

Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná¹

Vanessa Y. Hashimoto², Juliana A. Dias³, Kledir A.H. Spohr⁴, Maria C.P. Silva⁵,
Maria G.B. Andrade⁵, Ernst E. Müller⁶ e Julio C. Freitas^{6*}

ABSTRACT. Hashimoto V.Y., Dias J.A., Spohr K.A.H., Silva M.C.P., Andrade M.G.B., Müller E.E. & Freitas, J.C. 2012. [Prevalence and risk factors for *Leptospira* spp. in cattle herds in the south central region of Paraná state.] Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32(2):99-105. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid 380, Cx. Postal 6001, Londrina, PR 86051-990, Brazil. E-mail: freitasj@uel.br

The aim of this study was to determine the prevalence of anti-*Leptospira* spp. antibodies and the risk factors for *Leptospira* spp. infection in breeding cattle herds in the south central region of Paraná state. It was based on the statistic delineation, serological samples and information regarding the selected farms employed in the study of bovine brucellosis for Paraná state in the context of National Program for Control and Eradication of Brucellosis and Tuberculosis. A total of 1.880 females aged ≥ 24 months from 274 non vaccinated herds were studied. Serum samples were tested for antibodies against *Leptospira* spp. using microscopic agglutination test (MAT) with 22 *Leptospira* serovars. The epidemiological questionnaire was applied on all the selected farms and aimed to obtain epidemiological data. Hundred eighty one of 274 herds were positive for *Leptospira* spp., presenting prevalence of positive herds of 66.06% (IC95%=60.12-71.65%). Presence of ≥ 43 cattle (OR=3.120; IC=1.418-6.867), animal purchase (OR=2.010; IC=1.154-3.500), rent of pastures (OR=2.925; IC=1.060-8.068) and presence of maternity paddock (OR=1.981; IC=1.068-3.676) were identified as risk factors for leptospirosis due to any serovar in the multivariate logistic regression. Risk factors for leptospirosis due to serovar Hardjo were presence of ≥ 43 cattle (OR=3.622; IC=1.512-8.677), animal purchase (OR=3.143; IC=1.557-6.342), rent of pastures (OR=4.070; IC=1.370-12.087) and presence of horses (OR=2.981; IC=1.321-6.726). These results indicate that *Leptospira* spp. infection is widespread in the south central region of Paraná state and that factors related to the herd characteristic and management are associated with the infection.

INDEX TERMS: Prevalence, epidemiology, risk factors, leptospirosis, microscopic agglutination test.

¹ Recebido em 22 de julho de 2011.

Aceito para publicação em 8 de setembro de 2011.

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Rodovia Celso Garcia Cid 380, Cx. Postal 6001, Londrina, PR 86051-990, Brasil.

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa-Rondônia, BR 364, Km 5.5, Caixa Postal 127, Porto Velho, RO.

⁴ Docente de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Cuiabá, Av. Beira Rio 3100, Jardim Europa, Cuiabá, MT 78015-480, Brasil.

⁵ Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado do Paraná, Rua dos Funcionários 1558, Bairro Cabral, Curitiba, PR 86051-980, Brasil.

⁶ Docente do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UEL, Cx. Postal 6001, Londrina, PR 86051-990. *Autor para correspondência: freitasj@uel.br

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp e os fatores de risco associados à infecção em rebanhos bovinos com atividade reprodutiva da região centro-sul do estado do Paraná. Foram utilizados o delineamento estatístico, as amostras sorológicas e as informações referentes às propriedades empregadas no estudo da brucelose bovina no estado do Paraná dentro do Contexto do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose. Foram estudadas 1.880 fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses, provenientes de 274 rebanhos não vacinados contra a *Leptospira* spp. Para o diagnóstico sorológico da infecção foi utilizada a prova de soroaglutinação microscópica.

pica (SAM) com 22 sorovares de *Leptospira* spp. Em cada propriedade foi aplicado um questionário epidemiológico, a fim de obter informações epidemiológicas e práticas de manejo empregadas. Dos 274 rebanhos analisados, 181 foram considerados positivos para a *Leptospira* spp., com a prevalência de rebanhos de 66,06% (I.C.95%=60,12-71,65%). Presença de ≥ 43 bovinos (O.R.=3,120; I.C.=1,418-6,867), compra de reprodutores (O.R.=2,010; I.C.=1,154-3,500), aluguel de pasto (O.R.=2,925; I.C.=1,060-8,068), presença de piquete de parição (O.R.=1,981; I.C.=1,068-3,676) foram identificados como fatores de risco para a infecção para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. na análise de regressão logística multivariada. Os fatores de risco para a infecção pelo sorovar Hardjo foram presença de ≥ 43 bovinos (O.R.=3,622; I.C.=1,512-8,677), compra de reprodutores (O.R.=3,143; I.C.=1,557-6,342), aluguel de pasto (O.R.=4,070; I.C.=1,370-12,087) e presença de eqüinos (O.R.=2,981; I.C.=1,321-6,726). Estes resultados indicam que a infecção pela *Leptospira* spp está amplamente distribuída na região centro-sul do estado do Paraná e que fatores relacionados às características das propriedades e ao manejo estão associados à infecção.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Prevalência, epidemiologia, fator de risco, leptospirose, soroglutinação microscópica.

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose mundialmente difundida, causada pela infecção de diferentes sorovares de *Leptospira* spp. Na espécie bovina, esta doença é responsável por elevadas perdas econômicas na pecuária mundial devido ao comprometimento no desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos (Ellis 1994).

Nas criações bovinas, a disseminação de *Leptospira* spp. é caracterizada principalmente pela presença de animais doentes ou portadores assintomáticos que eliminam a bactéria pela urina, descargas cervico-vaginais, fetos abortados e placenta, mantendo a doença endêmica na propriedade (Faine et al. 1999). Outros fatores como a existência de sorovares de *Leptospira* spp. na região, a criação simultânea de animais de diversas espécies, a presença de animais silvestres, as condições ambientais e climáticas, além do manejo entre outros também podem influenciar o contato do bovino com o microrganismo (Ellis 1984).

No Brasil, a soroprevalência da leptospirose bovina é extremamente variada, tanto em rebanhos, (Favero et al. 2001, Homem et al. 2001, Thompson et al. 2006, Lage et al. 2007) quanto em bovinos de corte e de leite (Langoni et al. 2000, Favero et al. 2001). Levantamentos sorológicos mostram a prevalência do sorovar Hardjo nos rebanhos bovinos brasileiros (Favero et al. 2002, Genovez et al. 2004, Castro et al. 2008, Figueiredo et al. 2009). No estado do Paraná, o sorovar Hardjo também é considerado o mais frequente (Giraldi 2003).

O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e os fatores de risco associados à infecção em rebanhos bovinos com atividade reprodutiva da região centro-sul do estado do Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

População estudada, Este estudo transversal foi realizado na região centro-sul do estado do Paraná (Fig.1), de acordo com o delineamento amostral desenvolvido no estudo da soropidemiologia da brucelose bovina no estado, no contexto do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina (PNCEBT). Esta região inclui os núcleos regionais de administração da Secretaria da Agricultura e Abastecimento (SEAB-PR) de Laranjeiras do Sul, Guarapuava e Ponta Grossa, e envolve 40 municípios com 18.616 propriedades com exploração de bovídeos, 1.558.365 bovídeos e 878.916 fêmeas com idade superior a 2 anos (Paraná 2001).

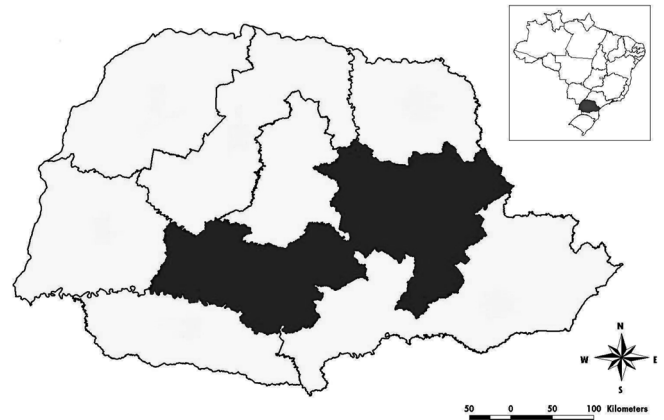


Fig.1. Mapa do estado do Paraná demonstrando a região centro-sul, alvo do presente estudo.

Delineamento amostral. A amostragem foi realizada em duas etapas. Primeiro, a seleção aleatória de um número pré-estabelecido de propriedades, que representam as unidades primárias de amostragem. Dentro das unidades primárias, foi amostrado de forma aleatória um número pré-estabelecido de animais (unidades secundárias), com a finalidade de determinar o estado sanitário do rebanho.

O cálculo do número de rebanhos foi determinado pelo grau de confiança do resultado, pelo nível de precisão desejado e pelo valor da prevalência esperado (Noordhuizen et al. 1997), utilizando-se a fórmula para amostras simples aleatórias, segundo Thrusfield (1995) e Noordhuizen et al. (1997):

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot \sqrt{P(1-P)}}{d^2}$$

Onde:

n = número de propriedades amostradas por circuito produtor;
 Z_{α} = valor da distribuição normal para o grau de confiança de 95%;

P = prevalência esperada;

d = precisão, fixada em 5%.

A seleção aleatória dos rebanhos, para cada circuito produtor, foi realizada a partir do cadastro de propriedades existentes junto à base da Unidade Veterinária Local correspondente. Para cada município, as propriedades existentes foram numeradas e os dados armazenados em planilhas do programa Microsoft Excel 2000®. As propriedades a serem amostradas foram selecionadas aleatoriamente, considerando o número de propriedades do município e o número de propriedades amostradas no circuito produtor.

O planejamento amostral para as unidades secundárias visou estimar o número mínimo de animais a serem examinados, dentro de cada propriedade, de forma a permitir a sua classificação como foco ou não foco.

O número de animais selecionados de cada rebanho foi determinado utilizando o programa Herdacc®, *version 3* (University of Guelph), considerando os valores de sensibilidade e especificidade agregada dos procedimentos de diagnóstico, prevalência intra-rebanho e erro padrão (Paraná 2001).

Em rebanhos constituídos por até 99 fêmeas, com idade igual ou superior a 24 meses, foram amostrados 10 animais ou todas as fêmeas nesta faixa etária nos rebanhos com menos de 10 animais. Em rebanhos constituídos por mais de 99 fêmeas, foram amostradas 15 fêmeas (Paraná 2001). A seleção dos animais dentro da propriedade foi aleatória utilizando-se dois métodos, a amostragem aleatória simples ou a aleatória sistemática.

Foram analisadas um total de 1.880 fêmeas com idade ≥ 24 meses, provenientes de 274 rebanhos não vacinados contra leptospirose.

Colheita das amostras de sangue e dados epidemiológicos. A colheita de sangue foi realizada no período de dezembro de 2001 a julho de 2002, por meio de punção da veia jugular utilizando agulha descartável estéril e tubo com vácuo, previamente identificado. As amostras de soro obtidas foram armazenadas em microtubos de plástico e congeladas a -20°C . O questionário epidemiológico foi aplicado em todas as propriedades selecionadas e teve por objetivo obter informações de sistemas de produção e de manejo.

Teste sorológico. Para detectar anticorpos contra *Leptospira* spp, todos os soros foram submetidos à prova de soroprecipitação microscópica (SAM) com antígenos vivos (Faine et al. 1999). Foram utilizados 22 sorovares de referência: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcomb, Cynopteri, Fortbragg, Grippytyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani, Sentot e Tarassovi. Os antígenos foram mantidos a 28°C por 5 a 10 dias em meio EMJH (DIFCO®-USA). As amostras de soros que na SAM apresentaram pelo menos 50% das leptospiros aglutinadas na diluição de 1:100 foram consideradas reagentes e então diluídas geometricamente na razão dois para determinação da diluição máxima positiva.

No animal, o provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título. Com exceção da associação entre os sorovares Hardjo e Wolffi, os animais que apresentaram títulos mais elevados idênticos para dois ou mais sorovares foram excluídos desta análise e considerados reatores para a *Leptospira* spp.

Na propriedade, o provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título e o maior número de reações positivas. Uma propriedade foi considerada positiva (foco) quando apresentou pelo menos um animal sororeagente na propriedade.

Análise de dados. As informações dos questionários, assim como o resultado da sorologia e a condição da propriedade, foram armazenadas num banco de dados utilizando o programa Microsoft Access®. Estes critérios foram estabelecidos utilizando o programa Herdacc®, *version 3* (University of Guelph) considerando o tamanho da população, prevalência intra-rebanho de 50%, sensibilidade e especificidade do teste de diagnóstico utilizado (SAM), de forma a obter sensibilidade e especificidade de rebanho superiores a 90%.

Considerando-se que a amostra de unidades primárias no circuito produtor foi aleatória sistemática (Cochran 1977), a prevalência aparente de focos de *Leptospira* spp foi calculada utilizando-se como parâmetros o número de focos e o número de propriedades

amostradas (Dean et al. 1994). Os cálculos das prevalências de focos e os respectivos intervalos de confiança foram realizados com o auxílio do programa EpiInfo 6.04d (Dean et al. 1994).

As variáveis relacionadas no questionário epidemiológico permitiram o estudo dos fatores de risco. As variáveis analisadas foram: tipo de criação; tipo de exploração; raça predominante; número total de bovinos existentes; número de fêmeas acima de 24 meses; presença de outras espécies domésticas; presença de espécies silvestres de vida livre; uso de inseminação artificial; destino de fetos e placentas; compra ou venda de machos e/ou fêmeas para reprodução; pastagens em comum com outras propriedades; prática de aluguel de pasto; piquete separado para fêmeas na fase de parto e/ou pós-parto e ocorrência de aborto.

As categorias das variáveis foram organizadas de modo a apresentarem-se em escala crescente de risco. Quando necessário, realizou-se a recategorização dessas variáveis. A categoria de menor risco foi considerada como base para a comparação das demais categorias. As variáveis quantitativas foram recategorizadas em quartis.

A análise univariada foi realizada para verificar a associação entre o status do rebanho para a *Leptospira* spp. e sorovar Hardjo (ausência de animais positivos =0; presença de um animal soropositivo =1) e variáveis de risco, utilizando o teste de χ^2 ou teste exato de Fisher. As variáveis com valor de $p < 0,2$ na análise univariada foram incluídas na análise de regressão logística multivariada (Hosmer & Lemeshow 1989). As análises foram realizadas utilizando o programa SPSS *version 9.0* (SPSS INC 1999a).

RESULTADOS

Caracterização da amostra

O número de animais nas propriedades selecionadas variou entre 1 e 2.667, apresentando mediana de 16 animais. A dispersão do número de bovinos, segundo o sistema de exploração zootécnica das propriedades selecionadas está apresentada na Figura 2.

Na amostragem estudada, 98,4% das propriedades de corte eram de criação extensiva, com predomínio (45,31%) de raças zebuínas. A aquisição de animais para a reprodução era realizada em 78,12% das propriedades, sendo 68,75% proveniente diretamente de outras fazendas.

Dos rebanhos leiteiros amostrados, as criações extensivas predominaram em 76,23%, com 51,40% dos rebanhos

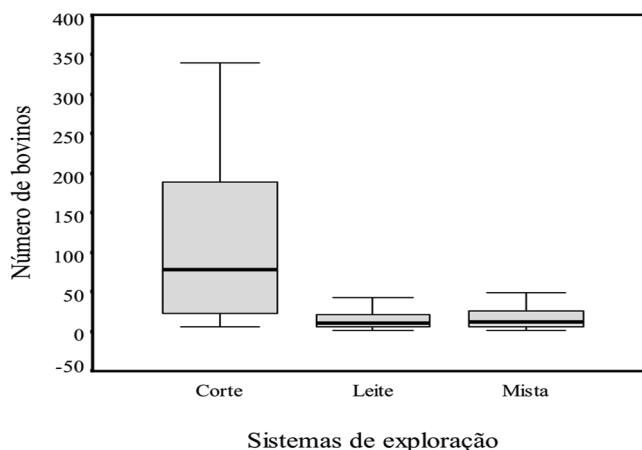


Fig.2. Diagrama de blocos mostrando a dispersão do tamanho dos rebanhos de acordo com o sistema de exploração na região centro-sul do estado do Paraná.

constituídos por raças européias especializadas na produção de leite. A compra de reprodutores era realizada por 49,50% das propriedades, sendo 40,60% proveniente diretamente de outras fazendas. A média de produção na região é de 48,47 L/leite/dia.

As propriedades mistas caracterizaram-se por criações extensivas (95,30%), com predomínio (71,90%) de animais de composição racial mista. A monta natural é o método de reprodução utilizado predominantemente (83,20%) e a ordenha era realizada manualmente em 83,20% das propriedades amostradas. A compra de reprodutores era realizada em 39,04% das propriedades, sendo 69,15% proveniente de outras fazendas.

Prevalência de propriedades reagentes

Das 1.800 fêmeas bovinas analisadas, 647 foram reagentes na SAM para qualquer um dos 22 sorovares de *Leptospira* spp, com títulos variando entre 100 e 3.200.

Dos 274 rebanhos analisados, 181 (66,06%; IC95%=60,12-71,65%) apresentaram pelo menos um animal reagente na SAM para qualquer sorovar.

No Quadro 1 estão apresentados os dados de prevalência de focos de leptospirose segundo o sistema de exploração zootécnica na região centro-sul do estado do Paraná.

No Quadro 2 estão demonstrados os sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes nas propriedades positivas da região centro-sul do estado do Paraná.

Análise dos fatores de risco

Nos Quadros 3 e 4 estão demonstradas as variáveis relacionadas às características de propriedades e de manejo mais associadas à presença ou ausência da infecção para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. e para o sorovar Hardjo, respectivamente, nos rebanhos da região centro-sul do estado do Paraná.

Os fatores de risco associados à infecção para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. e sorovar Hardjo identificados

na análise de regressão logística multivariada estão descritos nos quadros 5 e 6, respectivamente.

DISCUSSÃO

A detecção de 647 animais reagentes na SAM em 181 (66,06%) propriedades da região centro-sul do estado do Paraná indica a presença de *Leptospira* spp. em grande parte do território estudado. No Brasil, estudos sorológicos re-

Quadro 1. Prevalência aparente de focos de leptospirose estratificada por tipo de exploração zootécnica da região centro-sul do estado do Paraná

Sistemas de exploração*	Propriedades amostradas	Propriedades positivas	Prevalência	
			%	IC 95%**
Corte	64	52	81,25	[69,54-89,92]
Leite	101	62	61,39	[51,18-70,91]
Misto	107	66	61,68	[51,78-70,92]
Região	274	181	66,06	[60,12-71,65]

* Duas propriedade não informaram o sistema de exploração, ** Intervalo de confiança de 95%.

Quadro 2. Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes nas propriedades positivas da região centro-sul do estado do Paraná

Sorovar	Proporção de propriedades positivas	Prevalência (%)
Hardjo	99/181	54,70
Grippotyphosa	14/181	7,74
Shermani	13/181	7,18
Tarassovi	05/181	2,76
Sentot	05/181	2,76
Hardjo e Wolffi	03/181	1,66
Autumnalis	03/181	1,66
Australis	03/181	1,66
Bratislava	02/181	1,10
Wolffi	01/181	0,55
Outros	33/181	18,23

Quadro 3. Distribuição das variáveis analisadas associadas à infecção para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná

Variável	Expostos/positivos	Expostos/negativos	P
Rebanho confinado/semi-confinado	15/181	15/93	0,049
Exploração de corte	52/180	12/92	0,014
Raças puras	87/172	35/88	0,098
Ter mais de 43 bovinos	61/181	09/93	0,000
Ter mais de 18 fêmeas acima de 24 meses	57/179	11/93	0,000
Utiliza a inseminação artificial	27/179	18/90	0,117
Contato com ovinos e caprinos	39/181	07/93	0,003
Contato com equinos	144/181	57/93	0,001
Contato com suínos	120/181	64/93	0,674
Contato com cães	167/181	88/93	0,467
Contato com animais silvestres	89/181	42/93	0,529
Histórico de aborto	35/176	10/91	0,066
Deixa produtos de aborto na pastagem	53/109	21/48	0,796
Compra de animais para reprodução	108/180	34/93	0,000
Venda de animais para reprodução	30/180	10/93	0,190
Abate animais na propriedade	21/177	29/93	0,000
Aluga pasto	38/179	05/92	0,001
Pasto comum com outras propriedades	45/180	16/91	0,167
Presença de áreas alagadiças	40/181	23/90	0,526
Presença de piquetes de parição	69/180	20/93	0,005

Quadro 4. Distribuição das variáveis analisadas associadas à infecção pelo sorovar Hardjo em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná

Variável	Expostos/positivos	Expostos/negativos	P
Rebanho confinado/semi-confinado	09/99	15/92	0,133
Exploração de corte	37/98	12/91	0,001
Raças puras	51/94	35/87	0,059
Ter mais de 43 bovinos	46/99	09/92	0,000
Ter mais de 18 fêmeas acima de 24 meses	45/98	11/92	0,000
Utiliza a inseminação artificial	12/99	18/89	0,036
Contato com ovinos e caprinos	28/99	07/92	0,000
Contato com eqüinos	85/99	56/92	0,000
Contato com suínos	66/99	64/92	0,668
Contato com cães	92/99	87/92	0,642
Contato com animais silvestres	55/99	42/92	0,171
Histórico de aborto	23/96	10/90	0,222
Deixa produtos de aborto na pastagem	36/61	20/47	0,236
Compra de animais para reprodução	69/99	33/91	0,000
Venda de animais para reprodução	25/99	10/92	0,010
Abate animais na propriedade	07/98	29/92	0,000
Aluga pasto	28/98	05/91	0,028
Pasto comum com outras propriedades	30/99	15/90	0,028
Presença de áreas alagadiças	23/99	22/89	0,811
Presença de piquetes de parição	33/98	20/92	0,067

Quadro 5. Modelo final de regressão logística multivariada dos fatores de risco associados à infecção para qualquer sorovar de *Leptospira* spp. em rebanhos com atividade reprodutiva da região centro-sul do estado do Paraná

Variáveis	Casos	Expostos	p	OR	IC 95%
Presença de > 43 bovinos	61	70	0,005	3,120	[1,418-6,867]
Compra reprodutores	108	142	0,014	2,010	[1,154-3,500]
Aluguel de pasto	38	43	0,038	2,925	[1,060-8,068]
Presença de piquete de parição	69	89	0,030	1,981	[1,068-3,676]

R² = 17,8%. OR = Odds ratio.

Quadro 6. Modelo final de regressão logística multivariada dos fatores de risco associados à infecção pelo sorovar Hardjo em rebanhos com atividade reprodutiva da região centro-sul do estado do Paraná

Variáveis	Casos	Expostos	p	OR	IC 95%
Presença de > 43 bovinos	46	55	0,004	3,622	[1,512-8,677]
Compra reprodutores	69	102	0,001	3,143	[1,557-6,342]
Aluguel de pasto	28	33	0,012	4,070	[1,370-2,087]
Presença de eqüinos	85	141	0,009	2,981	[1,321-6,726]

R² = 35,4%. OR = Odds ratio.

alizados em animais de produção também demonstraram que a infecção por este microrganismo está bastante difundida (Castro et al. 2008, Figueiredo et al. 2009, Oliveira et al. 2009).

Rebanhos especializados na pecuária de corte demonstraram uma maior prevalência (81,25%) de infecção por *Leptospira* spp. quando comparadas a outros tipos de exploração zootécnica presentes na região estudada. Vasconcellos et al. (1997) examinando rebanhos leiteiros e de corte em seis estados brasileiros, encontraram uma frequência mais elevada de soropositividade para a *Leptospira* spp. entre os bovinos de corte. De acordo com Prescott et al. (1988), as diferentes práticas de manejo empregadas em rebanhos bovinos de corte podem influenciar na manutenção da *Leptospira* spp. neste tipo de exploração.

O sorovar Hardjo (54,70%) foi considerado o mais frequente entre os rebanhos bovinos estudados. Este sorovar é considerado o mais difundido mundialmente entre os bovinos, inclusive no Brasil (Gibaldi 2003, Lage et al. 2007, Castro et al. 2008, Figueiredo et al. 2009). De acordo com Moreira (1994), o sorovar Hardjo é considerado adaptado à espécie bovina que pode comportar-se como reservatório, mantendo a doença no rebanho. A maior frequência de bovinos sororeatores para o sorovar Hardjo detectada neste trabalho sugere que a fonte de infecção mais importante para estes animais seja o próprio bovino infectado.

A frequência de rebanhos sororeagentes para os sorovares Grippotyphosa (7,74%) e Shermani (7,18%) sugere a participação de espécies domésticas e silvestres na transmissão da *Leptospira* spp para os animais estudados. Pellegrin et al. (1999) encontraram uma alta frequência de anticorpos anti-leptospiras contra os sorovares Grippotyphosa e Shermani em bovinos do estado do Mato Grosso e segundo estes autores, a ocorrência destes sorovares nos animais estudados podem estar relacionadas com a presença de animais silvestres na região estudada. De acordo com Bolin (1996), os sorovares de *Leptospira* spp presentes em uma determinada região estão associados à presença de um ou mais hospedeiros de manutenção, que servem como reservatórios naturais da infecção.

Por pertencerem ao mesmo sorogrupo e, portanto, possuírem afinidades antigênicas, podem ocorrer reações cruzadas entre os sorovares Hardjo e Wolffi (Faine et al. 1999). Isto foi verificado no presente estudo (1,66%), embora a ocorrência de Wolffi (0,55%) de forma isolada mostrou-se bastante inferior à de Hardjo (54,70%). Com o intuito de se conhecer a frequência de reações cruzadas entre eles e a importância da inclusão dos dois sorovares na bateria antigênica, as coaglutinações entre os sorovares Hardjo e Wolffi não foram desconsiderados da análise.

A análise multivariada dos fatores de risco para a infecção por *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul demonstrou que propriedades com número ≥ 43 fêmeas possuem maiores chances de serem positivas para a *Leptospira* spp. que propriedades com menor número de fêmeas. De acordo com Alonso Andicoberry et al. (2001), fatores como o tamanho do rebanho podem influenciar na manutenção da *Leptospira* spp. em determinadas populações. Entretanto, a prevalência da leptospirose em uma região dependerá, sobretudo, da presença de animais portadores, que eliminem o microrganismo através da urina, da contaminação do ambiente com leptospirosas vivas, da sobrevivência das mesmas no ambiente e do contato dos animais suscetíveis com o agente (Niang et al. 1994).

A compra de reprodutores foi identificada neste estudo como fator de risco para a doença. No Paraná, Rodrigues et al. (1999) detectaram anticorpos anti-leptospirosas contra o sorovar Hardjo somente em duas das 14 propriedades estudadas, as quais eram as únicas que realizavam a compra frequente de animais. De acordo com Tocantins (2007), a compra de animais, sem a realização de controle sanitário, pode levar a introdução, manutenção e disseminação de doenças, como a leptospirose.

Neste trabalho, propriedades que utilizavam a prática de aluguel de pastos apresentaram mais chances de serem positivas para *Leptospira* spp. que propriedades que não utilizavam. O risco de introdução da leptospirose, através da prática de aluguel de pastos, em um rebanho livre da enfermidade é grande, se o rebanho introduzido na área estiver eliminando o agente pela urina. As *Leptospira* spp. podem permanecer no ambiente por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e sombreamento, o que aumentaria a chance de contato e a infecção de rebanhos cujas propriedades apresentem este tipo de manejo.

A presença de piquetes de parição demonstrou ser um fator de risco para a leptospirose. A maior concentração de animais no piquete e conseqüente acúmulo de urina e contato com eventuais produtos de parto e aborto contaminados podem favorecer a infecção por *Leptospira* spp. de fêmeas e bezerras presentes neste ambiente, principalmente em propriedades onde não exista um manejo sanitário correto.

No presente estudo, a presença de equinos foi considerada um fator de risco à infecção pelo sorovar Hardjo. Na região estudada, a utilização de equinos como animais de serviço em rebanhos bovinos de corte é bastante comum. O estreito convívio entre estes animais pode favorecer a infecção dos equinos pelo sorovar Hardjo e conseqüentemente, podem contribuir para a disseminação da enfermidade nas propriedades estudadas.

A alta prevalência de focos de *Leptospira* spp. nas propriedades da região centro-sul indica que o microrganismo está amplamente distribuído, principalmente entre os bovinos de corte. A análise de fatores de risco associados à infecção pela *Leptospira* spp. nas propriedades estudadas mostra que as medidas de controle devem ser adotadas nos cuidados referentes à compra de animais, desestimular o aluguel de pastos entre propriedades, assim como o uso

de piquetes de parição sem um correto manejo sanitário. Para reduzir de forma considerável o risco de introdução de *Leptospira* spp., os rebanhos livres da infecção devem evitar tanto o contato direto como o indireto com bovinos e outras espécies animais oriundos de locais que possuem histórico sanitário desconhecido.

Os dados epidemiológicos obtidos neste estudo poderão auxiliar na elaboração de estratégias de controle fundamentadas nos estudos da análise dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. na região centro-sul do estado do Paraná.

Agradecimentos. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de doutorado.

REFERÊNCIAS

- Alonso Andicoberry C., García Peña F.J., Pereira Bueno J., Costas E. & Ortega Mora L.M. 2001. Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. *Prev. Vet. Med.* 52:109-117.
- Bolin C.A. 1996. Diagnosis of leptospirosis: A reemerging disease of companion animals. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animals)* 11(3):166-171
- Castro V., Azevedo S.S., Gotti T.B., Batista C.S.A., Gentili J., Moraes 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. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo*, 75(1):3-11.
- Cochran W.G. 1997. *Sampling techniques*. 3ª ed. John Wiley and Sons, New York. 428p.
- Dean A.G., Dean J.A., Colombier D., Brendel K.A., Smith D.C., Burton A.H., Dicker R.C., Sullivan K., Fagan R.F. & Arner T.G. 1994. Epi-Info, Version 6: A word processing database and statistics program for epidemiology on microcomputers. CDC, Atlanta. 601p.
- Ellis W.A. 1984. Bovine leptospirosis in the tropics: Prevalence, pathogenesis and control. *Prev. Vet. Med.* 2:411-421.
- Ellis W.A. 1994. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. North. Am., Food. Anim. Pract.* 10(3):463-478.
- Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. 1999. *Leptospira and leptospirosis*. 2ª ed. Medical Science, Melbourne, Australia. 272p.
- Favero M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Morais 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. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo*. 68(2):29-35.
- Favero A.C.M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. 2002. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Ciência Rural* 32(4):613-619.
- 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.
- Genovez M.E., Oliveira J.C., Castro V., Ferrari C.I.L., Scarcelli E., Cardoso M.V., Paulin L.M. & Lança Neto P. 2004. Serological profile of a nelore herd presenting endemic leptospirosis and submitted to vaccination. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo*, 1(4):411-416.
- Giraldi N. 2003. Avaliação da infecção por leptospira em fêmeas bovinas enviadas ao abate no Norte do Paraná, através de diferentes técnicas diagnósticas. Tese de Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo. 75p.
- Homem V.S.F., Heinemann M.B., Moraes Z.M., Vasconcellos S.A., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. 2001. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. *Revta Soc. Bras. Med. Trop.* 34(2):173-180.

- Hosmer Jr D.W. & Lemeshow S. 1989. Applied logistic regression. Wiley, New York. 307p.
- Lage A.P., Leite R.M.H., Thompson J.A., Bandeira D.A., Herrmann G.P., Moreira E.C. & Gonçalves V.S.P. 2007. Serology for *Leptospira* sp. in cattle of the State of Paraíba, Brazil. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 74(3):185-190.
- Langoni H., Meireles L.R., Gottschalk S., Cabral K.G. & Silva A.V. 2000. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 67(1):37-41.
- Moreira E.C. 1994. Avaliação de métodos para erradicação de leptospiroses em bovinos leiteiros. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 93p.
- Niang M., Will L.A., Kane M., Diallo A.A. & Hussain M. 1994. Seroprevalence of leptospiral antibodies among dairy cattle kept in communal corrals in periurban areas of Bamako, Mali, West Africa. Prev. Vet. Med. 18:259-265.
- Noordhuizen J.P.T.M., Frankena K., Van Der Hoofd C.M. & Graat E.A.M. 1997. Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology. Wageningen Press, Wageningen. 445p.
- Oliveira F.C.S., Azevedo S.S., Pinheiro S.R., Viegas S.A.R.A., Batista C.S.A., Coelho C.P., Moraes Z.M., Souza G.O., Gonçalves A.P., Almeida C.A.S. & Vasconcellos S.A. 2009. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado da Bahia. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 76(4):539-546.
- Paraná. 2001. Programa Estadual de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal: manual de procedimentos: estudo soropidemiológico da brucelose bovina e bubalina. Departamento da Fiscalização, Secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento, Brasília. 21p.
- Pellegrin A.O., Guimarães P.H.S., Sereno J.R.B., Figueiredo J.P., Lage A.P., Moreira E.C. & Leite R.C. 1999. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. Comunicado Técnico 22, Embrapa Pantanal, Corumbá, p.1-9.
- Prescott J.F., Miller R.B., Nicholson V.M., Martin S.W. & Lesnick T. 1988. Seroprevalence and Association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontário. Can. J. Vet. Res. 52:210-215.
- Rodrigues C.G., Müller E.E. & Freitas J.C. 1999. Leptospirose bovina: sorologia na bacia leiteira da região de Londrina, Paraná, Brasil. Ciência Rural 29(2):309-314.
- Tocantins S. 2007. Distribuição espacial da prevalência de aglutininas antileptospira em bovinos em Váceres, MT, Brasil, 2005. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 81p.
- Thompson J.A., Leite R.M.H., Gonçalves V.S.P., Leite R.C., Bandeira D.A., Herrmann G.P., Moreira E.C., Prado P.E.F., Lobato Z.I.P., Brito C.P.T. & Lage A.P. 2006. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. Prev. Vet. Med. 76:290-301.
- Thrusfield M. 1995. Veterinary Epidemiology. 2nd ed. Blackwell Science, Cambridge. 479p.
- SPSS INC. 1999a. SPSS Base 9.0 User's Guide, Chicago. 740p
- Vasconcellos S.A., Arbarini Junior B.O., Umehara O., Morais Z.M., Cortez A., Pinheiro S.R., Ferreira F., Favero A.C.M. & Ferreira Neto J.S. 1997. Leptospirose bovina: níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul, período de janeiro a abril de 1996. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 64(2):7-15.