floriano	53	17	32,07	Au, Ba, Bu, Ca, Cy, Gr, Ha, He, Ic, Ja, Pa, Pan, Ta
Guadalupe	37	19	51,35	Ha, Ic
Itaueira	32	12	37,50	Ba, Br, Ha, Ic, Wo
Jerumenha	32	9	28,12	Ic, Po
Nazaré	35	x16	45,71	Ic, Ha
Pavussú	19	10	52,63	Au, Ic, Ha, Ta
Rio Grande	41	12	29,27	Aut, Ca, Gr, Se, Ha
São F. do Piauí	35	7	20,00	Ca, Co, Ha, Ic, Po
São J. do Peixe	30	14	46,66	Ic, Ha, Po, Py
SM Fidalgo	25	8	32,00	Ca, Ha, Ic, Po
Total	414	143	34,54	

Abreviações: Australis (Au), Autmnalis (Aut), Bataviae (BA), Bratislava (Br), Butembo (Bu), Castellonis (Ca), Copenhageni (Co), Cynopteri(Cy), Grippytyphosa (Gr), Hardjo (Ha), Hebdomadis (He), Icterohaemorrhagiae (Ic), Javanica (Ja), Panamá (Pan), Patoc (Pa), Pomona (Po), Pyrogenes (Py), Sentot (Se), Wolffii (Wo), Tarassovi (Ta).

Tabela 2. Distribuição dos sorovares reagentes de *Leptospira* spp. em amostras de sangue pelo teste de aglutinação microscópica (MAT) em 414 bovinos da microrregião de Floriano, Piauí, Brasil.

Sorovar	N° de Animais	
	Reagentes	Frequência %
Australis	1	0,54
Autmnalis	4	2,15
Bratislava	1	0,54
Butembo	2	1,07
Castellonis	8	4,3
Copenhageni	1	0,54
Cynopteri	1	0,54
Grippotyphosa	3	1,61
Hardjo	58	31,2
Hebdomadis	2	1,07
Icterohaemorrhagiae	79	42,48
Javanica	2	1,07
Panamá	2	1,07
Patoc	2	1,07
Pomona	8	4,3
Pyrogenes	2	1,07
Sentot	2	1,07
Tarassovi	3	1,61
Wolffi	5	2,7
Total	186	100

Tabela 3. Análise univariada dos possíveis fatores de risco para leptospirose bovina em rebanhos com atividade reprodutiva na microrregião de Floriano, Piauí, Brasil.

Variável	Positivos/Expostos (%)	OR (IC 95%) ¹	Valor de P
Sexo do animal			
Machos	10/24 (41,70%)		
Fêmeas	133/390 (34,10%)	1,38 (0,59 - 3,19)	0,449
Tipo de Criação			
Corte	37/109 (33,94%)		
Leite	29/85 (34,11%)		
Mista	77/220 (35,00%)		
Corte-Mista		0,95 (0,59 - 1,55)	0,850
Corte-Leite		0,99 (0,54 - 1,81)	0,980
Mista-Leite		1,04 (0,62 - 1,76)	0,885
Tipo de Exploração			
Semi-Confinamento	96/251 (38,25%)		
Extensivo	47/163 (28,83%)	1,53 (1,00 - 2,34)	0,049*
Tipo de ordenha			
Manual	126/344 (36,63%)		
Mecânica	17/70 (24,30%)	1,51 (0,66 - 3,49)	0,048*
Aquisição de animais			
Sim	98/290 (33,8%)		
Não	45/124 (36,3%)	1,12 (0,72 - 1,73)	0,625

(continua...)

(...continuação)

Procedência			
Local	121/353 (34,28%)		
Exposição	10/25 (40,00%)		
Leilão	12/36 (33,33%)		0,834
Realiza quarentena			
Sim	1/16 (6,25%)		
Não	142/398 (35,68%)	8,32 (1,09 - 63,64)	0,015*
Existem outras espécies na fazenda			
Sim	113/338 (33,43%)		
Não	30/76 (39,47%)	1,30 (0,78 - 2,17)	0,317
Presença de equinos			
Sim	87/252 (32,90%)		
Não	60/162 (37,00%)	1,20 (0,79 - 1,81)	0,392
Presença de ovinos			
Sim	89/274 (32,48%)		
Não	54/140 (38,57%)	1,31 (0,85 - 1,99)	0,218
Presença de suínos			
Sim	45/130 (34,62%)		
Não	98/284 (34,51%)	0,99 (0,64 - 1,54)	0,983
Uso da Inseminação artificial			
Sim	0,00		
Não	143/414 (35,75%)		Sem valor
Houve aborto			
Terço Final	80/219 (36,50%)		
Terço Médio	63/195 (32,30%)	0,83 (0,55 - 1,25)	0,367
Feto			
Sim	72/194 (37,10%)		
Não	71/220 (32,30%)	0,81 (0,54 - 1,21)	0,301
Destino de produtos do aborto			
Não Tem destino	63/195 (32,30%)		
Enterra	80/219 (36,52%)	0,83 (0,55 - 1,25)	0,367
Retenção de placenta			
Sim	61/144 (42,36%)		
Não	82/270 (30,37%)	0,59 (0,39 - 0,90)	0,015*
Repetição de Cio			
Sim	77/239 (32,20%)		
Não	66/175 (37,70%)	1,27 (0,85 - 1,92)	0,245
Compra Animais			
Sim	114/345 (33,00%)		
Não	29/69 (42,00%)	1,47 (0,87 - 2,49)	0,152
Vende animais			
Sim	68/222 (30,60%)		
Não	75/192 (39,10%)	1,45 (0,97 - 2,18)	0,072*
Presença de Cão			
Sim	83/236 (35,20%)		
Não	60/178 (33,70%)	0,94 (0,62 - 1,41)	0,757

(continua...)

(...continuação)

Aluga pastos				
Sim	16/50 (32,00%)			
Não	127/364 (34,89%)	1,14 (0,61 - 2,14)		0,687
Divide pastos				
Sim	25/70 (35,70%)			
Não	118/344 (34,30%)	0,94 (0,55 - 1,61)		0,821
Tem piquete para nascimento				
Sim	69/210 (32,90%)			
Não	74/204 (36,27%)	1,16 (0,78 - 1,75)		0,465
Presença de pastos alagados				
Sim	106/288 (36,80%)			
Não	37/126 (29,36%)	1,40 (0,89 - 2,20)		0,143*
Alimentação				
Capim	15/56 (26,79%)			
Capim+Concentrado	128/358 (35,75%)	0,66 (0,35 - 1,23)		0,189*
Como fornece				
Pasto	21/71 (29,60%)			
Pasto+Cocho	122/343 (35,60%)	0,76 (0,44 - 1,33)		0,334
Origem da água				
Poço	37/100 (37,00%)			
Outro(Açude, lago, rio)	106/314 (33,80%)	1,15 (0,72 - 1,84)		0,553
Vacinação				
Sim	133/374 (35,60%)			
Não	10/40 (25,00%)	0,60 (0,29 - 1,27)		0,182*
Isolamento de animais doentes				
Sim	142/394 (36,04%)			
Não	1/20 (5,00%)	0,09 (0,01 - 0,70)		0,004*
Presença de ratos				
Sim	101/280 (36,10%)			
Não	42/134 (31,30%)	0,81 (0,52 - 1,25)		0,344
Assistência Veterinária				
Sim	0/17			
Não	143/397 (36,00%)	0,64 (0,59 -0,69)		0,002*

*Valor de *P* significativo (*P* < 0,20), ¹OR (IC 95%) = Odds Ratio (Intervalo de confiança a 95% de probabilidade).

Tabela 4. Modelo final da regressão logística dos fatores de risco (Odds Ratio) para leptospirose bovina em rebanhos da microrregião de Floriano, Piauí, Brasil.

Variável	β	EP	Odds Ratio (OR)	IC (95%)	<i>P</i> valor
Quarentena	2,783	1,231	16,172	1,449-180,472	0,024
Vacinação	-2,413	1,156	0,090	0,009-0,862	0,037
Isolamento de animais doentes	-5,111	2,359	0,006	0,000-0,614	0,030
Constante	6,106	2,821			0,030

β = coeficiente no modelo; EP = erro-padrão; IC (95%) = Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a leptospirose encontra-se amplamente difundida em todos os municípios estudados, com alta prevalência em animais. Esses achados assemelham-se aos encontrados no estado de Pernambuco [26], que observaram a presença de pelo menos um animal sororreagente em todas as propriedades avaliadas no Município de Garanhuns. Em um estudo realizado em 21 estados brasileiros, observou uma prevalência de propriedades com pelo menos um animal positivo de 84,1%, com valores variando entre 74% e 100%, abrangendo rebanhos positivos em todos os estados analisados, inclusive no Piauí (95,4%) [14]. Apesar dos resultados aqui observados, estes foram menores aos demonstradas no Mato Grosso do Sul (90,4%) [16] e no município de Monte Negro, Rondônia, de 95,3% [03].

Os achados deste trabalho assemelham-se aos encontrados em um estudo realizado no município de Pirassununga, em São Paulo para avaliar a situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana, em que foi encontrada prevalência de 30,3% em bovinos [23]. No Maranhão, noutro trabalho similar, também se observou uma prevalência de 35,94% de bovinos reagentes na MAT a pelo menos uma sorovarietade [31].

Apesar dos resultados aqui encontrados, estes foram inferiores aos observados em um estudo realizado no litoral do Piauí [24], que revelou 52,9% de animais reagentes a *Leptospira* spp., tal fato pode estar relacionado à variedade de fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam na ocorrência da doença, como as condições climáticas e ambientais distintas das microrregiões estudadas, em que o clima tropical úmido da região litorânea poderia favorecer a sobrevivência de leptospiros no ambiente, quando comparado ao clima tropical semiárido da microrregião de Floriano. Do mesmo modo, o trânsito de animais mais frequente no litoral do Piauí, contribui como fonte permanente de infecção aos animais susceptíveis, como também, em aglomerações de animais em exposições e leilões, eventos muito comuns na região [28].

Ainda, outros fatores podem ter contribuído com os resultados encontrados. Dentre eles, destacam-se a compra de animais de outras propriedades, sem, entretanto, a realização de diagnóstico de leptospirose [27], as práticas de manejo adotadas no rebanho [15] e a escassez de informações dos produtores acerca da

doença e das consequências decorrentes da infecção, controle e profilaxia evidenciados durante a aplicação dos questionários epidemiológicos. Portanto, os achados obtidos neste estudo poderão auxiliar na elaboração de estratégias de prevenção e controle, reduzindo, dessa forma, a presença da doença na região de estudo, além de contribuir para a melhoria dos indicadores de produção animal [29].

Além do mais, verificou-se associação significativa entre a variável pastejo em áreas alagadas e tipo de exploração que, no entanto, não foram confirmadas como fatores de risco, apesar de que, de fato, a chance de infecção aumenta uma vez que as possibilidades de os animais entrarem em contato com materiais contaminados com leptospiros como: pastos, água e restos de parto e abortamento, são maiores [27].

Em relação à variável tipo de ordenha, manual ou mecânica, apesar desta não ter sido considerada fator de risco para a infecção, pode possivelmente representar, uma vez que, propicia a aglomeração de animais e assim uma maior probabilidade de transmissão da *Leptospira* spp.

Observou-se que a variável retenção de placenta apresentou valor estatisticamente significativo na análise univariada de risco para os animais, embora não tenha sido demonstrada associação com o aborto. Na leptospirose, a retenção de placenta, geralmente, acompanha o aborto e está associada à infecção pelos sorovares Hardjo, Wolffi e Pomona [28].

A soroprevalência de *Leptospira* spp. evidenciada em touros demonstra a relevância da epidemiologia da doença e justifica o seu monitoramento, visto que, eles podem funcionar como portadores da leptospirose eliminando o agente por tempo indeterminado, possibilitando dessa forma a introdução e disseminação da doença, principalmente, quando há trânsito de animais entre propriedades com e sem presença da *Leptospira* spp. e os mesmos entram em contato com animais susceptíveis a esses agentes [6].

A presença de co-aglutinações (25,87%) encontrada na MAT pode ser explicadas pela possibilidade de ocorrência de contaminação múltipla e concomitante por vários sorovares [10]. Em determinados eventos, esse resultado é provável, tendo em vista a semelhança antigênica entre os sorovares, apesar das limitações da técnica, no que se refere à sensibilidade, a especificidade e as co-aglutinações, esta ainda é a ferramenta mais utilizada para estudos epidemiológicos,

assim como para o diagnóstico de leptospirose em humanos e animais [22,33].

A maior prevalência pelo sorovar Icterohaemorrhagiae encontrada neste estudo possui grande importância para a saúde pública, por ser considerado o principal sorovar de ocorrência em seres humanos e está relacionado à presença de roedores. Estes geralmente não mostram sinais clínicos e excretam as leptospirosas pelo trato urinário, tornando-se uma importante fonte de infecção para os seres humanos, bovinos e outros animais [1]. Os bovinos por sua vez se infectam ao entrar em contato com alimento e/ou água contaminada com a urina desses animais.

Os dados revelados, nesta pesquisa, estão de acordo com a análise univariada, que mostrou associação entre o fornecimento de concentrado em suas dietas e um maior risco para a infecção, apesar de não terem sido confirmadas como fator de risco. Assim, os dados sugerem que, nas propriedades estudadas, os alimentos concentrados quando contaminados pela urina dos roedores podem representar uma fonte de infecção para os bovinos. Outro estudo demonstrou que animais alimentados com concentrado dificilmente conseguem evitar a sua ingestão quando contaminado com excrementos e/ou urina [20]. Do mesmo modo, não se pode determinar quanto tempo a urina foi depositada no concentrado antes de alimentar os animais.

Os animais silvestres como o preá (*Cavia aperea*) e os marsupiais como os gambás (*Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Didelphis marsupialis*) também são importantes reservatórios da sorovariedade Icterohaemorrhagiae, por contaminarem os pastos e aguadas dos bovinos [11]. Ainda, em relação aos marsupiais, os mesmos são considerados reservatórios das sorovariedades Autumnalis e Patoc [30], sorovares também observados neste estudo.

Os resultados aqui observados em relação às prevalências dos sorovares encontrados (Tabela 2) divergem dos observados no Maranhão [27], em que o sorovar Hardjo se destacou, e que apesar de não ser o mais prevalente neste estudo, foi o segundo. O sorovar em questão tem papel de relevância para a região, em virtude de ser considerado adaptado aos bovinos, e de que sua identificação em rebanhos indica que estão presentes os mecanismos de transmissão de bovino a bovino, atuando como reservatórios mantendo a infecção no rebanho [16]. De fato, essa sorovariedade é considerada a principal leptospira responsável por

problemas reprodutivos em bovinos no Brasil [8], em que no Piauí [24], evidenciou-se uma maior relação entre os transtornos reprodutivos e a infecção relacionada ao sorovar Hardjo (0,69 positivo/exposto - p/e), 1,82 vezes maior que para Icterohaemorrhagiae (0,38 p/e).

Outros sorovares de importância, representados por Castellonis e Pomona normalmente circulam na população de bovinos. No entanto, sua identificação nos rebanhos geralmente está associada à presença de equinos (Castellonis) e suínos (Pomona), os quais são reconhecidos como hospedeiros de manutenção, e podem facilmente se difundir mantendo a infecção no rebanho [4,19]. Ainda em relação ao sorovar Pomona, ele se destaca em bovinos por apresentar elevada patogenicidade, ocasionando icterícia e abortamento [28].

Portanto, a grande variedade de sorovares encontrada no Piauí, reforça a suspeita da presença frequente de um ou mais hospedeiros de manutenção, representados por espécies silvestres e, algumas vezes, por animais domésticos e de produção que servem como reservatórios naturais da infecção. O contato dos bovinos com eles ou com áreas contaminadas com a urina dos mesmos pode ocasionar a infecção por *Leptospira* spp. em outras espécies [5]. Os resultados sorológicos, também, sugerem uma possível transmissão do micro-organismo entre espécies animais, provavelmente em decorrência da exposição às mesmas fontes de infecção entre os animais estudados, o que poderia justificar a elevada disseminação na região estudada.

Neste trabalho, as propriedades que apresentavam falhas no manejo sanitário representadas pela não utilização de quarentena na aquisição de animais, de isolamento de doentes e inexistência de vacinação de leptospirose exibiam mais chances de serem positivas para a doença pesquisada, do que as propriedades que não apresentavam falhas no manejo, sendo consideradas fatores de risco para leptospirose.

Por certo, o risco de ingresso da leptospirose acontece pela introdução de animais infectados, por meio do ambiente ou pelo contato com outros animais infectados no pastejo. Portanto, a quarentena deve ser realizada no momento da aquisição de novos animais. Deste modo, se os animais estiverem no período de incubação de alguma doença, serão identificados quando manifestarem os sinais clínicos. Esses resultados estão de acordo com um estudo realizado no estado de São Paulo com fêmeas bovinas [7], que destacou como importante fator de risco para leptospirose em

bovinos a compra de reprodutores, quando a mesma é realizada desrespeitando as práticas sanitárias preventivas, contribuindo para a introdução, manutenção e disseminação de doenças, como a leptospirose.

O monitoramento através da assistência veterinária poderia melhorar o controle sanitário dos rebanhos evitando a entrada de agentes infecciosos. Esse achado é coerente com a análise univariada que identificou a variável assistência veterinária como um possível risco de infecção para leptospirose, apesar de não ter sido confirmada com o fator de risco. Esses dados também concordam com um estudo realizado em bovinos leiteiros no Maranhão, em que foi constatado que 98% dos proprietários não adotavam medidas sanitárias adequadas, o que pode ter contribuído para as elevadas prevalências obtidas [28].

A ausência do isolamento de animais doentes foi caracterizada como fator de risco de leptospirose, o que reforça a importância dessa variável em relação à epidemiologia da doença, em que o convívio de animais doentes com animais sadios pode facilitar a disseminação da leptospirose. Por isso, existe a necessidade de isolar os animais doentes, durante todo o período de infecção da doença.

Nas propriedades avaliadas, apesar do calendário imunoprofilático incluir vacinações contra aftosa, brucelose e clostridioses, observou-se que em nenhuma

delas havia orientação para vacinação anti-leptospirose. No Estado do Piauí, esta vacinação em bovinos não é prática comum, o que de fato poderia justificar as altas prevalências tanto em animais como em rebanhos encontradas no presente trabalho [29].

A introdução da prática periódica de vacinação de bovinos com as sorovarietades mais comuns no rebanho poderia reduzir os títulos de anticorpos de *Leptospira* spp. na microrregião estudada [25].

CONCLUSÃO

A infecção por *Leptospira* spp. está amplamente distribuída na população bovina da microrregião de Floriano com a presença de vários sorovares. Há necessidade da elaboração de programas de controle da doença com ações pontuadas para o uso de vacinas homólogas específicas, saneamento do meio ambiente e a adoção de manejo sanitário eficiente.

Acknowledgements. Ao Instituto Biológico de São Paulo, pelo processamento das amostras.

Ethical approval. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Piauí com licença nº 099/2014.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Adler B. & Moctezuma A.P. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*. 140(3-4): 287-296.
- 2 Agência de Defesa Agropecuária do Piauí (ADAPI). 2014. *Relatório Condensado da I Etapa da campanha de vacinação de febre Aftosa de 2014*. Teresina: ADAPI, 38p.
- 3 Aguiar D.M., Gennari S.M., Cavalcante G.T., Labruna M.B., Vasconcellos S.A., Rodrigues A.A.R., Moraes Z.M. & Camargo L.M.A. 2006. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 26(2): 102-104.
- 4 Arent Z.J., Gilmore C., San-Miguel Ayanz J.M., Quevedo Neyra L. & García Peña F.J. 2017. Molecular Epidemiology of *Leptospira* Serogroup Pomona Infections among Wild and Domestic Animals in Spain. *Eco Health*. 14: 48-57.
- 5 Bolin C.A. 1996. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. 11(3): 166-171.
- 6 Campos Junior A.C.P., Juliano R.S., Acypreste C.S., Dias Filho F.C. & Martins M.E. 2006. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em machos bovinos na microrregião de Goiânia. *Ciência Animal Brasileira*. 7(4): 439-446.
- 7 Castro V., Azevedo S.S., Gotti T.B., Batista C.S.A., Gentili J., Moraes Z.M., Vasconcellos S.A. & Genovez M.E. 2009. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 61(6): 1438-1442.
- 8 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. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32: 633-639.

- 9 Cole Junior J.R., Sulzer C.R. & Pursell A.R. 1973. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Applied Microbiology*. 25: 970-980.
- 10 Cordeiro F., Guida H.G., Ramos A.A. & Mendoza T.R. 1975. Aglutininas antileptospira em soro de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira - Série Veterinária*. 10: 9-19.
- 11 Cubas Z.S., Silva J.C.R. & Catao-Dias J.L. 2007. *Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária*. São Paulo: Roca, 1376p.
- 12 Evangelista K.V. & Coburn J. 2010. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiology*. 5(9): 1413-1425.
- 13 Faine S., Adler B., Bolim C. & Perolat P. 1999. *Leptospira and leptospirosis*. 2nd edn. Melbourne: MediSci, 296p.
- 14 Fávero M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Moraes Z.M., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. 2001. Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. 68(2): 29-35.
- 15 Fávero J.F., Araújo H.L., Lilienbaum W., Machado G., Tonin A.A., Baldissera M.D., Stefani L.M. & Silva A.S. 2017. Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. *Microbial Pathogenesis*. 107: 149-154.
- 16 Figueiredo A.O., Pellegrin A.O., Gonçalves V.S.P., Freitas E.M., 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. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29: 375-381.
- 17 Fundação Centro de Pesquisas Econômicas e Sociais do Piauí (Cepro) - Diagnóstico socioeconômico. 2013. Disponível em: <<http://www.cepro.pi.gov.br/diagsococo.php>>. [Accessed online in March 2016].
- 18 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. *Applied Microbiology*. 13: 81-85.
- 19 Hashimoto V.Y., Garcia J.L., Spohr K.A.H., Silva F.G., Alves L.A. & Freitas J.C. 2010. Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. 77(3): 21-524.
- 20 Hurst J.L. & Ward W.R. 2001. Rats and mice and animal feed- a risk too far? *The Veterinary Journal*. 162(3): 163-165.
- 21 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2010. Censo Agropecuário 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=2002&id_pagina=1>. [Accessed online in May 2014].
- 22 Lilienbaum W. & Martins G. 2014. Leptospirosis in Cattle: A challenging scenario for the understanding of the epidemiology. *Transboundary and Emerging Diseases*. 61(1): 63-68.
- 23 Martins L.S. 2005. Situação epidemiológica da leptospirose bovina, canina e humana na área rural do município de Pirassununga, SP. 79f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 24 Mineiro A.L.B.B., Bezerra E.E.A., Vasconcelos S.A., Costa F.A.L. & Macedo N.A. 2007. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 59: 1103-1109.
- 25 Mineiro A.L.B.B., Vieira R.J., Bezerra E.E.A., Leal L.M., Sousa F.A.L., Campos A.P. & Costa F.A.L. 2014. Avaliação do controle de leptospirose por vacinação em bovinos de propriedade leiteira no estado do Piauí. *Arquivos do Instituto Biológico*. 81(3): 202-208.
- 26 Oliveira A.A.F., Mota R.A., Pereira G.C., Langoni H., Souza M.I., Navegantes W.A. & Sa M.E.R. 2001. Sero-prevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns municipal district, Pernambuco State, Brazil. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 68: 275-279.
- 27 Oliveira R.M., Silva M.L.C.R., Macêdo M.M.S., Higino S.S.S., Paulin L.M., Alves C.J., Carvalho M.G.X. & Azevedo S.S. 2013. Soroepidemiologia da leptospirose e brucelose bovina em propriedades rurais de agricultura familiar do agreste paraibano, Nordeste do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. 80(3): 303-311.
- 28 Paixão A.P., Santos H.P., Alves L.M.C., Pereira H.M., Carvalho R.F.B., Filho V.M.C., Oliveira E.A.A., Soares D.M. & Beserra P.A. 2016. *Leptospira* spp. em bovinos leiteiros do estado do Maranhão, Brasil: frequência, fatores de risco e mapeamento de rebanhos reagentes. *Arquivos Instituto Biológico*. 83: 1-12.

- 29 Pimenta C.L.R.M., Castro V., Clementino I.J., Alves C.J., Fernandes L.G., Brasil A.W.L., Santos C.S.A.B. & Azevedo S.S. 2014. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34(4): 332-336.
- 30 Silva F.J., Mathias L.A., Magajevski F.S., Werther K., Assis N.A. & Girio R.J.S. 2010. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal/SP. *Ars Veterinária*. 26(1): 17-25.
- 31 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. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 32(4): 303-312.
- 32 Thrusfield M. 2004. *Epidemiologia Veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, 556p.
- 33 World Organization for Animal Health (OIE). 2014. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Leptospirosis**. 2014. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2008/pdf/2.01.09_LEPTO.pdf> [Accessed online in December 2014].