

ÂNGELA PIAUILINO CAMPOS

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO DA LESÃO RENAL EM CAPRINOS**

TERESINA – PIAUÍ

2016

ÂNGELA PIAUILINO CAMPOS

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO E
CARACTERIZAÇÃO DA LESÃO RENAL EM CAPRINOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí para
obtenção do título de Doutora em Ciência Animal.

Área de Concentração: Sanidade e Reprodução Animal
Orientadora: Dra. Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva

TERESINA – PIAUÍ

2016

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias
Serviço de Processamento Técnico

C198s Campos, Ângela Piaullino
Soroepidemiologia da leptospirose em animais de produção
e caracterização da lesão renal em caprinos / Ângela Piaullino
2016.
75f.: il.

Tese(Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal
do Piauí, Teresina, 2016
Orientação: Prof.^a Dr.^a Silvana Maria Medeiros de Sousa
Silva

1 . Leptospirose 2. Soroepidemiologia 3. Ovino 4. Caprino
5. Bovino 6. Nordeste do Brasil 7. Apoptose 8. Rim I. Título

CDD 636.0896959

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS DE PRODUÇÃO
E CARACTERIZAÇÃO DA LESÃO RENAL EM CAPRINOS**

ÂNGELA PIAULINO CAMPOS

Tese aprovada em: 07/03/2016

Banca Examinadora:



Prof. Dra. Silvana Maria Medeiros de Sousa e Silva (Presidente) / DMV/CCA/UFPI



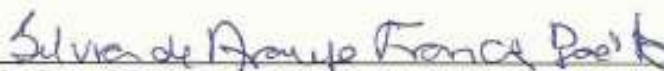
Prof. Dra. Ana Dys Bezerra Barradas Mineiro (Interna) / DCCV/CCA/UFPI



Prof. Dra. Flaviane Alves de Pinho (Externa) / Bolsista DCR/CNPq/FAPEPI



Prof. Dra. Maria das Graças Prianti (Externa) / IESM



Prof. Dra. Silvia de Araújo França Baeta (Interna) / DCCV/CCA/UFPI

Ao meu querido e eterno orientador Professor Dr.
Francisco Assis Lima Costa (*in memoriam*), pela
humildade, competência, paciência, conhecimento e
dignidade no ensino e na pesquisa e por ter contribuído de
forma significativa na minha formação;
Aos meus pais, Neumar e Carmen, que nunca mediram
esforços para me proporcionar um bom estudo, e por
terem semeado em mim valores, como humildade e
honestidade, imprescindíveis para que possamos ir mais
longe

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, pelo dom da vida, e por iluminar e me conduzir às escolhas certas;

Ao meu querido e eterno orientador Professor Dr. Francisco Assis Lima Costa (*in memoriam*), pela humildade, competência, paciência, conhecimento e dignidade no ensino e na pesquisa e por ter contribuído de forma significativa na minha formação;

À minha orientadora Professora Dra. Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva por ter me amparado no momento que mais precisei;

À Universidade Federal do Piauí, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e a CAPES pelo apoio financeiro, fornecendo condições para realização desta pesquisa;

À Professora Dra. Ana Lys Bezerra Barradas Mineiro pela presteza e colaboração;

Ao Professor Dr. Sérgio Santos de Azevedo, da Universidade Federal da Paraíba por ter me orientado em parte da minha pesquisa;

À Vanessa Castro do Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo, pelo apoio laboratorial;

À Dayane, Micherlene, Huanna, Lucilene, Prianti e Flaviane pela disposição e imensa contribuição para a realização desse projeto;

Aos técnicos da Agência de Defesa Agropecuária do Piauí por terem me acompanhado nas coletas;

Ao Celso e Paulo, motoristas da UFPI, por terem me conduzido com segurança na ida às propriedades;

Aos colegas do Laboratório de Doenças da Reprodução, Gustavo, Sabrina, Letícia e Misael pela colaboração nas coletas;

Aos técnicos Eduardo Brás e “Seu Manoel” pela confecção das lâminas de histopatológico;

Aos amigos e colegas do Setor de Patologia Animal pela convivência, em especial aos amigos (as) Larissa, Karina, Luciano, Raquel, Dayane, Micherlene por nossos momentos de descontração;

Aos meus outros amigos (as) de longas datas, que sem precisar citar nomes, moram em meu coração e certamente deixam minha vida mais feliz;

E àqueles que de alguma forma contribuíram para a conclusão de mais esta etapa da minha vida.

Obrigada!

Chegará o tempo em que o homem conhecerá o íntimo de um animal e nesse dia todo crime contra um animal será um crime contra a humanidade.

Leonardo da Vinci

RESUMO

CAMPOS, A.P. **Soroepidemiologia da leptospirose em animais de produção e caracterização da lesão renal em caprinos**. 2016. 75 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

A leptospirose é uma doença endêmica na América Latina, causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*. É considerada uma das principais responsáveis pelo impacto econômico negativo na pecuária nacional e mundial, causando problemas reprodutivos. A pesquisa teve como objetivo determinar a prevalência de leptospirose em bovinos, ovinos e caprinos de criações consorciadas na Microrregião de Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil, identificar os sorotipos prevalentes e fatores de risco associados à soroprevalência, bem como caracterizar as lesões renais em caprinos naturalmente infectados. Para o estudo de prevalência foram analisadas amostras de soro de 336 ovinos, 292 caprinos e 253 bovinos. Para o estudo das alterações renais foram analisadas amostras de soro e fragmentos de tecido renal de caprinos abatidos em matadouro municipal de Teresina, Piauí. O diagnóstico de leptospirose foi realizado através do teste de aglutinação microscópica (MAT). Rins de caprinos sorologicamente positivos e negativos na MAT foram incluídos na casuística da análise das lesões renais e apoptose. No geral, 378 amostras foram positivas na MAT, com soroprevalência de 42,86%. As prevalências em bovinos, ovinos e caprinos foram 50,51%, 40,48% e 34,59%, respectivamente. Todos os rebanhos apresentaram pelo menos um animal soropositivo e a associação sorovar Hardjo/Wolffi foi o mais comum em bovinos e Icterohaemorrhagiae em caprinos e ovinos. A exploração de corte (OR = 4,94), rebanho bovino com mais de 35 animais (OR = 4,03), alimentação a pasto (OR = 6,37), açude e/ou riacho como fonte de água (OR = 2,14) e não ter assistência veterinária (OR = 2,89) foram fatores de risco para a infecção de bovinos. Para ovinos, a criação intensiva (OR = 5,33), instalações do tipo ripado suspenso (OR = 2,22), ter mais que 20 ovelhas em reprodução na propriedade (OR = 1,89) e ausência de vermifugação (OR = 3,49) foram os fatores de risco, enquanto que, para caprinos, os fatores de risco identificados foram rebanho ovino com mais de 52 animais (OR = 1,85) e não possuir assistência veterinária (OR = 1,82). Na análise histopatológica, a nefrite intersticial foi a lesão mais importante. Apoptose foi observada nos rins de todos os caprinos incluídos na casuística, mas nenhuma diferença estatística entre os grupos nas diferentes regiões analisadas (cortical, medular e glomerular) foi verificada. Entretanto, houve uma correlação positiva entre a

presença de nefrite intersticial e o índice apoptótico em rins de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Conclui-se que a infecção está disseminada em rebanhos consorciados nessa região, sendo necessário orientar os produtores sobre os prejuízos causados por esta doença, para que possam ser traçadas estratégias de prevenção e controle, voltadas principalmente para medidas sanitárias e manejo dos animais, e que a lesão renal em caprinos é caracterizada por uma nefrite intersticial localizada principalmente na região cortical, sugerindo-se uma eventual associação dessa lesão com a apoptose de células epiteliais tubulares, mas que estudos adicionais utilizando outros marcadores de apoptose em modelos animais ou em caprinos livres de patógenos são necessários para esclarecer melhor esse evento biológico na leptospirose em caprinos.

PALAVRAS-CHAVES: Leptospirose, soroepidemiologia, ovino, caprino, bovino, nordeste do Brasil, apoptose, rim

ABSTRACT

CAMPOS, A.P. **Seroepidemiology of leptospirosis in animal production and characterization of renal injury in goats.** 2016. 75 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

Leptospirosis is an endemic disease in Latin America, caused by pathogenic bacteria of the genus *Leptospira*. It is considered one of the main responsible for the negative economic impact on the national and global livestock, causing reproductive problems. The research aimed to determine the prevalence of leptospirosis in cattle, sheep and goats consortium creations in Microregion of Teresina, Piauí, Brazil's Northeast, identify prevalent serotypes and risk factors associated with seroprevalence and characterize renal lesions in goats naturally infected. To study the prevalence of serum samples were analyzed from 336 sheep, goats 292 and 253 cattle. For the study of renal impairment serum samples were analyzed and kidney tissue fragments of goat slaughtered in municipal slaughterhouse of Teresina, Piauí. The diagnosis of leptospirosis was performed using the microscopic agglutination test (MAT). Kidneys serologically positive and negative EHV in goats were included in the analysis sample and apoptosis of renal injury. Overall, 378 samples were positive in MAT, with seroprevalence of 42.86%. The prevalence in cattle, sheep and goats were 50.51%, 40.48% and 34.59%, respectively. All herds had at least one positive animal and serovar association serovar / *Wolffi* was the most common in cattle and *Icterohaemorrhagiae* in goats and sheep. The cutting operation (OR = 4.94), cattle over 35 animals (OR = 4.03), feeding on pasture (OR = 6.37), weir and / or stream as a source of water (OR = 2:14) and have no veterinary care (OR = 2.89) were risk factors for cattle infection. For sheep, the intensive farming (OR = 5.33), facilities suspended slatted type (OR = 2.22), having more than 20 sheep breeding on the property (OR = 1.89) and no worming (OR = 3.49) were the risk factors, while for goats, the identified risk factors were herd sheep with more than 52 animals (OR = 1.85) and has no veterinary care (OR = 1.82). In histopathology, interstitial nephritis was the most important injury. Apoptosis was observed in the kidneys of all goats included in the sample, but no statistical difference between groups in different regions analyzed (cortical, medullary and glomerular) was verified. However, there was a positive correlation between the presence of interstitial nephritis and the apoptotic index in goat kidneys naturally infected with *Leptospira* spp. It is concluded that the infection is widespread in mixed herds in the region, it is necessary to guide producers on the damage caused by this disease, so

that they can be traced prevention and control strategies, primarily focused on sanitary measures and handling of animals, and renal injury in goats is characterized by an interstitial nephritis located mainly in the cortical region, suggesting a possible association of this lesion apoptosis of tubular epithelial cells, but further studies using other markers of apoptosis in animal models or in free caprine pathogens are needed to better clarify this biological event in leptospirosis in goats.

KEYWORDS: Leptospirosis, seroepidemiology, sheep, goats, cattle, northeast Brazil, apoptosis, kidney

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Mapa do Estado do Piauí, Nordeste do Brasil. Detalhes mostram a microrregião de Teresina dentro do estado do Piauí.....21

CAPÍTULO II

Figura 1. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. Infiltrado inflamatório mononuclear na região cortical (*). A) Localização periglomerular. B) Localização perivascular. C) Localização subcapsular. Coloração: H-E. Aumento 20x.....53

Figura 2. Análise semi-quantitativa da nefrite intersticial em rim de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. e controles não infectados. *P<0,05, teste Mann-Whitney.....54

Figura 3. Análise semi-quantitativa da nefrite intersticial em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. em diferentes regiões do rim. *P<0,05, teste Mann-Whitney.....54

Figura 4. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. A) Atrofia (♦) e dilatação (*) tubular. Coloração: H-E. Aumento 20x. B) Degeneração pigmentar das células epiteliais tubulares da região cortical (seta). Coloração: H-E. Aumento 40x.....55

Figura 5. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. Fibrose intersticial na região cortical. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento 20x.....56

Figura 6. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. A) Método de TUNEL. Apoptose em células epiteliais tubulares da região medular. Aumento 20x. B) Células epiteliais tubulares da região cortical com características morfológicas de apoptose (anoiquia) (seta). Coloração: HE. Aumento 40x.....57

Figura 7. Correlação entre o índice apoptótico (HE) e a nefrite intersticial da região cortical de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Teste de Spearman.....58

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Prevalência de animais soropositivos para leptospirose na Microrregião de Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil.....	30
Tabela 2. Sorovares de <i>Leptospira</i> sp. prevalentes em bovinos, ovinos e caprinos soropositivos na Microrregião de Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil.....	31
Tabela 3. Sorovares de <i>Leptospira</i> spp. prevalentes em bovinos, ovinos e caprinos da Microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil, de acordo com a espécie animal.....	31
Tabela 4. Análise univariada dos fatores de risco para leptospirose bovina, ovina e caprina na Microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil, com as variáveis mais associadas ($p \leq 0,20$).....	32
Tabela 5. Regressão logística para os fatores de risco associados a leptospirose bovina, caprina e ovina na Microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil.....	33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Taxonomia e classificação.....	15
2.2 Cadeia de transmissão.....	15
2.3 Epidemiologia.....	16
2.4 Patogenia.....	18
2.5 Lesões renais na leptospirose.....	19
3 CAPÍTULO I: Soroprevalência e fatores de risco para leptospirose em bovinos, ovinos e caprinos da microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil.....	22
3.1 Introdução.....	24
3.2 Material e métodos.....	26
3.3 Resultados.....	30
3.4 Discussão.....	33
3.5 Conclusão.....	40
3.6 Referências bibliográficas.....	40
4 CAPÍTULO II: Caracterização da lesão renal em caprinos naturalmente infectados por <i>Leptospira</i> spp.....	49
4.1 Introdução.....	50
4.2 Material e métodos.....	51
4.3 Resultados.....	52
4.4 Discussão.....	58
4.5 Referências bibliográficas.....	60
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO E REVISÃO.....	64
APÊNDICE.....	73

1 INTRODUÇÃO

A produção de bovinos, ovinos e caprinos são atividades exploradas em todos os continentes, estando em áreas que apresentam as mais diversas características edafoclimáticas. No Brasil são atividades importantes tanto do ponto de vista social como econômico, sendo o efetivo de rebanho bovino, ovino e caprino estimado em 212.343 milhões, 17.614 milhões e 8.851 milhões de cabeças, respectivamente (IBGE, 2014).

O Nordeste brasileiro é o maior produtor de caprinos e ovinos, concentrando nessas atividades 91,6% e 57,5% da produção nacional, respectivamente. Tem se destacado por sua vocação para a exploração de ruminantes domésticos e pelo potencial da vegetação natural para a manutenção e sobrevivência dessas espécies. O Estado do Piauí ocupa o terceiro lugar na produção de caprinos do Brasil, com um efetivo estimado em 1.234 milhões de cabeças (13,9%), perdendo apenas para os Estados da Bahia e Pernambuco. Já a ovinocultura piauiense apresenta-se com cerca de 1.210 milhões de cabeças (6,9%), com produção inferior aos estados do Rio Grande do Sul, Bahia, Ceará e Pernambuco. Embora a bovinocultura não seja tão expressiva como a criação de pequenos ruminantes, ainda concentra uma parcela de 0,8% da produção nacional (IBGE, 2014).

O desenvolvimento dessas atividades, no Nordeste, ainda é severamente afetado em decorrência das práticas de manejo sanitário ineficientes que acabam refletindo nas altas incidências de doenças, e dessa forma, determinando a baixa produtividade no setor (PINHEIRO et al., 2000). Tem ganhado destaque os problemas sanitários de ordem infecciosa por serem multietiológicos e caracterizados, principalmente, por causarem transtornos reprodutivos em animais de produção, podendo ocorrer tanto de forma epidêmica como endêmica. Porém, devido à natureza biológica dos principais agentes etiológicos apresentarem tendência à cronicidade, a forma endêmica prevalece e, nessas situações, os distúrbios reprodutivos se manifestam esporadicamente e comprometem um menor número de animais. Com isso, tanto o diagnóstico quanto a adoção das condutas de controle e profilaxia não são realizados de forma rotineira e os prejuízos econômicos ficam mais difíceis de serem mesuráveis, podendo se tornar significativos a médio e/ou longo prazo (JUNQUEIRA; ALFIERI, 2006).

Dentre as enfermidades que determinam distúrbios reprodutivos, as leptospiroses são consideradas uma das principais responsáveis pelo impacto econômico negativo na pecuária nacional e mundial, por causarem abortamentos, infertilidade, repetições deaios, ocorrência de natimortos e retenção placentária, resultando em baixa produtividade (GIVENS, 2006).

Assumem também um papel relevante do ponto de vista da saúde pública por serem zoonoses de risco ocupacional e pelo alto custo do tratamento dos seres humanos.

Tendo em vista esses aspectos, nosso grupo de pesquisa já estuda a quase 15 anos a leptospirose animal, no intuito de saber como está a situação dessa enfermidade no estado. Estudos de prevalência já foram conduzidos em bovinos, ovinos, suínos e cães, mas em caprinos ainda não tinha sido investigado. Além disso, ainda não é do nosso conhecimento nenhum estudo caracterizando a lesão renal em caprinos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Taxonomia e classificação

As leptospiroses são enfermidades causadas por bactérias pertencentes à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae e gênero *Leptospira* (LEE et al., 2000). Até 1989, critérios antigênicos dividiam o gênero em duas espécies, a *L. interrogans* na qual faziam parte mais de 200 cepas patogênicas e *L. biflexa* contendo mais de 60 cepas saprófitas (LEVETT, 2001). Essa divisão se baseava nas reações sorológicas específicas (QUINN et al., 2005), possibilitando identificar as leptospiroses pelas características fenotípicas (sorológicas) e de virulência, subdividindo-as em sorogrupos e sorovares (AHMED et al., 2006). Com o advento das técnicas de biologia molecular, foi introduzida uma classificação baseada em critérios genéticos conduzindo a uma nova definição com cinco genótipos saprófitas e 13 genótipos patogênicos afetando o homem e os animais (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

As leptospiroses são micro-organismos gram-negativos, aeróbios obrigatórios, helicoidais, flexíveis e móveis, fortemente espiralados, com 0,1 µm de diâmetro por 6 a 20 µm de comprimento (FAINE et al., 1999), envoltos por um envelope externo composto por lipopolissacarídeos (MORIKAWA, 2010). São visualizadas somente por microscopia de campo escuro e contraste de fase, por não se corarem bem com corantes bacteriológicos convencionais (FAINE et al., 1999), e por microscopia de luz em tecido corado por imunoperoxidase (GONÇALVES et al., 2011). Sua temperatura ótima de multiplicação varia entre 28° a 30°C e pH entre 7,2 e 7,4, sendo bastante sensíveis à acidez, dessecação, luz solar direta, detergentes e desinfetantes comuns (VINETZ, 2001; ADLER; FAINE, 2005).

2.2 Cadeia de transmissão

A cadeia epidemiológica da leptospirose envolve três elos, as fontes de infecção, as vias de transmissão e o hospedeiro susceptível, cujas medidas de prevenção e controle devem ser direcionadas a todos os elos dessa cadeia (BROD; FEHLBERG, 1992). Sua ocorrência e transmissão podem ser influenciadas por fatores como, características do agente infeccioso, suscetibilidade dos hospedeiros, concentração demográfica, interação entre espécies e populações, finalidade de uso dos animais e, sobretudo, pelas condições ambientais que permitem a manutenção e multiplicação da bactéria (HERHOLZ et al., 2006). Apesar de sua ampla distribuição geográfica, são mais frequentes em regiões de clima tropical (BROWN et al., 2008), sobretudo, em razão das condições ambientais de calor e umidade que favorecem a

manutenção da bactéria no meio ambiente (ZUNINO; PIZARRO, 2007). Em regiões de clima temperado, a doença é sazonal, com grande incidência nos períodos de maior densidade pluviométrica (BHARTI et al., 2003).

Quanto à suscetibilidade dos hospedeiros, existe um grande número de variantes sorológicas (sorovares) e, apesar da especificidade de sorovares por determinados hospedeiros vertebrados (RIET-CORREA et al., 2007) cada espécie animal pode ser reservatório de mais de um sorovar (ACHA; SZYFRES, 2001). Os animais como hospedeiros primários, podem atuar como reservatórios para alguns sorovares, sendo importantes focos de infecção para o homem e outras espécies, embora, possam também, agir como hospedeiros acidentais para outros, nos quais a infecção pode ser grave ou fatal (LEVETT, 2001; RIET-CORREA et al., 2007). Os seres humanos se comportam apenas como hospedeiros acidentais e terminais, tendo pouca ou nenhuma importância na perpetuação da infecção (BADKE, 2001).

O hospedeiro infectado por um sorovar adaptado pode não desenvolver a doença ou apresentá-la de forma discreta, mas tornar-se portador renal por longo período de tempo. Quando os animais são infectados por sorovares não adaptados podem apresentar sintomas graves, embora a fase de portador renal ocorra por período curto (VANASCO et al., 2003). No entanto, esse conceito tem mudado, pois o que se tem visto em vários estudos são determinadas espécies sendo infectadas por sorovares considerados não adaptados e não manifestando a doença, mas apenas adquirindo característica de portador renal crônico. Assim, o aparecimento de sorovares incomuns pode ser explicado pelo compartilhamento do ambiente por diferentes espécies animais, o que pode promover a associação e adaptação de agentes a novos hospedeiros (AGUIAR et al., 2007).

2.3 Epidemiologia

A leptospirose está distribuída mundialmente, particularmente prevalente nas Américas e endêmicas na América Latina e Caribe (GENOVEZ et al., 2006). Está classificada na lista B da Organização Internacional de Epizootias (OIE) como uma enfermidade comum a várias espécies (OIE, 2011). No Brasil, é de notificação compulsória ao serviço veterinário oficial (BRASIL, 2013), porém ainda não existe um programa sanitário voltado para essa enfermidade dificultando se conhecer a real extensão das infecções nos rebanhos de qualquer região do País.

Em animais de produção a leptospirose é uma importante causa de diminuição da produção, estando associada a problemas reprodutivos (FORNAZARI et al., 2012). Em bovinos as manifestações clínicas mais frequentes são aborto, repetição de cio e nartimorto, e muitas

vezes são determinados por sorovares do sorogrupo Serjoe, principalmente o sorovar Hardjo, pois são adaptados aos bovinos (MUGHINI-GRAS et al., 2014).

Inquéritos sorológicos realizados em rebanhos bovinos das diversas regiões brasileiras demonstram prevalências que variaram de 20,7% a 77,9% (OLIVEIRA et al., 2010; SARMENTO et al., 2012; HERRMANN et al., 2012; NICOLINO et al., 2014; PIMENTA et al., 2014; MINEIRO et al., 2014), evidenciando os sorovares Hardjo, Wolfi, Pomona, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae e Canicola como os mais prevalentes (FAVERO et al., 2002; LILENBAUM; SOUZA, 2003; ARAÚJO et al., 2005; THOMPSON et al., 2006; LAGE et al., 2007). O relato mais antigo que se conhece sobre a leptospirose no estado do Piauí, data-se a partir do início da década de 80, com o aumento da demanda pelo diagnóstico laboratorial dos bovinos com suspeita clínica decorrente de transtornos reprodutivos. Um estudo retrospectivo, então, a partir de exames realizados no período de 1984 a 1997, contribuiu consideravelmente para o conhecimento das variantes sorológicas de leptospirosas predominantes em bovinos de vários estados brasileiros, incluindo o Piauí (FAVERO et al., 2002). Nesse estudo foram investigados 10 municípios piauienses, e todos apresentaram rebanhos positivos, com 56,0% dos animais infectados.

Um estudo de prevalência mais recente conduzido na bacia leiteira de Parnaíba, região litorânea piauiense, detectou 52,9% de animais sororreagentes a *Leptospira* spp. Todos os rebanhos examinados encontravam-se infectados por pelo menos um sorovar, com maior prevalência da infecção para o Hardjo (39,5%). Um aspecto que deve ser considerado é que a vacinação contra leptospirose não era realizada nesses rebanhos, admitindo-se que tais resultados estão associados à infecção natural (MINEIRO et al., 2007).

A infecção de ovinos por *Leptospira* spp., conforme evidenciada por inquéritos sorológicos realizados em diversos países, parece ser comum e estar associada na maioria dos casos à presença do sorovar Hardjo, o maior responsável pelas perdas reprodutivas em bovinos e também causador de abortamentos nas ovelhas (CICERONI et al., 2000; HERRMANN et al., 2004). Em relação à leptospirose caprina, embora tenha frequência reduzida, uma vez que essa espécie é considerada menos susceptível a infecção (LEON-VIZCAINO et al., 1987), sua disseminação é um fato real e crescente (LANGONI et al., 1995), com relatos no Brasil que demonstraram soropositividades variando de 24% a 76% (CUNHA et al., 1999), sendo o sorovar Harjo, também, o principal responsável pela infecção (FANG et al. 2014). Entre os fatores envolvidos na transmissão, a criação consorciada com bovinos tem sido apontada como um dos principais, em que ovinos e caprinos adquirem a infecção preferencialmente pelo

contato direto com urina ou água contaminada nos bebedouros coletivos (LILENBAUM et al., 2008). A leptospirose em pequenos ruminantes pode se apresentar de forma aguda, sendo caracterizadas pelo aumento da temperatura corporal, anorexia, depressão, icterícia e síndromes anêmicas ou hemorrágicas (ADLER; MOCTEZUMA, 2010), entretanto a forma crônica é mais frequente e caracterizada por infertilidade, aborto, natimortalidade e diminuição da produção de leite, causando substanciais perdas econômicas (LILENBAUM et al., 2009).

2.4 Patogenia

A transmissão da leptospirose ocorre, geralmente, através do contato direto com sangue ou urina de animais infectados ou indiretamente, mediante exposição prolongada dos animais susceptíveis ao solo e água contaminada ou ingestão de alimentos contaminados com urina de animais infectados (PAPPAS; CASCIO, 2006, PICARDEAU, 2013). Também já foram relatadas as formas de transmissão placentária e venérea (ACHA; SZYFRES, 2001).

As leptospiras após penetrarem no organismo através das mucosas, da pele íntegra quando imersa em água contaminada por tempo prolongado ou da pele com solução de continuidade (LEVETT, 2001; RIET-CORREA et al., 2007) superam os mecanismos de defesa não específicos, ganham a corrente sanguínea e se disseminam para vários órgãos e tecidos, caracterizando um quadro agudo septicêmico denominado leptospiremia (FAGUNDES, 2008). As que conseguem evadir-se das células do sistema fagocítico mononuclear começam a se multiplicar exponencialmente, dobrando a cada 8 horas. Não há evidências de que leptospiras fagocitadas sobrevivam por muito tempo no interior dos fagócitos, embora cepas virulentas tenham a capacidade de atenuar a resposta fagocítica mediante ativação da apoptose de macrófagos (TULSIANI et al., 2010).

Caso os mecanismos de defesa do hospedeiro possibilite que elas ultrapassem a primeira fase da infecção, inicia-se a fase imunológica humoral e celular ou de leptospirúria, na qual são demonstrados níveis variáveis de anticorpos circulantes e as leptospiras desaparecem completamente da circulação (LEVETT, 2001) se refugiando para órgãos onde a imunidade humoral é reduzida, como para luz dos túbulos renais. A colonização renal caracteriza a fase de leptospirúria, em que leptospiras são excretadas na urina (ALCINDO, 2010).

As leptospiras são altamente invasivas e iniciam o processo de inflamação generalizada mediante vários fatores antigênicos de membrana, incluindo lipopolissacarídeos (LPS), peptidoglicanos, hialuronidases, fosfolipases e glicolipoproteínas (YANG; WU; PAN, 2001; SITPRIJA; LOSUWANRAK; KANJANABUCH, 2003), que danificam as membranas das

células endoteliais levando ao rompimento de pequenos vasos sanguíneos (LAFETA, 2006) e a migração das bactérias para os espaços extravasculares. As lesões preliminares são atribuídas à ação mecânica dos microrganismos na parede dos vasos sanguíneos ocasionando as hemorragias (FAGUNDES, 2008).

2.5 Lesões renais na leptospirose

O órgão alvo, onde as lesões provocadas por *L. interrogans* são observadas em maior intensidade, são os rins, embora fígado, pulmões, coração e útero também possam ser acometidos (YANG; WU; PAN, 2001, SITPRIJA; LOSUWANRAK; KANJANABUCH, 2003).

No homem, a nefropatia causada pelas leptospiras tem sido estudada de forma mais consistente (SITPRIJA et al., 1980), mas nos animais pouco se sabe sobre os padrões morfológicos e sobre a patogenia da lesão renal. As leptospiras podem comprometer várias estruturas dos rins, mas as lesões túbulo-interciliares são as mais comuns e caracterizam a alteração patológica básica da doença (MAXIE, 1993). Geralmente o acometimento é multifocal com um quadro que varia desde uma nefrite intersticial inespecífica até necrose tubular aguda (ABDULKADER; SILVA, 2008). A nefrite intersticial crônica é marcada pela presença de infiltrado inflamatório constituído de linfócitos, plasmócitos (YENER; KELES, 2001; SAGLAM; TEMUR; ASLAN, 2003) e macrófagos (ROSSETTI et al., 2004), de localização periglomerular, perivascular e intertubular (YENER; KELES, 2001; SAGLAM; TEMUR; ASLAN, 2003; MARINHO et al., 2003), visualizado macroscopicamente como manchas brancas subcapsulares (MARTÍNEZ et al., 2006; DORJEE et al., 2009; ADLER; MOCTEZUMA, 2010). Estudos envolvendo lesão renal em ovinos, ratos, suínos e cães naturalmente infectados por *Leptospira* spp e modelos experimentais infectados já tem sido demonstrado e as lesões ocorrem de forma semelhante às descritas nos seres humanos (CARVALHO et al., 2008; AGUDELO-FLÓREZ et al., 2013; GONÇALVES et al., 2014; CARNEIRO, 2014).

Sobre o mecanismo de lesão renal na leptospirose ainda há muito que se investigar. Nem sempre as lesões renais verificadas estarão associadas à agressão tecidual direta do agente, pois esse, às vezes pode não ser encontrado na área lesada (MARINHO et al., 2003). Estudos mostram que a participação da imunidade humoral e celular (ABDULKADER et al., 2002; DORIGATTI et al., 2005), a ação de citocinas pró inflamatórias como TNF- α e IL-1 (CINCO et al., 1996; BARNES et al., 1997; BARNETT et al., 1999; LEVETT, 2001) e o envolvimento

de linfócitos Th1 e Th2, também podem ser causas de lesão renal, resultando em nefropatia imunomediada (VISITH et al., 2005). Além disso, outros mecanismos podem estar envolvidos, como a apoptose (WONG et al., 2001), forma ativa de morte celular, controlada geneticamente, que desempenha um papel importante na manutenção dos tecidos e homeostase dos órgãos. A apoptose é um fenômeno complexo, caracterizado por alterações morfológicas e bioquímicas, envolvendo fragmentação do DNA, condensação da cromatina e formação de corpos apoptóticos, sendo regulado por moléculas extrínsecas e intrínsecas à célula (ORTIZ et al., 2000). Tem sido bastante estudada em vários processos patológicos (WONG et al., 2001), como por exemplo nas doenças infecciosas (BARR; TOMEI, 1994), e documentada no curso da lesão renal, tanto em modelos animais como na doença renal clínica (ORTIZ-ARDUAN, 1994). Em condições normais, a apoptose é benéfica, pois mantém a fisiologia renal equilibrada, regulando o número de células durante indução e resolução de injúrias renais (ORTIZ et al., 2002). Entretanto, promove perdas significativas das células epiteliais renais (SANZ et al., 2008) quando as taxas apoptóticas ultrapassam as taxas mitóticas das células do parênquima renal causando fibrose renal (ORTIZ et al., 2000).

Diversas citocinas e mediadores inflamatórios estão envolvidos na indução de apoptose renal (ORTIZ et al., 2000), mediante ligação aos receptores específicos de superfície e sinalização da célula para que se inicie o programa de morte celular (ORTIZ et al., 2000). Dentre esses “ativadores de morte” destacam-se o TNF- α (Fator de Necrose Tumoral α) e IL-1 (Interleucina 1) (GOMEZ-CHIARRI et al., 1994), que podem ser sintetizados por leucócitos, células mesangiais, células epiteliais tubulares renais, células endoteliais e fibroblastos renais (ORTIZ et al., 2000).

Muitos micro-organismos patogênicos já foram relatados induzir a apoptose de células do sistema imune, alterando suas funções imunológicas (KHELEF et al., 1993). Acredita-se que leptospirosas patogênicas induzam apoptose *in vivo* e *in vitro* de macrófagos, porém, com mecanismos pouco esclarecedores (MERIEN; BARANTON; PEROLAT, 1997). Apoptose renal em ovinos infectados com leptospirosas virulentas já foi demonstrado (CARVALHO et al., 2008). Em caprinos infectados por leptospirosas não existe nenhum estudo sobre apoptose renal.

Diante do exposto e considerando a importância da leptospirose sob os aspectos econômicos e de saúde pública, a pesquisa tem como objetivo fazer um levantamento soroepidemiológico da leptospirose em bovinos, ovinos e caprinos de criações consorciadas em propriedades da Microrregião de Teresina, Piauí, identificar os sorovares predominantes nessa

região e os fatores de risco associados à soroprevalência, bem como caracterizar as lesões renais em caprinos naturalmente infectados.

Essa tese apresenta a seguinte estrutura formal: uma introdução seguida de revisão de literatura contendo os objetivos; capítulo I, contendo o artigo intitulado “Soroprevalência e fatores de risco para leptospirose em bovinos, ovinos e caprinos da microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil”, que será submetido para publicação no periódico **Tropical Animal Health and Production** e capítulo II, contendo o artigo intitulado “Caracterização da lesão renal em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp., que será submetido para publicação no periódico **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Os artigos foram formatados conforme as exigências dos periódicos científicos em que serão encaminhados para publicação.

1 3 CAPÍTULO I

2 Soroprevalência e fatores de risco para leptospirose em bovinos, ovinos e caprinos da
3 microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil

4
5 Ângela Piauilino Campos¹, Dayane Francisca Higino Miranda¹, Huanna Waleska Soares¹
6 Rodrigues, Micherlene da Silva Carneiro Lustosa², Gustavo Henrique Chaves Martins², Ana
7 Lys Bezerra Barradas Mineiro², Vanessa Castro³, Sérgio Santos Azevedo⁴, Silvana Maria
8 Medeiros de Sousa Silva¹

9
10 ¹Setor de Patologia Animal, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias,
11 Universidade Federal do Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil

12 ²Laboratório de Fisiopatologia da Reprodução Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do
13 Piauí, 64049-550, Teresina, Piauí, Brasil

14 ³Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, 04014-002, São Paulo, São
15 Paulo, Brasil

16 ⁴Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina
17 Veterinária, 58700-970, Patos, Paraíba, Brasil

18
19 *Autor para Correspondência:

20 Tel: +55 86 32155760

21 e-mail: silvanammss@ufpi.edu.br (Silvana M.M.S. Silva)

22

23 Resumo: A leptospirose é uma doença endêmica na América Latina, causada por bactérias
24 patogênicas do gênero *Leptospira*. É considerada uma das principais responsáveis pelo impacto
25 econômico negativo na pecuária nacional e mundial, causando problemas reprodutivos. A
26 pesquisa teve como objetivo determinar a prevalência de leptospirose em bovinos, ovinos e
27 caprinos de criações consorciadas na Microrregião de Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil, bem

28 como identificar os sorotipos prevalentes e fatores de risco associados à soroprevalência. Foram
29 analisadas amostras de soro de 336 ovinos, 292 caprinos e 253 bovinos utilizando o teste de
30 aglutinação microscópica (MAT). No geral, 378 amostras foram positivas na MAT, com
31 soroprevalência de 42,86%. As prevalências em bovinos, ovinos e caprinos foram 50,51%,
32 40,48% e 34,59%, respectivamente. Todos os rebanhos apresentaram pelo menos um animal
33 soropositivo e a associação sorovar Hardjo/Wolffi o mais comum em bovinos e
34 Icterohaemorrhagiae em caprinos e ovinos. A exploração de corte (OR = 4,94), rebanho bovino
35 com mais de 35 animais (OR = 4,03), alimentação a pasto (OR = 6,37), açude e/ou riacho como
36 fonte de água (OR = 2,14) e não ter assistência veterinária (OR = 2,89) foram fatores de risco
37 para a infecção de bovinos. Para ovinos, a criação intensiva (OR = 5,33), instalações do tipo
38 ripado suspenso (OR = 2,22), ter mais que 20 ovelhas em reprodução na propriedade (OR =
39 1,89) e ausência de vermifugação (OR = 3,49) foram os fatores de risco, enquanto que, para
40 caprinos, os fatores de risco identificados foram rebanho ovino com mais de 52 animais (OR =
41 1,85) e não possuir assistência veterinária (OR = 1,82). Conclui-se que a infecção está
42 disseminada em rebanhos consorciados nessa região. Dessa forma, é necessário orientar os
43 produtores sobre os prejuízos causados por esta doença, para que possam ser traçadas
44 estratégias de prevenção e controle, voltadas principalmente para medidas sanitárias e de
45 manejo dos animais.

46

47 Palavras-chave: Soroepidemiologia, Leptospirose, Pequeno ruminante, Bovino, Nordeste do
48 Brasil

49

50 Abstract: Leptospirosis is an endemic disease in Latin America, caused by pathogenic bacteria
51 of the genus *Leptospira*. It is considered one of the main responsible for the negative economic
52 impact on global livestock by causing reproductive problems. The research aimed to determine

53 the prevalence of leptospirosis in cattle, sheep and goats at consorted rearing in the micro-region
54 of Teresina, Piauí State, Northeastern Brazil, as well as to identify prevalent serovars and risk
55 factors associated with seroprevalence. Serum samples were analyzed in 336 sheep, 292 goats
56 and 253 cattle using the microscopic agglutination test (MAT). Overall, 378 samples were
57 positive at MAT, with seroprevalence of 42.86%. The prevalences in cattle, sheep and goats
58 were 50.51%, 40.48% and 34.59%, respectively. All herds presented at least one seropositive
59 animal and the Hardjo/Wolfi serovar association was the most common in cattle and
60 Icterohaemorrhagiae in goats and sheep. Beef production (OR = 4.94), cattle herd over 35
61 animals (OR = 4.03), feeding on pasture (OR = 6.37), weir and / or stream as water source (OR
62 = 2.14) and no veterinary assistance (OR = 2.89) were risk factors for cattle infection. For sheep,
63 intensive management system (OR = 5.33), suspended slatted installations (OR = 2.22), more
64 than 20 sheep in reproduction on the property (OR = 1.89) and absence of vermifugation (OR
65 = 3.49) were the risk factors, while for goats, the identified risk factors were herd sheep over
66 52 animals (OR = 1.85) and no veterinary assistance (OR = 1.82). We conclude that the
67 infection is spread in consorted herds in this region. In this way, it is necessary to guide
68 producers about the damages caused by this disease, so preventive and control strategies can be
69 outlined, mainly focused on sanitary measures and animal handling.

70

71 Keywords: Seroepidemiology, Leptospirosis, Small ruminant, Cattle, Northeastern Brazil

72

73 **Introdução**

74 A produção de bovinos, ovinos e caprinos são atividades exploradas em todos os
75 continentes, estando em áreas que apresentam as mais diversas características edafoclimáticas.
76 No Brasil são atividades importantes tanto do ponto de vista social como econômico (IBGE,
77 2014). O Nordeste brasileiro é o maior produtor de caprinos e ovinos, concentrando nessas

78 atividades 91,6% e 57,5% da produção nacional, respectivamente. A região se destaca na
79 exploração de ruminantes domésticos e pelo potencial da vegetação natural para a manutenção
80 e sobrevivência dessas espécies. O estado do Piauí ocupa o terceiro lugar na produção de
81 caprinos do Brasil, com efetivo de 1.234 milhões de cabeças (13,9%). Já a ovinocultura
82 apresenta-se com cerca de 1.210 milhões de cabeças (6,9%), com produção inferior aos estados
83 do Rio Grande do Sul, Bahia, Ceará e Pernambuco. Embora a bovinocultura não seja tão
84 expressiva como a criação de pequenos ruminantes, ainda concentra uma parcela de 0,8% da
85 produção nacional (IBGE, 2014).

86 O desenvolvimento dessas atividades no Nordeste é afetado pelas práticas de manejo
87 sanitário ineficientes, que acabam aumentando a incidência de doenças e determinando a baixa
88 produtividade no setor (Pinheiro et al., 2000). Tem ganhado destaque os problemas sanitários
89 de ordem infecciosa, que são multietiológicos e caracterizados, principalmente, por causarem
90 transtornos reprodutivos em animais de produção, podendo ocorrer tanto de forma epidêmica
91 como endêmica (Junqueira; Alfieri, 2006).

92 Neste contexto assume destaque a leptospirose, que está distribuída mundialmente,
93 sendo prevalente nas Américas e endêmica na América Latina e Caribe (Genovez et al., 2006).
94 É causada por bactérias pertencentes à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae e gênero
95 *Leptospira* (Lee et al., 2000), sendo considerada uma das principais responsáveis pelo impacto
96 econômico negativo na pecuária nacional e mundial, por causar problemas reprodutivos, como
97 abortamentos, infertilidade, repetições de cio, ocorrência de natimortos e retenção placentária,
98 resultando em baixa produtividade (Givens, 2006). Além disso, assume papel relevante do
99 ponto de vista da saúde pública por ser zoonose de risco ocupacional (Vasconcelos, 2003).

100 No Brasil, a leptospirose é de notificação compulsória ao serviço veterinário oficial
101 (Brasil, 2013), porém ainda não existe um programa sanitário voltado para essa enfermidade, o
102 que dificulta o conhecimento da distribuição da infecção nos rebanhos. Dessa forma,

103 considerando a importância da leptospirose sob os aspectos econômicos e de saúde pública,
104 este trabalho teve como objetivo determinar a soroprevalência de leptospirose em bovinos,
105 ovinos e caprinos de criações consorciadas em propriedades rurais da microrregião de Teresina,
106 estado do Piauí, Nordeste do Brasil, identificar os sorovares predominantes e identificar fatores
107 de risco associados à soroprevalência.

108

109 **Material e métodos**

110 **Descrição da área de estudo**

111 A microrregião de Teresina está situada na Mesorregião Centro-Norte do Piauí, sendo
112 constituída por quatorze municípios (Figura 1). Caracteriza-se por possuir clima tropical
113 semiúmido com duas estações bem definidas, sendo um período chuvoso de dezembro a abril
114 e um período seco de maio a novembro. A temperatura varia de 22°C a 37°C, precipitação
115 pluviométrica média de 1.400 mm e umidade relativa de 40 a 80%. É composta por floresta
116 decidual secundária mista, caatinga/cerrado, cerrado floresta e babaçual (Medeiros, 2004). A
117 microrregião abrange área total de 9.213,120 km² e possui efetivo de rebanho bovino, ovino e
118 caprino estimado em 81, 86 e 110 mil cabeças, respectivamente (IBGE, 2014).

119

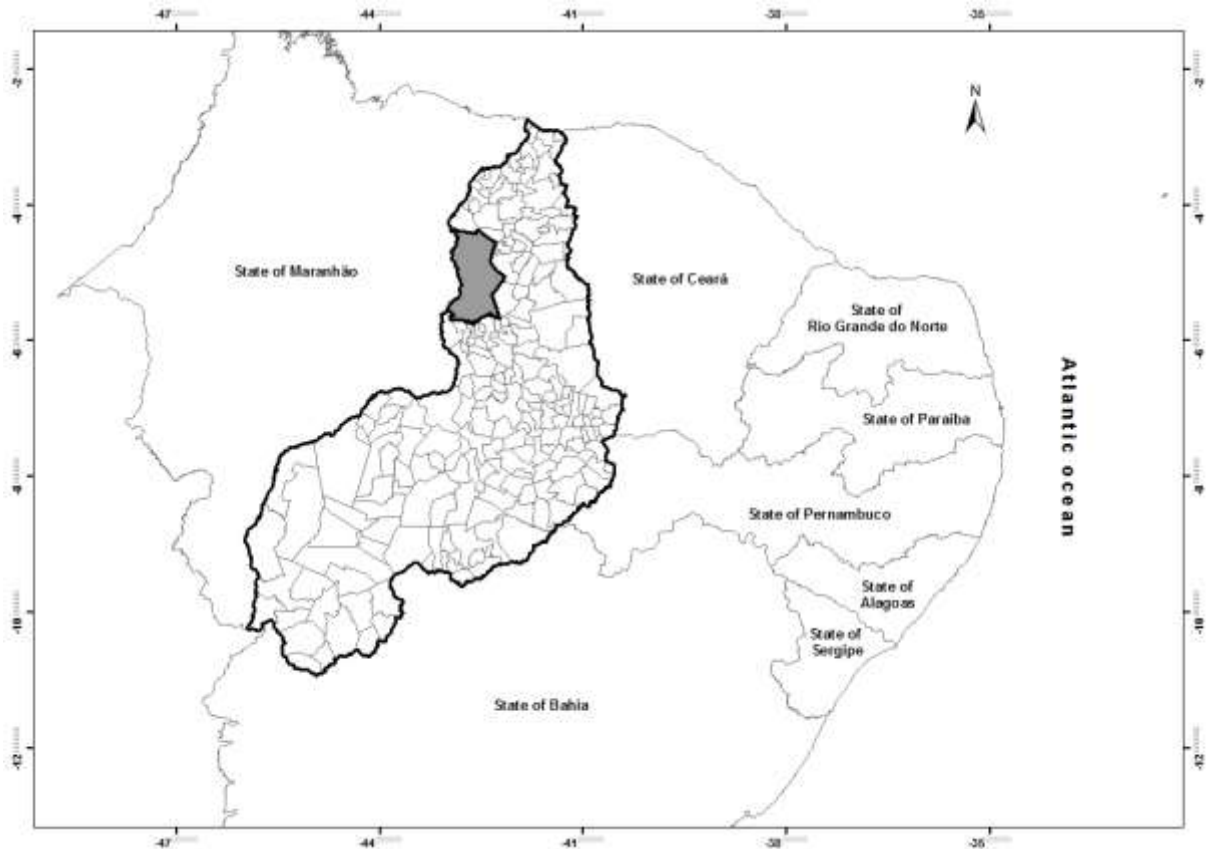


Figura 1. Mapa do Estado do Piauí, Nordeste do Brasil. Detalhes mostram a microrregião de Teresina dentro do estado do Piauí.

120 Delineamento amostral

121 Para determinação do tamanho da amostra (n) para cada espécie animal, considerou-se
 122 prevalência esperada de 50% para maximização da amostra e erro absoluto de 7%, com nível
 123 de confiança de 95% (Thrusfield, 2007), utilizando-se a fórmula para amostras simples
 124 aleatórias descrita abaixo, na qual n = tamanho da amostra baseada em uma população infinita;
 125 P_{esp} = prevalência esperada; 1,96= valor do nível de confiança a 95%; d = erro absoluto.

$$126 \quad n = \frac{1.96^2 P_{esp}(1 - P_{esp})}{d^2}$$

127 O número mínimo da amostra foi de 196 animais para cada espécie, no entanto, foram
 128 colhidas amostras de soro de 336 ovinos, 292 caprinos e 253 bovinos, totalizando 882 animais
 129 de 33 propriedades rurais de criação consorciada (bovinos, ovinos e caprinos) selecionadas por

130 sorteio aleatório simples a partir do cadastro na Agência Estadual de Defesa Agropecuária do
131 Piauí (ADAPI). Os municípios incluídos na pesquisa foram: Altos, Beneditinos, Coivaras,
132 Curalinhos, Demerval Lobão, José de Freitas, Lagoa Alegre, Lagoa do Piauí, Nazária, Pau
133 Darco, Teresina e União. Dois municípios, Miguel Leão e Monsenhor Gil foram excluídos da
134 pesquisa por não terem propriedades de criação consorciada com as três espécies. As amostras
135 foram estratificadas seguindo a proporcionalidade de acordo com o efetivo do rebanho de cada
136 município.

137

138 **Coleta das amostras**

139 Foram coletadas amostras sanguíneas de bovinos, ovinos e caprinos, machos ou fêmeas,
140 de idades e raças variadas, através de punção da veia jugular com tubos a vácuo sem
141 anticoagulante, posteriormente centrifugadas a 10.000g por 5 minutos para obtenção dos soros,
142 que foram armazenados em microtubos de 1,5 ml e estocados a -20°C até a realização do
143 diagnóstico sorológico de leptospirose.

144 Em cada propriedade foi aplicado um questionário epidemiológico para análise dos
145 fatores de risco, no qual foi abordado variáveis relativas à exploração principal (corte/leite),
146 tamanho do rebanho (ponto de corte: 3º quartil), sistema de criação (intensivo/semi-
147 intensivo/extensivo), tipo de instalação (ripado suspenso/galpão), alimentação
148 (pasto/volumoso/concentrado), tipo de cobertura (à campo/controlada), ocorrência de aborto,
149 repetição de cio e parto distócico (sim/não), limpeza e desinfecção das instalações (sim/não),
150 vacinação (sim/não), vermifugação (sim/não), presença de ratos, outros animais domésticos e
151 silvestres (sim/não), fonte de água da propriedade (açude ou riacho/poço tubular) e assistência
152 veterinária (sim/não).

153

154

155 **Diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp.**

156 O diagnóstico de leptospirose foi realizado pela técnica de Soroaglutinação
157 Microscópica (SAM). A técnica foi realizada conforme as recomendações de Galton et al.
158 (1965), utilizando coleção de antígenos composta por 22 sorovares de *Leptospira* spp.:
159 Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Canicola, Castellonis, Copenhageni,
160 Cynopteri, Grippotyphosa, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama,
161 Pomona, Pyrogenes, Sentot, Shermani, Tarassovi, Whitcombi e Wolffi. Foram considerados
162 reagentes os soros com 50% de leptospiros aglutinadas por campo microscópico em aumento
163 de 100 vezes. As amostras reativas na titulação 1:100 foram novamente diluídas de forma
164 seriada na razão dois até a determinação da diluição máxima positiva que apresentasse 50% de
165 aglutinação. O sorovar registrado foi o que apresentou maior titulação, sendo as demais
166 aglutinações consideradas reações cruzadas. Os animais que apresentaram dois ou mais
167 sorovares com títulos idênticos foram positivos, tendo sido considerados para o cálculo de
168 prevalência, embora desconsiderados para o cálculo do sorovar mais frequente, com exceção
169 da coaglutinação Hardjo/Wolffi por pertencerem ao mesmo sorogrupo.

170

171 **Análise estatística**

172 Para a análise de possíveis fatores de risco associados com a soropositividade para
173 leptospirose foram utilizados os dados obtidos com os questionários epidemiológicos. Essa
174 análise foi conduzida em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise
175 univariável, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (resultado da
176 sorologia), e aquelas que apresentaram valor de $p \leq 0,20$ pelo teste de qui-quadrado ou teste
177 exato de Fisher (Zar, 1999) foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando a
178 regressão logística múltipla (Hosmer e Lemeshow, 2000). O nível de significância adotado na

179 análise múltipla foi de 5% e todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 for
180 Windows.

181

182 Resultados

183 Das 882 amostras de soros analisadas, 378 foram positivas na técnica de SAM, obtendo-
184 se soroprevalência de 42,86%, considerando-se o rebanho geral. A prevalência de infecção em
185 bovinos, ovinos e caprinos correspondeu a 50,51%, 40,48% e 34,59% respectivamente, com
186 títulos de anticorpos que variaram de 1:100 a 1:3200 (Tabela 1). Os 33 rebanhos analisados
187 foram focos de infecção, apresentando pelo menos um animal positivo para um dos 22
188 sorovares de *Leptospira* spp. testados. O sorovar mais frequente foi o Icterohaemorrhagiae
189 (53,19%) (Tabela 2).

190

Tabela 1. Prevalência de animais soropositivos para leptospirose na Microrregião de Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil.

Espécie	Animais		Prevalência (%)	*IC 95%
	Amostrados	Positivos		
Ovinos	336	136	40,48%	35,23 - 45,73
Caprinos	292	101	34,59%	29,13 - 40,05
Bovinos	254	141	50,51%	49,49 - 61,62
Total de animais	882	378	42,86%	39,59 - 46,12

*IC 95% - Intervalo de confiança a 95%

191

Tabela 2. Sorovares de *Leptospira* sp. prevalentes em bovinos, ovinos e caprinos soropositivos na Microrregião de Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil.

Sorovar	Proporção de reagentes	Prevalência (%)	*IC 95%
Icterohaemorrhagiae	175/329	53,19%	47,80 - 58,58
Hardjo-Wolffi	42/329	12,77%	9,16 - 16,38
Pomona	27/329	8,21%	5,24 - 11,18
Pyrogenes	26/329	7,90%	4,99 - 10,81
Hardjo	24/329	7,29%	4,48 - 10,10
Bratislava	20/329	6,08%	3,50 - 8,66
Wolffi	8/329	2,43%	0,77 - 4,09
Australis	3/329	0,91%	0 - 1,94
Grippotyphosa	2/329	0,61%	0 - 1,45
Canicola	1/329	0,30%	0 - 0,89
Tarassovi	1/329	0,30%	0 - 0,89

*IC 95% - Intervalo de confiança a 95%

192 Quando a distribuição dos sorovares infectantes foi realizada por espécie, o mais
 193 frequente em bovinos foi a associação Hardjo/Wolffi com 30,65%, e em ovinos e caprinos foi o
 194 Icterohaemorrhagiae, com 68,42% e 78,02%, respectivamente (Tabela 3).

195

Tabela 3. Sorovares de *Leptospira* spp. prevalentes em bovinos, ovinos e caprinos da Microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil, de acordo com a espécie animal.

Sorovar	Bovinos		Ovinos		Caprinos	
	Reagentes	Frequência (%)	Reagentes	Frequência (%)	Reagentes	Frequência (%)
Australis	2/124	1,6	-	-	1/91	1,1
Bratislava	12/124	9,7	4/114	3,5	4/91	4,4
Canicola	-	-	-	-	1/91	1,1
Grippotyphosa	1/124	0,8	1/114	0,9	-	-
Hardjo	22/124	17,7	2/114	1,8	-	-
Hardjo/Wolffi	38/124	30,6	4/114	3,5	-	-
Icterohaemorrhagiae	26/124	21	78/114	68,4	71/91	78
Pomona	11/124	8,9	16/114	14	1/91	1,1
Pyrogenes	5/124	4	9/114	7,9	12/91	13,2
Tarassovi	1/124	0,8	-	-	-	-
Wolffi	6/124	4,8	-	-	1/91	1,1

196

197 Na Tabela 4 são apresentados os resultados da análise univariada com as variáveis mais
 198 associadas ($p \leq 0,20$) à soropositividade em bovinos, ovinos e caprinos para qualquer sorovar
 199 de *Leptospira* spp., e na Tabela 5 os modelos finais de regressão logística com os fatores de
 200 risco. Exploração de corte (OR= 4,94), rebanho bovino acima de 35 animais (OR= 4,03),
 201 alimentação a pasto (OR= 6,37), açude e/ou riacho como fonte de água da propriedade (OR=
 202 2,14) e não ter assistência veterinária (OR= 2,89) foram fatores de risco para a infecção de
 203 bovinos por qualquer um dos sorovares. Para ovinos, a criação intensiva (OR= 5,33),
 204 instalações do tipo ripado suspenso (OR= 2,22), ter mais que 20 ovelhas em reprodução na
 205 propriedade (OR= 1,89) e não realizar a vermifugação dos animais (OR= 3,49) foram os fatores
 206 de risco, enquanto que, para caprinos, os fatores de risco identificados foram rebanho ovino
 207 acima de 52 animais (OR= 1,85) e não possuir assistência veterinária (OR= 1,82).

208

209

210

Tabela 4. Análise univariada dos fatores de risco para leptospirose bovina, ovina e caprina na Microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil, com as variáveis mais associadas ($p \leq 0,20$).

Variável	Expostos/positivos	Expostos/negativos	Valor de p
Bovinos			
Exploração de corte	129/141	91/113	0,018
Rebanho bovino > 35 animais	79/141	43/113	0,006
Rebanho ovino > 55 animais	75/141	44/113	0,033
Criação intensiva	15/141	4/113	0,004
Alimentação: pasto	139/141	101/113	0,004
Fonte de água: açude/riacho	57/141	19/113	< 0,001
Não ter assistência veterinária	88/141	51/113	0,009
Ovinos			
Rebanho ovino > 52 animais	72/136	88/200	0,134
Criação intensiva	15/136	5/200	0,001
Tipo de instalação: ripado suspenso	47/136	29/200	< 0,001
Ocorrência de aborto	104/136	134/200	0,080
Ovelhas em reprodução > 20 animais	74/136	83/200	0,027
Não vermifugar os animais	24/136	14/200	0,004
Aborto em outras espécies	13/136	7/200	0,039
Caprinos			
Rebanho ovino > 52 animais	55/101	83/192	0,088
Não ocorrência de aborto	40/101	57/192	0,113
Fonte de água não ser poço tubular	7/101	3/192	0,035
Não ter assistência veterinária	64/101	102/192	0,119

211

212

Tabela 5. Regressão logística para os fatores de risco associados a leptospirose bovina, caprina e ovina na Microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil.

Fator de risco	Coefficiente de regressão	Erro padrão	Odds ratio (OR)	IC 95%	p
Bovinos					
Exploração de corte	1,597	0,458	4,94	2,01-12,13	< 0,001
Rebanho bovino > 35 animais	1,394	0,362	4,03	1,98-8,19	< 0,001
Alimentação (pasto)	1,851	0,832	6,37	1,25-32,50	0,026
Fonte de água (açude/riacho)	0,760	0,345	2,14	1,09-4,21	0,028
Não ter assistência veterinária	1,060	0,325	2,89	1,53-5,46	0,001
Caprinos					
Rebanho ovino > 52 animais	0,616	0,261	1,85	1,11-3,09	0,018
Não ter assistência veterinária	0,597	0,266	1,82	1,08-3,06	0,025
Ovinos					
Criação intensiva	1,673	0,563	5,33	1,77-16,04	0,003
Instalação (ripado suspenso)	0,796	0,305	2,22	1,22-4,03	0,009
Ovelhas em reprodução (> 20)	0,638	0,248	1,89	1,16-3,08	0,010
Não vermifugar os animais	1,249	0,392	3,49	1,62-7,52	0,001

213

214

215 **Discussão**

216 A elevada prevalência da infecção nos animais (42,86%) e nas propriedades (100%)
217 observada nesse estudo sugere infecção natural, uma vez que os questionamentos sobre o
218 manejo sanitário foram realizados, constatando-se que a vacinação contra leptospirose não foi
219 praticada nesses rebanhos. Entre os animais soropositivos, 74,77% apresentaram títulos de
220 1:100 e 1:200, sugerindo infecção crônica. Esse tipo de infecção é particularmente determinado
221 por sorovares adaptados acompanhadas por baixos títulos de anticorpos (Kasimanickam et al.
222 2007). Dos animais soropositivos 25,23% apresentaram títulos de anticorpos que variaram de
223 1:400 até 1:3200, o que indicaria infecção aguda se caso esses elevados títulos estivessem
224 associados a manifestações clínicas, como febre, depressão, anorexia e icterícia (Adler;
225 Moctezuma, 2010), o que não foi observado nos animais desse estudo. É importante destacar
226 que a extensão da endemicidade em uma região específica pode ser considerada para a
227 determinação de um ponto de corte apropriado na sorologia, sugerindo que os pontos de corte
228 podem variar entre espécies e/ou regiões estudadas (Picardeau, 2013).

229 A prevalência nos bovinos foi a mais elevada entre as espécies desse estudo (50,51%).
230 Inquéritos sorológicos para detecção de anticorpos anti-leptospiras em rebanhos bovinos de
231 vários estados brasileiros demonstraram diferentes prevalências, revelando que a infecção está
232 disseminada conforme evidenciado em estudos conduzidos na Bahia, com 45,43% de bovinos
233 sororreagentes (Oliveira et al. 2009), no Maranhão, 35,94% (Silva et al., 2012), na Paraíba,
234 61,1% (Pimenta et al., 2014), em Goiás, 62,20% (Marques et al., 2010), no Mato Grosso do
235 Sul, 70% (Figueiredo et al., 2009), no Centro-Sul do Paraná, 66,06% (Hashimoto et al., 2012)
236 e nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Rio Grande do Sul, 83,10% (Herrmann et al., 2012).

237 Vários inquéritos sorológicos realizados no Brasil apontaram os sorovares Hardjo,
238 Wolfi, Pomona, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae e Canicola como os mais prevalentes em
239 bovinos (Favero et al., 2002; Lilenbaum; Souza, 2003; Araújo et al., 2005; Thompson et al.,

240 2006; Lage et al., 2007) e, na escala de importância, o Hardjo como sendo o mais difundido e
241 responsável pelo impacto econômico na pecuária bovina por causar transtornos reprodutivos
242 (Gomes, 2008). Por ser um sorovar adaptado, os bovinos podem se comportar como
243 reservatórios, atuando como fontes de infecção para bovinos e outras espécies, principalmente
244 caprinos e ovinos que compartilham da mesma área (Lilenbaum et al., 2008).

245 O sorogrupo Hardjo/Wolffi foi o mais frequente nos bovinos no presente estudo
246 (30,65%), com títulos de anticorpos que variaram de 1:100 até 1:3200, seguidos dos sorovares
247 Icterohaemorrhagiae (21%), Hardjo (17,7%) e Wolffi (4,8%). Embora o Hardjo não tenha se
248 destacado como o sorovar mais frequente, é importante ressaltar que reações cruzadas com
249 Wolffi ocorrem constantemente devido às estreitas relações antigênicas entre ambos (Costa et
250 al., 1998).

251 No modelo final de regressão logística constatou-se que bovinos de propriedades de
252 exploração do tipo corte apresentaram 4,94 vezes mais chances de serem soropositivos. Esse
253 achado concorda com um estudo realizado em fêmeas bovinas do Estado do Mato Grosso do
254 Sul que apontou os rebanhos de exploração do tipo corte como mais susceptíveis em relação
255 aos rebanhos leiteiros (Figueiredo et al., 2009). Outro estudo também apontou os rebanhos de
256 exploração de corte como mais propensos à infecção, condição possivelmente relacionada às
257 diferenças de manejo, como a monta natural em rebanhos de corte e inseminação artificial em
258 rebanhos leiteiros (Prescott et al., 1988).

259 A presença de mais de 35 animais no rebanho (OR= 4,03) também foi identificada,
260 nesse estudo, como fator de risco para a infecção por qualquer sorovar. Quanto maior o rebanho,
261 maiores são as chances de um hospedeiro susceptível ser exposto ao um agente etiológico.
262 Resultados semelhantes foram encontrados em rebanhos de fêmeas bovinas no estado da Bahia
263 (Oliveira et al., 2010). Além disso, bovinos que se alimentavam no pasto tiveram 6,37 vezes
264 mais chances de serem soropositivos. A presença de pastos e/ou fontes de água contaminadas

265 comuns a outros rebanhos, como ovino e caprino, por exemplo, e a interação com espécies
266 silvestres podem refletir significativamente na transmissão. Sabe-se que o agente, uma vez
267 presente no ambiente, permanece viável por longos períodos, dependendo das condições de
268 umidade, temperatura e sombreamento, aumentando a chance de contato e infecção de um novo
269 indivíduo susceptível (Faine et al., 1999).

270 As variáveis exploração de corte, rebanho acima de 35 animais e alimentação ser pasto
271 em conjunto se assemelham bem a um sistema de criação extensiva, no qual os animais
272 permanecem a maior parte do tempo à campo sem passar por um manejo sanitário periódico, o
273 que facilitaria a manutenção e a disseminação da infecção para outros bovinos, caso a infecção
274 já estivesse instalada no rebanho. Outro estudo apontou a densidade de cabeças por área de
275 pastejo como sendo um fator de risco para leptospirose mais importante do que o próprio
276 tamanho do rebanho, por possibilitar maior contato entre os animais, facilitando a disseminação
277 da infecção (Genovez et al., 2006), entretanto, essa variável não foi avaliada.

278 A fonte de água na propriedade ser açude e/ou riacho reforça ainda mais a importância
279 da água na cadeia epidemiológica da leptospirose, por ser considerada o fator ambiental mais
280 importante na manutenção do agente (Adler; Moctezuma, 2010). A região estudada é banhada
281 por dois rios perenes que formam pequenos riachos e açudes. Esses recursos hídricos
282 geralmente são caracterizados por água doce de pH neutro a levemente alcalino que são
283 ambientes favoráveis para as leptospiras permanecerem viáveis por várias semanas (Brod;
284 Fehlberg, 1992). Água de açude e/ou riacho ter sido considerado fator de risco para a infecção
285 nesse estudo pode ter ocorrido pelo acesso direto dos animais às fontes de água contaminada
286 ou de forma indireta através de roedores e outras espécies silvestres carregando a infecção para
287 os bebedouros, cochos e pasto onde residem os animais. Um estudo no Maranhão também
288 detectou fonte de água de açude como fator de risco para a infecção em rebanhos ovinos

289 (Carvalho et al., 2014), embora outro tenha mostrado que a fonte de fornecimento de água não
290 se relacionou com a presença de leptospirose em bovinos (Juliano et al., 2000).

291 A ausência de assistência veterinária constituiu-se, também, fator de risco para
292 leptospirose em bovinos, pois a falta de orientação dos produtores acerca das principais medidas
293 de controle e profilaxia relacionadas a essa enfermidade faz com que a maior parte dos
294 produtores, principalmente dos pequenos, busque os serviços veterinários apenas quando a
295 infecção está instalada. É importante destacar que a leptospirose em animais de produção tende
296 à cronicidade se tornando endêmica nos rebanhos, manifestando-se através de transtornos
297 reprodutivos. Devido essas manifestações ocorrerem esporadicamente e comprometerem
298 menor número de animais, os prejuízos econômicos se tornam mais difíceis de serem
299 mensuráveis. Com isso, a adoção das condutas de controle e profilaxia não são realizados de
300 forma rotineira e o prejuízo econômico acaba se tornando significativo apenas a médio ou longo
301 prazo (Junqueira; Alfieri, 2006).

302 As prevalências de infecção em ovinos e caprinos nesse estudo foram de 40,48% e
303 34,59%, respectivamente. Em relação à leptospirose ovina, diferentes prevalências já foram
304 constatadas em várias regiões brasileiras, como no Maranhão, 32% (Carvalho et al., 2014),
305 Paraíba, 5,4% (Alves et al., 2012), São Paulo, 16,68% (Silva et al., 2012), Minas Gerais, 22,2%
306 (Salaberry et al., 2011), Distrito Federal, 3% (Seixas et al., 2011), Rondônia, 33,3% (Aguilar et
307 al., 2010), Rio de Janeiro, 47,4% (Martins; Lilenbaum, 2013) e Espírito Santo, 10,4% (Cortizo
308 et al., 2015). Essas variações de prevalências entre os estados podem ser consequência das
309 diferentes formas de manejo, localização geográfica, concentração demográfica e
310 movimentação dos animais, suscetibilidade dos hospedeiros, interação entre as espécies e
311 características do agente etiológico, sobretudo pelas condições ambientais favoráveis à sua
312 sobrevivência (Higino et al., 2012). Água e solo contaminado com excrementos de animais
313 infectados também são importantes fontes de infecção (Adler; Moctezuma, 2010; Ganoza et al.,

314 2006). Nos últimos anos, este aspecto ecológico ganhou importância devido ao aumento da
315 incidência de exposição a ambientes contaminados (Vijayachary et al., 2008).

316 Em rebanhos ovinos a infecção é bastante comum e está associada na maioria dos casos
317 à presença do sorovar Hardjo, o maior responsável por abortamentos em ovelhas (Ciceroni et
318 al., 2000; Herrmann et al., 2004), apesar do sorovar *Icterohaemorrhagiae* ter sido o mais
319 frequente (68,4%) nesse estudo, seguido do *Pomona* (14%) e *Pyrogenes* (7,9%). Provavelmente
320 esse resultado tenha ocorrido pela presença de outras espécies habitando os arredores da
321 criação, principalmente os roedores sinantrópicos por serem os hospedeiros naturais desse
322 sorovar, e que, embora essa variável não tenha sido significativa, não descarta a possibilidade
323 de infecção acidental frente à exposição em decorrência das diferentes condições de criação.
324 Estudos realizados em outras regiões brasileiras também constataram o sorovar
325 *Icterohaemorrhagiae* como prevalente em ovinos e sugeriram o envolvimento de roedores
326 sinantrópicos nas criações de ovinos (Hashimoto et al 2010; Silva et al 2012; Cortizo et al.,
327 2015). Variações entre sorovares prevalentes em ovinos no Brasil têm sido relatadas, os quais
328 podem estar associados às diferentes condições edafoclimáticas regionais, bem como a
329 diversidade de reservatórios silvestres (Favero et al., 2002; Aguiar et al., 2010; Hashimoto et
330 al., 2010).

331 No modelo de regressão logística multivariada, os fatores de risco associados à infecção
332 de ovinos foram: criação intensiva, instalações do tipo ripado suspenso, quantidade de ovelhas
333 em reprodução acima de 20 e não vermifugar os animais. Em rebanhos de manejo intensivo ou
334 extensivo quando consorciado com bovinos a infecção é mais frequente com a transmissão
335 ocorrendo preferencialmente pelo contato direto com urina ou através da água contaminada dos
336 bebedouros coletivos (Faine et al., 1999; Lilenbaum et al., 2008), conforme verificado nos
337 resultados desse estudo no qual a criação intensiva foi um fator de risco significativo.

338 Os rebanhos com mais de 20 ovelhas em reprodução também foi fator de risco para
339 infecção. Considerando que a leptospirose é uma doença que afeta o sistema reprodutivo, na
340 qual as formas de transmissão venérea e transplacentária podem ocorrer (Acha; Szyfres, 2001),
341 o contato com restos de placenta e fetos abortados nas instalações ou no campo proveniente de
342 fêmeas infectadas pode aumentar o risco de infecção, principalmente em propriedades onde não
343 exista um manejo sanitário adequado.

344 O uso de instalações do tipo ripado suspenso aumentou em 2,22 vezes as chances de
345 ovinos adquirirem a infecção. Esperava-se ser um fator protetor, uma vez que instalações desse
346 tipo estão relacionadas a uma melhor higienização e o ripado impede o contato direto dos
347 animais com fezes, urina e restos de matéria orgânica, ambiente propício para a sobrevivências
348 das leptospirosas. Nesse caso, sugere-se que a infecção tenha ocorrido por meio dos cochos e
349 bebedouros contaminados dentro das instalações.

350 Não vermifugar os animais também foi fator de risco para a leptospirose ovina. Sabe-se
351 que a ausência dessa prática nos rebanhos torna os animais mais susceptíveis ao aparecimento
352 de verminoses, deixando-os imunodeprimidos e vulneráveis a outras infecções, dentre elas a
353 leptospirose, além de ser um indicador indireto de manejo sanitário deficitário.

354 Relativo à leptospirose caprina, embora tenha frequência reduzida, uma vez que essa
355 espécie é considerada menos susceptível a infecção (Leon-Vizcaino et al., 1987), sua
356 disseminação é um fato real e crescente, com relatos no Brasil que demonstraram prevalências
357 de 31,1% em rebanhos caprinos de Minas Gerais (Santos et al. 2012), 14,5% em caprinos do
358 estado do Rio Grande do Norte (Araújo Neto et al., 2010), 20,9% em caprinos do Rio de Janeiro
359 (Lilenbaum et al., 2008) e 35,47% em Santa Catarina (Topazio et al., 2015). Esses dados
360 refletem a situação atual da leptospirose em rebanhos caprinos, mostrando que as elevadas
361 prevalências possivelmente tenham sido influenciadas pela prática de criação consorciada,
362 principalmente com ovinos. O sorovar mais frequente, assim como nos ovinos, foi o

363 Icterohaemorrhagiae (78%) seguido dos sorovares Pyrogenes (13,2%) e Bratislava (4,4%), com
364 títulos de anticorpos que variaram de 1:100 a 1:800.

365 O modelo de regressão logística multivariada apontou como fatores de risco associados
366 à infecção dos caprinos rebanho ovino acima de 52 animais e não possuir assistência veterinária
367 (OR= 1,82). Criar ovinos em quantidade superior a 52 animais na mesma área dos caprinos
368 aumentou 1,85 vezes as chances desses contrair a infecção. Em estudo conduzido em Santa
369 Catarina os resultados foram semelhantes, em que o contato ovelhas aumentou em 1,64 vezes
370 a possibilidade de infecção dos caprinos (Topazio et al., 2015). A criação consorciada tem sido
371 apontada como um dos principais fatores envolvidos na transmissão para caprinos,
372 preferencialmente de forma indireta, através do contato com urina de animais infectados ou
373 compartilhamento de água contaminada nos bebedouros coletivos (Lilenbaum et al., 2008). A
374 falta de assistência veterinária também foi fator de risco significativo, ratificando os achados
375 de Lilenbaum et al. (2008), que examinaram caprinos adultos de propriedades localizadas no
376 estado do Rio de Janeiro, e observaram que rebanhos raramente visitados por um veterinário
377 ou aqueles sem nenhuma assistência veterinária estavam mais expostos ao risco de infecção.
378 Isso significa que, mesmo quando o veterinário não está diretamente envolvido em um
379 programa de controle de leptospirose, a sua presença é responsável por práticas sanitárias e de
380 gestão que melhoram indiretamente as condições dos animais, resultando em uma diminuição
381 significativa da incidência de doenças parasitárias e infecciosas, incluindo a leptospirose.

382

383

384

385 **Conclusão**

386 Os dados epidemiológicos desse estudo possibilitaram conhecer as variantes sorológicas
387 predominantes e os fatores de risco envolvidos com a soropositividade para leptospirose em

388 bovinos, caprinos e ovinos da microrregião de Teresina, estado do Piauí, Nordeste do Brasil,
389 concluindo-se que a infecção é endêmica e disseminada em rebanhos de criação consorciada
390 dessa região. Dessa forma, faz-se necessário a orientação dos produtores acerca dos prejuízos
391 causados por essa enfermidade, para que possam ser traçadas estratégias de profilaxia e controle
392 voltadas principalmente para medidas sanitárias e de manejo dos animais.

393

394 **Referências**

395 Acha, P.N., Szyfes, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los
396 animales. 3 ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. P. 175-186.

397 Adler, B., Moctezuma, A.P. 2010. *Leptospira* and Leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, 140,
398 287-296.

399 Aguiar, D.M., Cavalcante, G.T., Vasconcellos, S.A., Souza, G.O., Labruna, M.B., Camargo,
400 L.M.A., Gennari, S.M. 2010. Anticorpos anti*Leptospira* spp. em ovinos do Município de Monte
401 Negro, Estado de Rondônia. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77, 529-532.

402 Araújo, V.E.M., Moreira, E.C., Navega, L.A.B., Silva, J.A., Contreras, R.L. 2005. Frequency
403 of anti-*Leptospira interrogans* agglutinins in bovine serum samples in Minas Gerais, Brazil,
404 1980 to 2002. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57, 430-435.

405 Araújo Neto J.O., Alves C.J., Azevedo S.S., Silva M.L.C.R., Batista C.S.A. 2010.
406 Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio
407 Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. *Brazilian Journal of Veterinary*
408 *Research and Animal Science*, 47, 150-155.

409 Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 50 de 24
410 de setembro de 2013. Lista de doenças animais, de notificação obrigatória em território
411 brasileiro.

- 412 Brod, C.S., Fehlberg, M.F. 1992. Epidemiologia da leptospirose em bovinos. *Ciência Rural*, 22,
413 239-245.
- 414 Carvalho, S.M., Mineiro, A.L., Castro, V., Genovez, M.E., Azevedo, S.S., Costa, F.A. 2014.
415 Leptospirosis seroprevalence and risk factors for sheep in Maranhão state, Brazil. *Tropical*
416 *Animal Health and Production*, 46, 491-494.
- 417 Ciceroni, L., Lombardo, D., Pinto, A., Ciarrocchi, S., Simeoni, J. 2000. Prevalence of antibodies
418 to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. *Journal of Veterinary*
419 *Medicine*, 47, 217-223.
- 420 Cortizo, P., Loureiro, A.P., Martins, G., Rodrigues, P.R., Faria, B.P., Lilienbaum, W.,
421 Deminicis, B.B. 2015. Risk factors to incidental leptospirosis and its role on the reproduction
422 of ewes and goats of Espírito Santo state, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 47,
423 231-235.
- 424 Costa, M.C.R., Moreira, E.C., Leite, R.C., Martins, N.R.S. 1998. Avaliação da imunidade
425 cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e*
426 *Zootecnia*, 50, 11-17.
- 427 Faine, S., Adler, B., Bolin, C., Perolat, P. *Leptospira and Leptospirosis*, 2 ed. Melbourne:
428 MediSci, 1999. 272p.
- 429 Favero, A.C.M., Pinheiro, S.R., Vasconcellos, S.A., Morais, Z.M., Ferreira, F., Neto, J.S.F.
430 2002. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos,
431 caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Ciência Rural*, 32, 613-619.

- 432 Figueiredo, A.O., Pellegrin, A.O., Gonçalves, V.S.P., Freitas, E.B., Monteiro, L.A.R.C.,
433 Oliveira, J.M., Osório, A.L.A.R. 2009. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em
434 bovinos do Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29, 375-381.
- 435 Galton, M.M., Sulzer, C.R., Santa Rosa, C.A., Fields, M.J. 1965. Application of a
436 microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Applied Microbiology*, 13,
437 81-85.
- 438 Ganoza, C.A., Matthias, M.A., Collins, R.D., Brouwer, K.C., Cunningham, C.B., Segura, E.R.,
439 Gilman, R.H., Gotuzzo, E., Vinetz, J.M. 2006. Determining risk for severe leptospirosis by
440 molecular analysis of environmental surface waters for pathogenic *Leptospira*. *PLoS Medicine*,
441 3, 1329-1340.
- 442 Genovez, M.E., Del Fava, C., Castro, V., Gotti, T.B., Dib, C.C., Pozzi, R.C., Arcaro, J.R.P.,
443 Miyashiro, C., Nassar, A.F.C., Cirrilo, S.L. 2006. Leptospirosis outbreak in dairy cattle due to
444 *Leptospira* spp. serovar Canicola: reproductive rates and serological profile after treatment with
445 streptomycin sulfate. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 73, 389-393.
- 446 Givens, M.D. 2006. A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in
447 beef cattle. *Theriogenology*, 66, 648-654.
- 448 Gomes, M.J.P. 2008. Gênero *Leptospira* spp. e leptospirose bovina. [online]. Disponível em:
449 <<http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/lepto.pdf>> Acesso em: 8 abr. 2015.
- 450 Hashimoto, V.Y, Dias, J.A., Spohr, K.A.H., Silva, M.C.P., Andrade, M.G.B., Muller, E.E.,
451 Freitas, J.C. 2012. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos
452 bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32, 99-105.

- 453 Hashimoto, V.Y., Garcia, J.L., Spohr, K.A.H., Silva, F.G., Alves, L.A., Freitas, J.C. 2010.
454 Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos
455 do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*,
456 77, 521-524.
- 457 Herrmann, G.P., Rodrigues, R.O., Machado, G., Lage, A.P., Moreira, E.C., Leite, R.C. 2012.
458 Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado Rio
459 Grande do Sul, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 13, 131-138.
- 460 Herrmann, G.P., Lage, A.P., Moreira, E.C., Haddad, J.P.A., Resende, J.R., Rodrigues, R.O.,
461 Leite, R.C. 2004. Soroprevalência de aglutininas anti-leptospiras spp em ovinos nas
462 mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, 34,
463 443-448.
- 464 Higino, S.S.S., Alves, C.J., Santos, C.S.A.B., Vasconcellos, S.A., Silva, M.L.C.R., Brasil,
465 A.W.L., Pimenta, C.L.R.M., Azevedo, S.S. 2012. Prevalência de leptospirose em caprinos
466 leiteiros do semiárido paraibano. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32, 199-203.
- 467 Hosmer, D.W.; Lemeshow, S. (Eds.). *Applied logistic regression*. New York: John Wiley &
468 Sons, 2000. 375p.
- 469 IBGE. 2014. Produção da Pecuária Municipal 2013.
470 <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2013/>. Acesso 10 Set 2015.
- 471 Juliano, R.S., Chaves, N.S.T., Santos, C.A., Ramos, L.S., Santos, H.Q., Meireles, L.R.,
472 Gottschalk, S., Corrêa Filho, R.A.C. 2000. Prevalência e aspectos epidemiológicos da
473 leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microrregião de Goiânia-GO. *Ciência Rural*, 30,
474 857-862.

- 475 Junqueira, J.R., Alfieri, A.A. 2006. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com
476 ênfase para causas infecciosas. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 27, 289-298.
- 477 Kasimanickam, R., Whittier, W.D., Collins, J.C., Currin, J.F., Inman, B., Hall, J.B., Pelzer,
478 K.D. 2007. A field study of the effects of a monovalent *Leptospira borgpetersenii* serovar
479 Hardjo strain Hardjobovis vaccine administered with oxytetracycline on reproductive
480 performance in beef cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 231, 1709-
481 1714.
- 482 Lage, A.P., Leite, R.M.H., Thompson, J.A., Bandeira, D.A., Herrmann, G.P., Moreira, E.C.,
483 Gonçalves, V.S.P. 2007. Serology for *Leptospira* sp. in cattle of the State of Paraíba, Brazil.
484 *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 74, 185-190.
- 485 Langoni, H., Marinho, M., Baldani, S., Silva, A.V., Cabral, K.G., Silva, E.D. 1995. Pesquisa
486 de aglutininas anti-*Leptospiras* em soros ovinos do Estado de São Paulo, Brasil, utilizando
487 provas de macroaglutinação em placa e soroaglutinação microscópica. *Revista Brasileira de*
488 *Medicina Veterinária*, 17, 264-268.
- 489 Lee, S.H., Kim, K.A., Park, Y.G., Seong, I.W., Kim, M.J., Lee, Y.J. 2000. Identification and
490 partial characterization of a novel hemolysin from *Leptospira interrogans* serovar lai. *Gene*,
491 254, 19-28.
- 492 Leon-Vizcaino, L., Mendoza, M.H., Garrido, F. 1987. Incidence of abortions caused by
493 leptospirosis in sheep and goats in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and*
494 *Infectious Diseases*, 10, 149-153.
- 495 Lilenbaum, W., Souza, G.N. 2003. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de
496 Janeiro, Brazil. *Research in Veterinary Science*, 75, 249-251.

- 497 Lilenbaum, W., Vargas, R., Medeiros, L., Cordeiro, A.G., Cavalcanti, A., Souza, G.N.,
498 Richtzenhain, L.J., Vasconcellos, S.A. 2008. Risk factors associated with leptospirosis in dairy
499 goats under tropical conditions in Brazil. *Research in Veterinary Science*, 84, 14-17.
- 500 Marques, A.E., Rocha, W.V., Brito, W.M.E.D., Fioravanti, C.S., Parreira, I.M., Jayme, V.S.
501 2010. Prevalência de anticorpos anti-leptospira spp. e aspectos epidemiológicos da infecção em
502 bovinos do estado de Goiás. *Ciência Animal Brasileira*, 11, 607-617.
- 503 Martins, G., Lilenbaum, W. 2013. The panorama of animal leptospirosis in Rio de Janeiro,
504 Brazil, regarding the seroepidemiology of the infection in tropical regions. *BMC Veterinary*
505 *Research*, 9, 237.
- 506 Medeiros, R.M. Estudo Agrometeorológico para o Estado do Piauí, (Secretaria do Meio
507 Ambiente e Recursos Hídricos do Estado do Piauí, Teresina). 2004. 113p.
- 508 OIE 2011. World organisation for animal health [http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/
509 oie-listed-diseases-2011/](http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2011/). Acesso em 02/02/2016.
- 510 Oliveira, F.C.S., Azevedo, S.S., Pinheiro, S.R., Viegas, S.A.R.A., Batista, C.S.A., Coelho, C.P.,
511 Moraes, Z.M., Souza, G.O., Gonçalves, A.P., Almeida, C.A.S., Vasconcellos, S.A. 2009.
512 Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia.
513 *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, 76, 539-546.
- 514 Oliveira, F.C.S., Azevedo, S.S., Pinheiro, S.R., Batista, C.S.A., Moraes, Z.M., Souza, G.O.,
515 Gonçalves, A.P., Vasconcellos, S.A. 2010. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas
516 bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária*
517 *Brasileira*, 30, 398-402.

- 518 Pimenta, C.L.R.M., Castro, V., Clementino, I.J., Alves, C.J., Fernandes, L.G., Brasil, A.W.L.,
519 Santos, C.A.S.B., Azevedo, S.S. 2014. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência
520 e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. *Pesquisa Veterinária*
521 *Brasileira*, 34, 332-336.
- 522 Picardeau, M. 2013. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine et Maladies*
523 *Infectieuses*, 43, 1-9.
- 524 Pinheiro, R.R., Gouveia, A.M.G., Alves, F.S.F., Haddad, J.P.A. 2000. Aspectos
525 epidemiológicos da caprinocultura cearense. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e*
526 *Zootecnia*, 52, 534-543.
- 527 Prescott, J.F., Miller, R.B., Nicholsoon, V.M., Martin, S.W., Lesnick, T. 1988. Seroprevalence
528 and association with abortion of leptospirosis in cattle in Ontario. *Canadian Journal of*
529 *Veterinary Research*, 52, 210-215.
- 530 Salaberry, S.R.S., Castro, V., Nassar, A.F.C., Castro, J.R., Guimarães, E.C., Lima-Ribeiro,
531 A.M.C. 2011. Seroprevalence and risk factors of antibodies against *Leptospira* spp. in ovines
532 from Uberlândia municipality, Minas Gerais state, Brazil. *Brazilian Journal Microbiology*,
533 42, 1427-1433.
- 534 Santos, P.J., Lima-Ribeiro, A.M.C., Oliveira, P.R., Santos, M.P., Junior, A.F., Medeiros, A.A.,
535 Tavares, T.C.F. 2012. Seroprevalence and risk factors for Leptospirosis in goats in Uberlândia,
536 Minas Gerais, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 101-106.
- 537 Seixas, L.S., Melo, C.B., Leite, R.C., Moreira, E.C., Mcmanus, C.M., Castro, M.B. 2011. Anti-
538 *Leptospira* sp. agglutinins in ewes in the Federal District, Brazil. *Tropical Animal Health and*
539 *Production*, 43, 9-11.

- 540 Silva, F.J., Conceição, W.L.F., Fagliari, J.J., Girio, R.J.S., Dias, R.A., Borba, M.R., Mathias,
541 L.A. 2012. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão.
542 Pesquisa Veterinária Brasileira, 32, 303-312.
- 543 Silva, R.C., Costa, V.M., Shimabukuro, F.H., Richini-Pereira, V.B., Menozzi, B.D., Langoni,
544 H. 2012. Frequency of *Leptospira* spp. in sheep from Brazilian slaughterhouses and its
545 association with epidemiological variables. Pesquisa Veterinária Brasileira, 32, 194-198.
- 546 Thompson, J.A., Leite, R.M.H., Gonçalves, V.S.P., Leite, R.C., Bandeira, D.A., Herrmann,
547 G.P., Moreira, E.C., Prado, P.E.F., Lobato, Z.I.P., Brito, C.P.T., Lage, A.P. 2006. Spatial
548 hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans*
549 serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. Preventive
550 Veterinary Medicine, 76, 290-301.
- 551 Thrusfield, M. Epidemiologia veterinária. 2 ed. São Paulo: Roca, 2004. 556p.
- 552 Topazio, J., Tonin, A.A., Machado, G., Noll, J.C.G., Ribeiro, A., Moura, A.B., Carmo, G.M.,
553 Grosskopf, H.M., Martins, J.L.R., Badke, M.R.T., Stefani, L.M., Lopes, L.S., Silva, A.S. 2015.
554 Antibodies to *Leptospira interrogans* in goats and risk factors of the disease in Santa Catarina
555 (West side), Brazil. Research in Veterinary Science, 99, 53-57.
- 556 Vasconcelos, C.G.C. 2003. Zoonoses ocupacionais: inquérito soro-epidemiológico em
557 estudantes de Medicina Veterinária e análise de risco para leptospirose, brucelose e
558 toxoplasmose. 107 f. Tese (Doutorado) – UNESP/Botucatu.
- 559 Vijayachary, P., Sugunan, A.P., Shriram, A.N. 2008. Leptospirosis: an emerging global public
560 health problem. Journal of Biosciences, 33, 557-569.
- 561 Zar, J.H. (Ed.). Biostatistical analysis. 4ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 662p.

4 CAPÍTULO II

Caracterização da lesão renal em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp.¹

Ângela P. Campos*², Dayane F.H. Miranda², Micherlene S. Carneiro², Lucilene S. Silva²,
Huanna W.S. Rodrigues², Flaviane A. Pinho³, Vanessa Castro⁴ e Silvana M.M.S. Silva²

ABSTRACT.- Ângela P.C., Dayane F.H.M., Micherlene S.C., Lucilene S.S., Huanna W.S.R., Flaviane A.P., Vanessa C., Silvana M.M.S.S. 2016. [**Characterization of renal lesions in caprines naturally infected by *Leptospira* spp.**] Caracterização da lesão renal em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Setor de Patologia Animal, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal do Piauí, Campus da Socopo S/N, Teresina, PI 64.049-550, Brasil. E-mail: angelapiauilino@hotmail.com

Leptospirosis is a zoonotic disease of acute and chronic nature that affects domestic animals, wild and man caused by spirochetes of the genus *Leptospira* pathogenic. Several organs can be affected, but the target where the lesions are observed in greater intensity, are the kidneys. In man renal injury has been described more consistently, but the animals there are few studies of the pathogenesis and morphological patterns. Therefore this study aimed to characterize the renal lesions in goats naturally infected with *Leptospira* spp. blood samples and kidney fragments were collected from 100 goats slaughtered in slaughterhouses Teresina, Piauí. The diagnosis of leptospirosis was conducted by microscopic agglutination test. For the histopathological study, renal tissue slides were prepared and stained with hematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff, Masson's trichrome and periodic acid silver metanamine. Detection of apoptosis was carried out using the TUNEL method. Of the samples tested in the microscopic agglutination test, 29% responded to one or more *Leptospira* spp. In histopathology, interstitial nephritis was the most important injury, being more significant in positive goat kidneys and located mainly in the cortical region. Apoptotic cells were observed in all animals by dialing TUNEL and HE staining, but there was no statistical difference in apoptotic index between groups in different regions analyzed. positive correlation between interstitial nephritis and the apoptotic index in goat kidneys naturally infected with *Leptospira* spp. It was verified. These results show that kidney injury in goats is characterized by an interstitial nephritis located mainly in the cortical region and that a possible association of this lesion apoptosis in tubular epithelial cells Further studies using other markers of apoptosis in animal models or in pathogen free goats are needed to clarify this biological event in leptospirosis in goats.

INDEX TERMS: Leptospirosis, goat, apoptosis, kidney.

RESUMO.- A leptospirose é uma zoonose de caráter agudo a crônico que acomete os animais domésticos, silvestres e o homem causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. Vários órgãos podem ser acometidos, mas o alvo, onde as lesões são observadas em maior intensidade, são os rins. No homem a lesão renal já foi descrita de forma mais consistente, mas

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Setor de Patologia Animal, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus da Socopo, Teresina, PI 64.049-550, Brasil. *Autor para correspondência.

³ Laboratório de Sanidade Animal, Universidade Federal do Piauí, Campus da Socopo, Teresina, PI, Brasil.

⁴ Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução do Instituto Biológico de São Paulo, Brasil.

nos animais existem poucos estudos envolvendo a patogenia e os padrões morfológicos. Portanto esse trabalho teve como objetivo caracterizar as lesões renais em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Foram coletadas amostras sanguíneas e fragmentos de rim de 100 caprinos abatidos em matadouros de Teresina, Piauí. O diagnóstico de leptospirose foi realizado pela técnica de soroaglutinação microscópica. Para o estudo histopatológico, lâminas de tecido renal foram preparadas e coradas com hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff, tricrômico de Masson e ácido periódico prata metanamine. A detecção da apoptose foi realizada utilizando o método de TUNEL. Das amostras testadas na soroaglutinação microscópica, 29% reagiram para um ou mais sorovares de *Leptospira* spp. Na análise histopatológica, a nefrite intersticial foi a lesão mais importante, sendo mais significativa em rins de caprinos positivos e localizada principalmente na região cortical. Células em apoptose foram observadas em todos os animais pela marcação de TUNEL e coloração de HE. Não houve diferença estatística no índice apoptótico entre os grupos nas diferentes regiões analisadas, mas uma correlação positiva entre a nefrite intersticial e o índice apoptótico em rins de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. foi verificada. Os resultados deste trabalho mostram que a lesão renal em caprinos é caracterizada por uma nefrite intersticial localizada principalmente na região cortical e que existe uma eventual associação dessa lesão com a apoptose em células epiteliais tubulares, porém estudos adicionais utilizando outros marcadores de apoptose em modelos animais ou em caprinos livres de patógenos são necessários para esclarecer melhor esse evento biológico na leptospirose em caprinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Leptospirose, caprino, apoptose, rim.

INTRODUÇÃO

As leptospiroses são zoonoses de caráter agudo a crônico que acometem os animais domésticos, silvestres e o homem, sendo causadas por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira* (Lee et al. 2000). Após penetrarem no hospedeiro susceptível, superam as defesas não específicas, ganham a corrente sanguínea e se disseminam para órgãos e tecidos caracterizando uma fase leptospirêmica. Posteriormente segue uma fase imunológica humoral e celular, na qual são demonstrados níveis variáveis de anticorpos circulantes e as leptospiroses desaparecem da circulação (Levett 2001) se refugiando para órgãos onde a imunidade humoral é reduzida (Arruda 2005). Vários órgãos podem ser acometidos, mas o alvo, onde as lesões são observadas em maior intensidade, são os rins (Sitprija et al. 2003).

As lesões renais causadas pelas leptospiroses tem sido estudada de forma consistente no homem (Sitprija et al. 1980), mas nos animais existem poucos estudos envolvendo a patogenia e os padrões morfológicos, uma vez que vários mecanismos podem estar envolvidos. As leptospiroses podem comprometer várias estruturas dos rins, mas as lesões túbulo-intersticiais são as mais comuns (Maxie 1993). Geralmente é caracterizada por uma nefrite intersticial crônica marcada pela presença de infiltrado inflamatório linfocitário e plasmocitário (Saglam et al. 2003, Rossetti et al. 2004) de localização periglomerular, perivascular e intertubular (Yener & Keles 2001, Marinho et al. 2003), visualizado macroscopicamente como manchas brancas subcapsulares (Dorjee et al., 2009). Estudos envolvendo lesão renal em ovinos, suínos, cães e ratos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. e em modelos experimentais infectados já foram demonstrados e as lesões ocorrem de forma semelhante às descritas nos seres humanos (Carvalho et al. 2008, Gonçalves et al. 2014, Agudelo-Flórez et al. 2013, Carneiro 2014).

As leptospiroses são altamente invasivas e iniciam o processo inflamatório mediante fatores antigênicos (Sitprija et al. 2003) que danificam as membranas das células endoteliais levando ao rompimento de pequenos vasos sanguíneos e migração para os espaços extravasculares (Lafeta 2008). Porém, nem sempre as lesões estarão associadas à agressão tecidual direta do agente (Marinho et al. 2003). Vários mecanismos podem estar envolvidos no

curso da lesão renal. Estudos mostram a participação da imunidade humoral e celular (Dorigatti et al. 2005), a ação de citocinas pró inflamatórias como TNF- α e IL-1 (Levett 2001) e o envolvimento de linfócitos (Visith & Kearkiat 2005). Um outro mecanismo proposto é a apoptose. Trata-se de uma forma ativa de morte celular controlada geneticamente, que em condições normais mantém a fisiologia renal equilibrada, regulando o número de células durante a indução e resolução de injúrias (Ortiz et al. 2002). Entretanto, promove perdas significativas das células epiteliais renais (Sanz et al. 2008) quando as taxas apoptóticas ultrapassam as taxas mitóticas das células do parênquima renal causando fibrose (Ortiz et al. 2000). Tem sido bastante estudada em processos patológicos de origem infecciosa e não-infecciosa (Boatright & Salvesen 2003) e documentada em muitas doenças renais (Jo et al. 2001). Muitos micro-organismos patogênicos já foram relatados induzir apoptose de células do sistema imune (Khelef et al. 1993). Acredita-se que leptospirosas patogênicas induzam apoptose in vivo de macrófagos, porém, com mecanismos pouco esclarecedores (Merien et al. 1997). O papel da apoptose na patogênese da leptospirose, assim como os mecanismos pelos quais a leptospira induz a ativação da morte celular não são bem compreendidos.

Este trabalho teve como objetivo caracterizar as lesões renais em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp.

MATERIAL E MÉTODOS

Colheita e processamento do material. Foram coletadas amostras sanguíneas e fragmentos de rim de 100 caprinos abatidos em matadouros de inspeção municipal em Teresina, Piauí. O sangue foi colhido no momento da sangria da linha de abate para obtenção do soro e posterior diagnóstico de leptospirose. Na inspeção das vísceras foram colhidos fragmentos de rim com aproximadamente 0,5 cm de espessura e fixados em formol neutro a 10% tamponado com fosfato pH 7,2 para análise histopatológica e imunoistoquímica.

Diagnóstico de leptospirose. O diagnóstico de leptospirose foi realizado pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), realizada conforme as recomendações de Galton (1965) contra uma coleção composta por 22 sorovares de *Leptospira* spp.: Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Canicola, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Grippotyphosa, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Sentot, Shermeni, Tarassovi, Wolffii e Whitcombi. Foi considerado reagente o soro com 50% de leptospirosas aglutinadas por campo microscópico em aumento de 100 vezes.

Análise histopatológica. Fragmentos de tecido renal previamente fixados em formol foram desidratados gradativamente em concentrações crescentes de álcool etílico (70% a 100%), diafanizados em xilol, embebidos e incluídos em parafina. Secções de 5 μ m de espessura a partir do tecido renal parafinado foram colocados em lâminas e corados com hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff (PAS), tricrômico de Masson e ácido periódico prata metanamine (PAMS), conforme os procedimentos de rotina. Para a análise das alterações histopatológicas foram utilizados rins de 14 caprinos positivos na SAM e 10 controles negativos. As alterações renais foram classificadas semi-quantitativamente e analisadas de acordo com a localização, distribuição e intensidade das lesões, utilizando escores em escala de 0 a 5, no qual 0= normal, 1= mínima; 2= média; 3= moderada; 4= moderadamente severa; 5= severa (Pirani 1994).

Deteção *in situ* de apoptose. A presença de células em apoptose foi investigada pelo método de TUNEL (TdT mediated dUTP nick end Labeling) em cortes histológicos de tecido renal, utilizando o kit apopTag Peroxidase *in situ* (Chemicon International, Califórnia, USA, código S7101) seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante. Para a técnica, cortes de tecido renal foram tratados previamente (desparafinização e hidratação) e incubados com proteinase K (Invitrogen life Technologies, Califórnia, Sigma, Chemical, USA) por 15 minutos. Em seguida foi feito o bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio

a 3% por 5 minutos. Os cortes foram incubados com Equilibration buffer por 10 segundos em temperatura ambiente, e em seguida incubados com solução Terminal Deoxynucleotidil Transferase (TdT) em atmosfera úmida a 37°C por 60 minutos com subsequente parada da reação com uma solução tampão (stop/wash buffer) por 10 minutos, em seguida incubados com o conjugado anti-digoxigenina por 30 minutos. A revelação da reação foi realizada com 0,3mg/ml de 3,3'- diaminobenzidina em solução salina tamponada (PBS) com 0,06% de peróxido de hidrogênio e contracoloração com hematoxilina de Harrys. Entre cada etapa foi realizada uma lavagem com PBS. As lâminas foram montadas com resina sintética (10796 Novo Entellan®, Merck) para exame em microscópio de luz. Como controle positivo foi utilizado tecido de intestino no qual a apoptose ocorre de forma intensa e como controle negativo foi omitida a enzima TdT na reação, conforme recomendação do fabricante.

Análise morfométrica. A análise morfométrica foi realizada nas lâminas coradas com HE e TUNEL em sistema de análise de imagem computadorizada (Leica Qwin D-1000, versão 4.1). Foram capturados 20 campos aleatórios por corte de tecido renal de cada animal, das regiões cortical, medular e glomérulo, em objetiva de 40x para quantificação das células em apoptose. Os parâmetros utilizados para identificação de uma célula em apoptose foram, presença de anoiquia (alo claro perinuclear), condensação da cromatina, fragmentação do DNA intranuclear e formação de corpos apoptóticos (fragmentação celular) (Kerr et al. 1972, Carvalho et al. 2008). O índice apoptótico (IA) foi determinado pelo somatório de células apoptóticas vezes 100, dividido pelo somatório de células totais no campo ($IA = \frac{\sum n^\circ \text{ de células apoptóticas}}{\sum n^\circ \text{ de células totais}} \times 100$).

Análise estatística. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego Califórnia, EUA). Foi utilizado o teste de Mann-Whitney ou teste t para comparação entre dois grupos e os testes de Pearson e Spearman para correlacionar variáveis. Adotou-se o nível de significância de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Das 100 amostras de soro caprino testadas na soroaglutinação microscópica (SAM), 29 (29%) reagiram para um ou mais sorovares de *Leptospira* spp., com títulos de anticorpos que variaram de 1:100 a 1:400. O sorovar de maior ocorrência foi o Icterohaemorrhagiae, correspondendo a 48,28% (14/29), seguido dos sorovares Autumnalis, 24,14% (7/29), Castellonis, 20,69% (6/29), Butembo, 3,45% (1/29) e Pomona, 3,45% (1/29).

Dentre as lesões histopatológicas, a nefrite intersticial foi a mais importante, sendo observada em rins de todos os caprinos soropositivos e caracterizada pela presença de infiltrado inflamatório mononuclear constituído predominantemente por linfócitos e macrófagos, de distribuição focal e localização periglomerular (Fig. 1A), perivascular (Fig. 1B), peritubular e subcapsular (Fig. 1C) com intensidade variando de mínima a moderadamente severa. A nefrite intersticial foi mais significativa em rins de caprinos positivos (Fig. 2) e localizada principalmente na região cortical (Fig. 3).

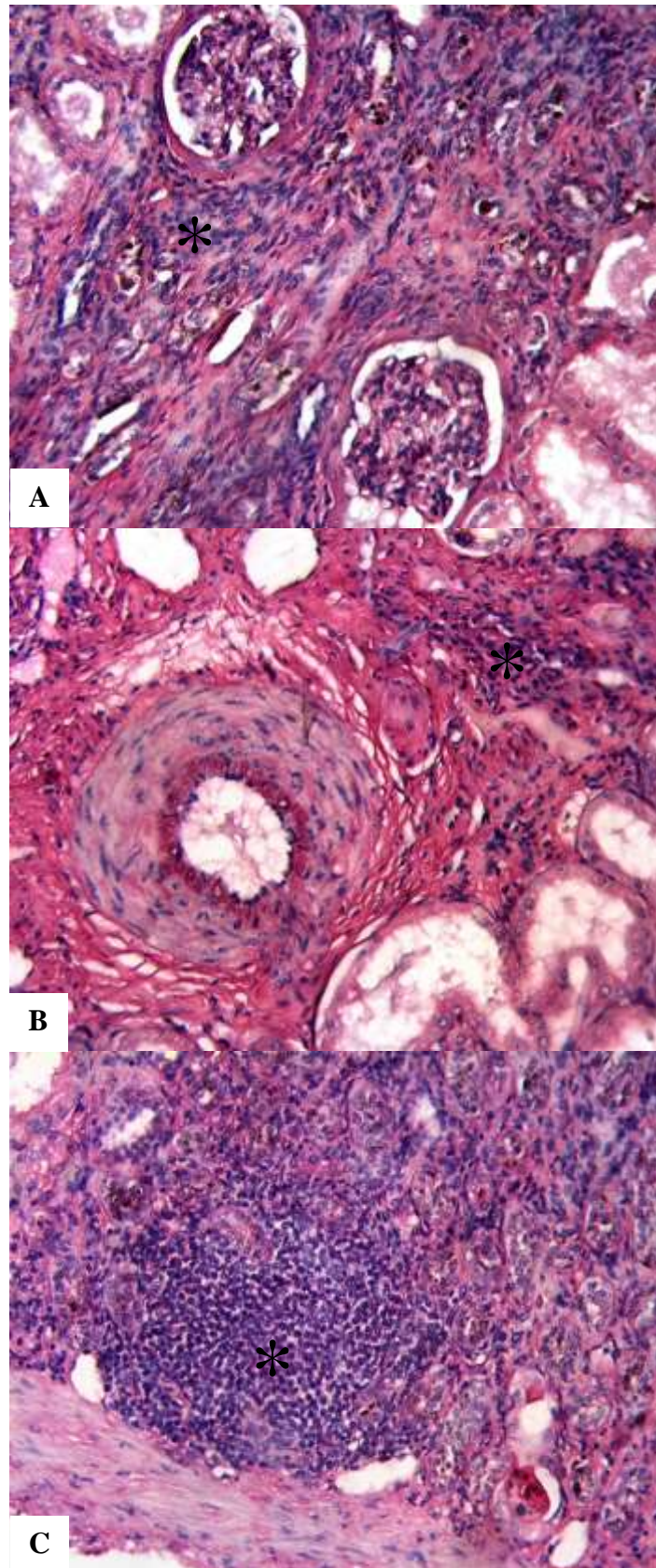


Figura 1. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. Infiltrado inflamatório mononuclear na região cortical (*). A) Localização periglomerular. B) Localização perivascular. C) Localização subcapsular. Coloração: H-E. Aumento 20x.

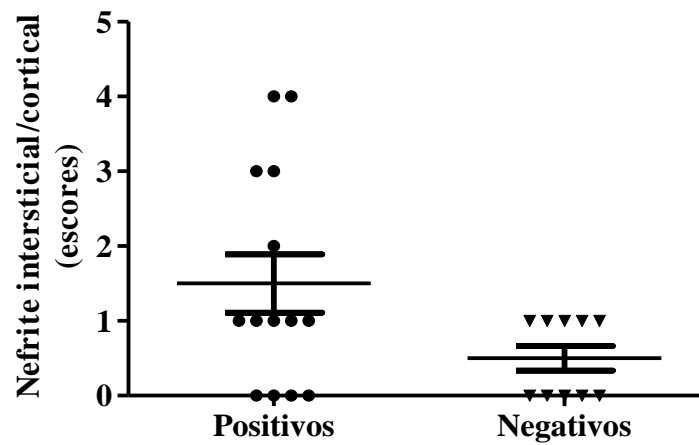


Figura 2. Análise semi-quantitativa da nefrite intersticial em rim de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. e controles não infectados. * $P < 0,05$, teste Mann-Whitney.

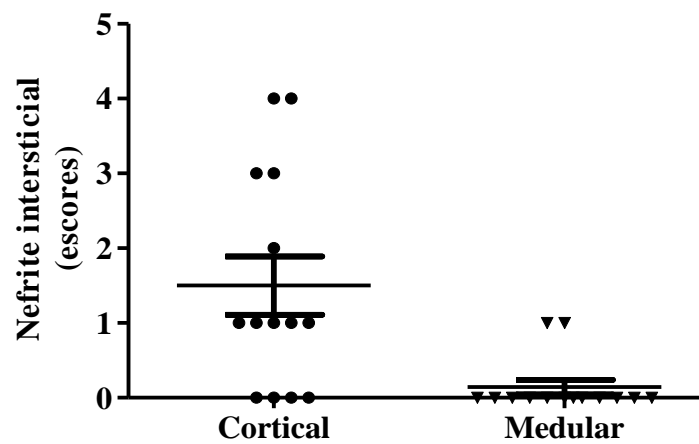


Figura 3. Análise semi-quantitativa da nefrite intersticial em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. em diferentes regiões do rim. * $P < 0,05$, teste Mann-Whitney.

Outras alterações túbulo-intersticiais verificadas na região cortical renal dos caprinos soropositivos foram dilatação e atrofia tubular (14,28%) (Fig. 4A), degeneração pigmentar das células epiteliais (14,28%) (Fig. 4B), cilindros hialinos (21,42%), fibrose intersticial (21,42%) (Fig. 5) e congestão (50%). Na região medular as alterações observadas foram presença de cilindros hialinos (14,28%), fibrose (14,28%) e congestão (64,28%). A intensidade das lesões acima variou de mínima a severa. As alterações túbulo-intersticiais verificadas nos soronegativos foram de intensidade mínima a média.

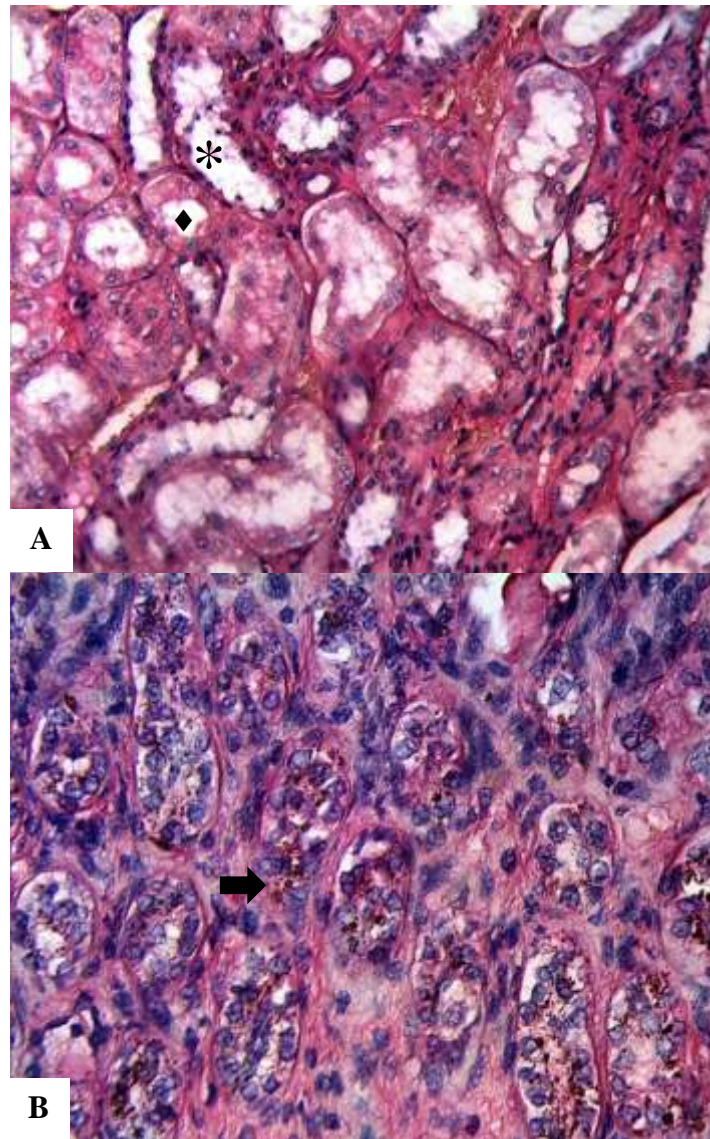


Figura 4. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. A) Atrofia (◆) e dilatação (*) tubular. Coloração: H-E. Aumento 20x. B) Degeneração pigmentar das células epiteliais tubulares da região cortical (seta). Coloração: H-E. Aumento 40x.

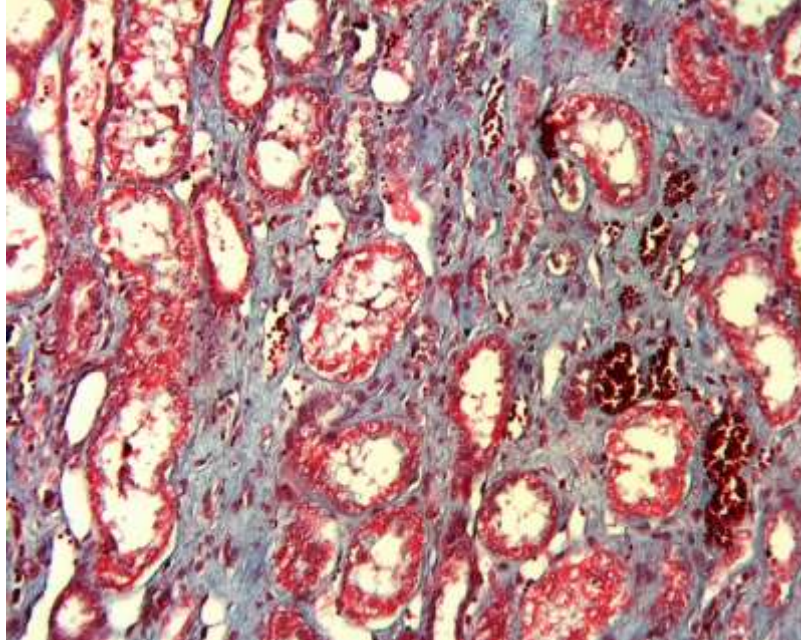


Figura 5. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. Fibrose intersticial na região cortical. Coloração: Tricrômico de Masson. Aumento 20x.

A apoptose foi detectada em amostras de tecido renal de todos os caprinos soropositivos e soronegativos, estando presente em células epiteliais tubulares das regiões cortical e medular e em células glomerulares renais, visualizadas pela coloração marrom característica da técnica de TUNEL, no qual núcleos encontravam-se pequenos e intensamente corados (Fig. 6) e pela coloração de HE a partir das características morfológicas peculiares do processo. Células coradas fracamente na técnica de TUNEL foram consideradas normais. Não houve diferença estatística no índice apoptótico entre os grupos e nas diferentes regiões analisadas (cortical, medular e glomerular) por nenhuma das técnicas empregadas, mas uma correlação positiva entre a presença de nefrite intersticial e o índice apoptótico da região cortical em rins de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. (Fig. 7) foi verificada.

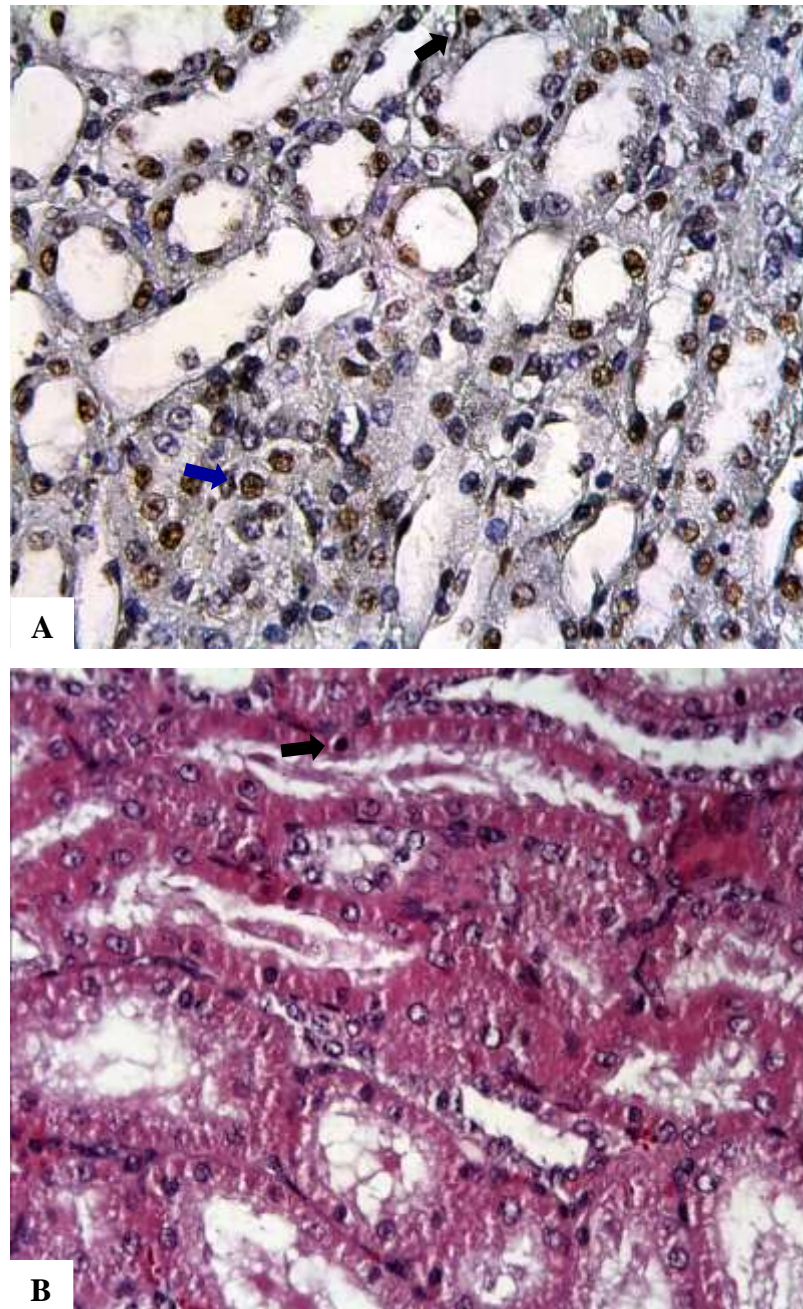


Figura 6. Rim. Caprino naturalmente infectado por *Leptospira* spp. A) Método de TUNEL. Células epiteliais tubulares da região medular com morfologia de apoptose, coloração marrom-escura e diminuição do volume celular (seta preta), e células com morfologia normal e coloração marrom-clara (seta azul). B) Células epiteliais tubulares da região cortical com características morfológicas de apoptose (anoiquia) (seta). Coloração: HE. Aumento 40x.

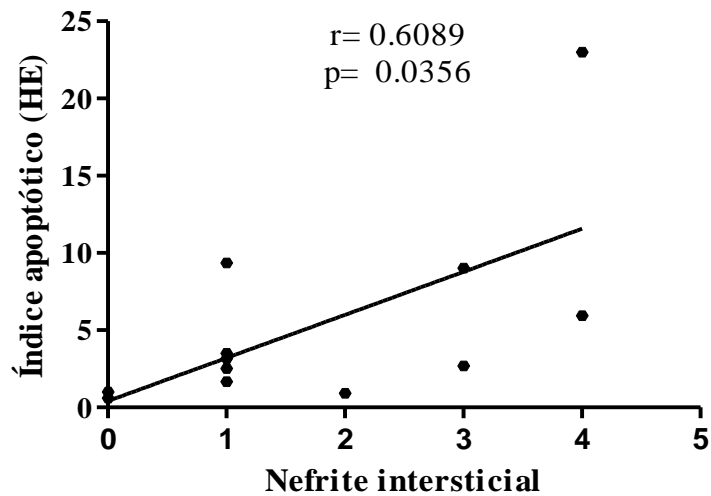


Figura 7. Correlação entre o índice apoptótico (HE) e a nefrite intersticial da região cortical de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Teste de Spearman.

DISCUSSÃO

A demonstração de aglutininas é a técnica mais empregada no diagnóstico de leptospirose e está baseada na reação de soroprecipitação microscópica (SAM) frente a uma coleção de antígenos vivos (Faine 1999). Por ser considerada referência no diagnóstico dessa enfermidade foi a técnica utilizada para triagem dos animais desse estudo, permitindo detectar 29% de caprinos sororreagentes. Estudos afirmam que a leptospirose nessa espécie tem frequência reduzida por ser considerada pouco susceptível à infecção (Leon-Vizcaino et al. 1987). Entretanto, esse resultado mostrou que a infecção ocorre em percentuais bem mais elevados quando comparado com outros estudos que detectaram 3,4% de caprinos reagentes no Rio Grande do Sul (Schmidt et al. 2002), 5,1% na Paraíba (Favero et al. 2002) e 11,1% no Rio de Janeiro (Lilenbaum et al. 2007).

Ainda não é do nosso conhecimento nenhum estudo que caracteriza as lesões renais em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp., tampouco o envolvimento desse agente na ativação da morte de células epiteliais renais por apoptose. Portanto este estudo parece representar a primeira descrição sobre o assunto. Vários estudos já foram realizados com o objetivo de compreender melhor a patologia da leptospirose nos animais. No homem, tem sido documentada de forma mais consistente (Sitprija et al. 1980), mas nos animais domésticos pouco se sabe sobre a extensão e a intensidade das lesões, principalmente em órgão preferenciais como os rins (Maxie 1993).

Lesões macroscópicas evidentes não foram visualizadas em rins de caprinos desse estudo, mas, ao exame microscópico, alterações morfológicas foram observadas e a nefrite intersticial foi a mais evidente, sendo estatisticamente maior nos caprinos soropositivos, sugerindo uma possível associação da lesão à infecção por leptospirose. Embora as lesões renais não sejam achados específicos na leptospirose, sabe-se que a alteração patológica básica da doença são as lesões túbulo-intersticiais (Maxie 1993). Estudos envolvendo lesão renal em ovinos, suínos, cães e ratos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. e em modelos

experimentais infectados já foram demonstrados e as lesões ocorrem de forma semelhante às descritas nos seres humanos, sendo a nefrite intersticial a mais importante (Carvalho et al. 2008, Gonçalves et al. 2014, Agudelo-Flórez et al. 2013, Carneiro 2014). A nefrite se localizava principalmente na região cortical renal. São nos espaços túbulo-intersticiais dessa região, principalmente dos túbulos proximais, os locais preferenciais onde as leptospiros se instalam e liberam toxinas que lesam as células epiteliais (Barnett et al. 1999). Além disso, o túbulo renal é um sítio imuno-privilegiado que pode contribuir para o alto grau de persistência do patógeno (Ko et al., 2009).

Acredita-se que o comprometimento renal varie em intensidade a depender do curso da infecção em que o animal se encontra. Os baixos títulos de anticorpos, 1:100 até 1:400, evidenciados nesse estudo, associados a presença de um infiltrado linfocitário apontam para uma infecção crônica, assim como observado por Carvalho et al. (2012). Vale ressaltar que, as leptospiros, dependendo do sorovar infectante, podem conter antígenos pobres e induzir respostas imunológicas baixas e por um curto período de tempo (Arduino et al. 2004) que podem não ser suficientes para provocar alterações muito severas. Além disso, os animais podem adquirir uma tolerância aos sorovares para os quais reagiram (Araújo Neto et al. 2010) influenciando na severidade das lesões. A resposta do hospedeiro tem um papel decisivo no resultado da infecção. Geralmente nos animais a forma crônica é mais frequente e está associada à nefrite intersticial, respaldando, portanto, os resultados desse estudo.

Através do método de TUNEL e coloração de HE, a apoptose foi identificada em células epiteliais tubulares e glomerulares renais de todos os caprinos soropositivos e soronegativos, entretanto diferença estatística no índice apoptótico entre os grupos não foi verificada, nesse estudo, por nenhuma das técnicas utilizadas. Curiosamente, houve uma correlação positiva entre a nefrite intersticial da região cortical e o índice apoptótico nos rins de caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Esse dado sugere que apoptose participa do processo de lesão de células epiteliais dos túbulos proximais na leptospirose em caprinos. Em um estudo semelhante utilizando TUNEL em rim de ovinos foi observado que a intensidade de apoptose variou de mínima a severa, com presença de células apoptóticas em quantidade significativamente maior nos animais soropositivos com predominância nas células epiteliais da região medular (Carvalho 2008).

Através da técnica de TUNEL, diferentes padrões de coloração foram observados. Nesse caso, foi essencial estabelecer parâmetros para concluir se a célula estava ou não em apoptose. Dessa forma, células coradas fracamente e que não possuíam características morfológicas compatíveis com apoptose como descritas para HE foram consideradas normais. Diferentes padrões de coloração já foram observados em outros trabalhos que utilizaram TUNEL. Acredita-se que isso ocorra por uma dificuldade na padronização da técnica (Gonçalves et al. 2013). TUNEL possui uma desvantagem na detecção de células em apoptose em vários tecidos (Labat-Moleur et al. 1998). Muitos autores já relataram ser uma técnica com confiança limitada, tanto na sensibilidade e mais ainda na especificidade (Cervos-Navarro & Schubert 1996), uma vez que pode corar células em necrose (Grasl-Kraupp et al. 1995). Além disso, TUNEL parece ser muito sensível ao processo de fixação do tecido possibilitando corar quase todos os núcleos (Labat-Moleur et al. 1998). Porém, nesse estudo descartamos a possibilidade de TUNEL ter marcado células em necrose, pois na análise histopatológica essa alteração não foi verificada, ademais, mesmo com os problemas da técnica, a quantificação das células TUNEL positivas foi totalmente possível já que foram associadas às características peculiares de apoptose visualizadas através de HE.

A leptospirose é uma enfermidade bifásica, caracterizada inicialmente por uma fase aguda, que é representada por um grande número de bactérias na circulação e pela apoptose em órgãos como fígado, pulmão e rins (Ko et al. 2009), seguida por uma fase de eliminação da bactéria da circulação associada ao aumento dos níveis de anticorpos e citocinas inflamatórias

(Matsui et al. 2011). Os métodos de detecção de apoptose, nesse estudo, podem não ter sido suficientes para caracterizar melhor esse evento biológico, por se tratar de uma infecção crônica em que o equilíbrio homeostático celular possa ter se reestabelecido e a apoptose continuar ocorrendo apenas como uma regulação normal das células do parênquima, não permitindo ter diferença significativa entre os grupos.

Os resultados deste trabalho demonstraram que a lesão renal em caprinos é caracterizada por uma nefrite intersticial localizada principalmente na região cortical e que existe uma eventual associação dessa lesão com a apoptose em células epiteliais tubulares, mas que estudos adicionais utilizando outros marcadores de apoptose em modelos animais ou em caprinos livres de patógenos são necessários para esclarecer melhor esse evento biológico na leptospirose em caprinos.

Agradecimentos.- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de doutorado.

REFERÊNCIAS

- Agudelo-Flórez P., Murillo V.E., Londoño A.F. & Rodas J.D. 2013. Histopathological kidney alterations in rats naturally infected with *Leptospira*. *Biomed.* 33:82-88.
- Araújo Neto J.O., Alves C.J., Azevedo S.S., Silva M.L.C.R. & Batista C.S.A.B. 2010. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 47:144-148.
- Arduino G.G.C., Girio R.J.S., Freire M.M. & Marchiori Filho M. 2004. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos leiteiros vacinados com bacterina polivalente comercial: perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. *Ciêñ Rural.* 34:865-871.
- Arruda S. 2005. Leptospirose canina no Brasil. Uma abordagem epidemiológica. *Pfiser saúde animal. Boletim técnico.* São Paulo.
- Barnett J.K., Barnett D., Bolin C., Summers T.A., Wagar E.A., Cheville N.F., Hartskeerl R.A. & Haake D.A. 1999. Expression and distribution of leptospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. *Infec Immun.* 67:853-861.
- Boatright K.M. & Salvesen G.S. 2003. Mechanisms of caspaseactivation. *Curr Opin Cell Biol.* 15:725-731.
- Carneiro M.S.C. 2014. Avaliação da matriz extracelular em rim de cães e camundongos infectados com leptospirosas. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, PI. 81p.
- Carvalho S.M., Macedo N.A., Silva S.M.M.S., Quessada A.M., Mineiro A.L.B.B. & Costa F.A.L. 2008. Apoptose na nefropatia da leptospirose em ovinos. *Rev Port Ci Vet.* 103:47-52.
- Carvalho S.M. 2012. Diagnóstico sorológico e análise das alterações patológicas na leptospirose ovina na Microrregião de Presidente Dutra, Maranhão, Brasil. Tese de Doutorado em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, PI. 75p.
- Cervos-Navarro J. & Schubert T.E.O. 1996. Pitfalls in the evaluation of apoptosis using TUNEL. *Brain Pathol.* 6:347-348.
- Dorjee S., Heuer C., Jackson R., West D. M., Collins-Emerson J. M., Midwinter A. C. & Ridler A.L. 2009. Are white-spot lesions in kidneys in sheep associated with leptospirosis? *N Z Vet J.* 57:28-33.
- Dorigatti F., Brunialti M.K.C. & Romero E.C. 2005. *Leptospira interrogans* activation of peripheral blood monocyte glycolipoprotein demonstrated in whole blood by the release of IL-6. *Braz J Med Biol Res.* 38:909-914.

- Faine S., Alder B., Bolin C. & Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis. 1999. 2.ed. Melbourne: Australia, MediSci, 272p.
- Favero A.C.M., Pinheiro S.R., Vasconcellos A.S., Morais Z.M., Ferreira F. & Ferreira Neto J. 2002. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Ci Rural*. 32:613-619.
- 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*. 13:81-85.
- Gonçalves C.A.P., Botteon P.T.L, Alves G.E.S, Faleiros R.R., Paes Leme F.O., Mendes H.M.F. & Vasconcelos A.C. 2013. Efeito de anti-inflamatórios não esteroidais na apoptose de células epidermais lamelares de eqüinos com laminite. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 65:1409-1418.
- Gonçalves L.M.F., Carvalho S.M., Campos A.P., Carneiro M.S., Silva E.R.D.F.S., Costa F.A.L., Castro V. 2014. O papel de imunoglobulinas na nefropatia da leptospirose em suínos. *Pesq Vet Bras*. 34:509-514.
- Grasl-Kraupp B., Ruttkay-Nedecky B., Koudelka H., Bukowska K., Bursch W. & Schulte-Hermann R. 1995. In situ detection of fragmented DNA (TUNEL assay) fails to discriminate among apoptosis, necrosis and autolytic cell death: a cautionary note. *Hepatology*. 21:1465-1468.
- Jo S.K., Yun S.Y., Chang K.H., Cha D.R., Cho W.Y., Kim H.K. & Won N.H. 2001. α -MSH decreases apoptosis in ischaemic acute renal failure in rats: possible mechanism of this beneficial effect. *Nephrol Dial Transplant*. 16:1583-1591.
- Kerr J.F., Wyllie A.H. & Currie A.R. 1972. Apoptosis: a basic biologic phenomenon with wide ranging applications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 26, 239-257.
- Khelef N., Zychlinsky A. & Guiso N. 1993. *Bordetella pertussis* induces apoptosis in macrophages: role of adenylate cyclase-hemolysin. *Infec Immun*. 61:4064-4071.
- Ko AI, Goarant C, Picardeau M. 2009. *Leptospira*: The dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 7:736-47.
- Lafeta B.N., Santos S., Silva V.L., Carvalho M.A.R., Diniz C.G. & Silva N. 2008. Determinação do perfil protéico da membrana externa da *Leptospira interrogans* sorovariedade Hardjoprajitno. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 60:1301-1306.
- Labat-Moleur F., Guillermet C., Lorimier P., Robert C., Lantuejoul S., Brambilla E., Negoescu A. 1998. TUNEL apoptotic cell detection in tissue sections: critical evaluation and improvement. *J. Hist. Cytoch*. 46:327-334.
- Lee S.H., Kim K.A., Park Y.G., Seong I.W., Kim M.J. & Lee Y.J. 2000. Identification and partial characterization of a novel hemolysin from *Leptospira interrogans* sorovar lai. *Gen*. 254:19-28.
- Leon-Vizcaino L., Mendoza M.H. & Garrido F. 1987. Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 10:149-153.
- Levett P.N. 2001. Leptospirosis. *Clin Microbiol Vet*. 14:296-326.
- Lilenbaum W., De Souza G.N., Ristow P., Moreira M.C., Fraguas S., Cardoso V.D.A.S. & Oelemann W.M.A. 2007. Serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis – encephalitis virus and *Leptospira* in dairy goats in Rio de Janeiro, Brazil. *Vet J*. 173:408-412.
- Marinho M., Langoni H., Oliveira S.L., Carreira R., Perri S.H.V. & Luvizoto M.C. 2003. Resposta humoral, recuperação bacteriana e lesões histológicas em camundongos geneticamente selecionados para bons e maus produtores de anticorpos e balb/c, frente à infecção por *L.interrogans* sorovar icterohaemorrhagiae. *Pes Vet Bras*. 23:5-12.

- Martínez J., Segales J., Aduriz G., Atxaerandio R., Jaro P., Ortega J., Peres B. & Corpa J.M. 2006. Pathological and aetiological studies of multifocal interstitial nephritis in wasted pigs at slaughter. *Res Vet Sci.* 81:92-98.
- Matsui M., Rouleau V., Bruyère-Ostells L. & Goarant C. 2011. Gene expression profiles of immune mediators and histopathological findings in animal models of leptospirosis: comparison between susceptible hamsters and resistant mice. *Infect Immun.* 79:4480-4492.
- Maxie M.G. 1993. The urinary system, p.447-538. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (Eds), *Pathology of Domestic Animals*. 4th ed. Academic Press, London.
- Merien F., Baranton G. & Perolat P. 1997. Invasion of vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlation with virulence. *Infect Immun.* 65:729-738.
- Ortiz A., Lorz C., Catalán M.P. & Justo P. 2000. Egidio, E. Role and regulation of apoptotic cell death in the kidney. Y2K update. *Front Biosci.* 5:735-749.
- Ortiz A., Justo P. & Catalán M.P. 2002. Apoptotic cell death in renal injury: the rationale for intervention. *Curr drug targets Immune endocr metabol disord.* 2:181-192.
- Pirani C.L. 1994. Evaluation of kidney biopsy specimes, p.85-115. In: Tisher C.C. & Brenner B.M. (Eds), *Renal Pathology: With clinical and functional correlations*. Vol.2. 2nd ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia.
- Saglam Y.S., Temur A. & Aslan A. 2003. Detection of leptospiral antigens in kidney and liver of cattle. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 110:75-77.
- Sanz A.B., Santamaria B., Ruiz-Ortega M., Egidio J. & Ortiz A. 2008. Mechanisms of Renal Apoptosis in Health and Disease. *J Am Soc Nephrol.* 19:1634-1642.
- Schmidt V., Arosi A. & Santos, A.R. 2002. Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciênc Rural.* 32, 609-612.
- Sitprija V., Losuwanrak T. & Kanjanabuch T. 2003. Leptospiral nephropathy. *Sem Nephrol.* 23:42-48.
- Sitprija V., Pipatanagul V., Mertowidjojo K., Boonpucknavig V. & Boonpucknavig S. 1980. Pathogenesis of renal disease in leptospirosis: clinical and experimental studies. *Kidney Int.* 17:827-836.
- Visith S. & Kearkiat P. Nephropathy in leptospirosis. 2005. *J Postgrad Med.* 51:184-188.
- Yener Z. & Keles H. 2001. Immunoperoxidase and histopathological examinations of leptospiral nephritis in cattle. *J. Vet. Med. A.* 48:441-447.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leptospirose é endêmica em rebanhos de criação consorciada com ovinos, caprinos e bovinos da Microrregião de Teresina, Piauí;

Todas as propriedades estudadas foram focos de infecção e o sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi o predominante;

Exploração de corte, conter um rebanho acima de 35 animais, alimentação a pasto, água e/ou açude como fonte de fornecimento de água e não possuir assistência veterinária foram fatores de risco para a infecção de bovinos;

Rebanho ovino acima de 52 animais e não possuir assistência veterinária constituíram fatores de risco para a infecção de caprinos;

A criação intensiva, instalações do tipo ripado suspenso, rebanho com mais de 20 ovelhas em reprodução e a não vermifugação dos animais foram fatores de risco para a infecção de ovinos;

A principal lesão renal em caprinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. é a nefrite intersticial, sendo a região cortical a mais comprometida;

Sugere-se uma eventual associação da nefrite intersticial com a apoptose de células epiteliais tubulares, porém estudos adicionais utilizando outros marcadores de apoptose em modelos animais ou em caprinos livres de patógenos são necessários para esclarecer melhor esse evento biológico na leptospirose em caprinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

ABDULKADER, R.C.R.M.; DAHER, E.F.; CAMARGO, E.D.; SPINOSA, C.; SILVA, M.V. Leptospirosis severity may be associated with the intensity of humoral immune response. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, p. 79-83, 2002.

ABDULKADER, R.C.R.M.; SILVA, M.V. The kidney in leptospirosis. **Pediatric Nephrology**, v. 23, n. 12, p. 2111-2120, 2008.

ACHA, P.N.; SZYFES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. p. 175-186.

ADLER, B.; FAINE, S. **The Genus Leptospira**. The Prokaryotes. 3. ed., 2005.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A.de la P. Leptospira and Leptospirosis. **Vet. Microbiol.**, 140:287-296, 2010.

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; CAMARGO, L.M.A.; LABRUNA, M.B.; VASCONCELLOS, S.A.; SOUZA, G.O.; GENNARI, S.M. Anti-Leptospira spp. and anti-Brucella spp. antibodies in humans from rural area of Monte Negro Municipality, State of Rondonia, Brazilian Western Amazon. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 93-96, 2007.

AHMED, N.; DEVI, S.M.; VALVERDE, M.A.; VIJAYACHARI, P.; MACHANGU, R.S.; ELLIS, W.A.; HARTSKEERL, R.A. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic Leptospira species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, p. 28, 2006.

ALCINDO, J.F. **Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba**. 2010. 15 f. Monografia (Curso de Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos – PB, 2010.

BADKE, M.R.T. **Leptospirose**. Disponível em: http://www.cnpsa.embrapa.br/abravessc/pdf/Memorias2001/1_manuelrenato.pdf. Acesso em 10 de abril de 2010.

BARR, P.J.; TOMEI, L.D. Apoptosis and its role in human disease. **Nature Biotechnology**, v. 12, p. 487-493, 1994.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; VINETZ, J.M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3, p. 757-771, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 50 de 24 de setembro de 2013. **LISTA DE DOENÇAS ANIMAIS, DE NOTIFICAÇÃO OBRIGATÓRIA EM TERRITÓRIO BRASILEIRO.**

BROD, C.S.; FEHLBERG, M.F. Epidemiologia da leptospirose em bovinos. **Ciência Rural**, v. 22, n. 2, p. 239-245, 1992.

BROWN, K.; PRESCOTT, J. Leptospirosis in the family dog: a public health perspective. **Canadian Medical Association**, v. 178, p. 339-401, 2008.

CARNEIRO, M.S.C. Avaliação da matriz extracelular em rim de cães e camundongos infectados com leptospiras. 2014. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2014.

CARVALHO, S.M.; MACEDO, N.A.; SILVA, S.M.M.S.; QUESSADA, A.M.; MINEIRO, A.L.B.B.; COSTA, F.A.L. Apoptose na nefropatia da leptospirose em ovinos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 103, p. 47-52, 2008.

CICERONI, L.; LOMBARDO, D.; PINTO, A.; CIARROCCHI, S.; SIMEONI, J. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 47, n. 5, p. 217-223, 2000.

CINCO, M.; VECILE, E.; MURGIA, R.; DOBRINA, P.; DOBRINA, A. *Leptospira interrogans* and *Leptospira* peptidoglycans induce the release of tumor necrosis factor a from human monocytes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 138, p. 211-214, 1996.

CUNHA, E.L.P.; MOTA, R.A.; MEIRELES, L.; SILVA, A.C.C.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em soros de caprinos no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 38-40, 1999.

DORJEE, S.; HEUER, C.; JACKSON, R.; WEST, D. M.; COLLINS-EMERSON, J. M.; MIDWINTER, A. C., RIDLER, A.L. Are white-spot lesions in kidneys in sheep associated with leptospirosis? **New Zealand Veterinary Journal**, v. 57, n. 1, p. 28-33, 2009.

DORIGATTI, F.; BRUNIALTI, M.K.C.; ROMERO, E.C. *Leptospira interrogans* activation of peripheral blood monocyte glycolipoprotein demonstrated in whole blood by the release of IL-6. **The Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 909-914, 2005.

FAGUNDES, M.Q. **Tipificação de Isolados de *Leptospiras interrogans* Através de VNTR e Detecção por Eletroforese Capilar**. Trabalho Acadêmico (Bacharel em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pelotas - Instituto de Biologia, Pelotas, 2008.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**, 2 ed. MediSci Press, Melbourne, Australia, 1999.

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

FORNAZARI, F.; DA SILVA, R.C.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; BESERRA, H.E.; LUVIZOTTO, M.C.; LANGONI, H. Comparison of conventional PCR, quantitative PCR, bacteriological culture and the Warthin Starry technique to detect *Leptospira* spp. in kidney and liver samples from naturally infected sheep from Brazil. **Journal of Microbiological Methods**, v. 90, p. 321-326, 2012.

GENOVEZ, M.E.; DEL FAVA, C.; CASTRO, V.; GOTTI, T.B.; DIB, C.C.; POZZI, R.C.; ARCARO, J.R.P.; MIYASHIRO, C.; NASSAR, A.F.C.; CIRRILO, S.L. Leptospirosis outbreak in dairy cattle due to *Leptospira* spp. serovar Canicola: reproductive rates and serological profile after treatment with streptomycin sulfate. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 73, n. 4, p. 389-393, 2006.

GIVENS, M.D. A clinical, evidence-based approach to infectious causes of infertility in beef cattle. **Theriogenology**, v. 66, n. 3, p. 648-654, 2006.

GOMEZ-CHIARRI, M.; ORTIZ, A.; LERMA, J.L.; LOPEZ-ARMADA, M.J.; MAMPASO, F.; GONZALEZ, E.; EGIDO, J. Involvement of tumor necrosis factor and platelet activating factor in the pathogenesis of experimental nephrosis in rats. **Laboratory Investigation**, v. 70, p. 449-459, 1994.

GONÇALVES, L.M.F.; CARVALHO, S.M.; CAMPOS, A.P.; CARNEIRO, M.S.; SILVA, E.R.D.F.S.; COSTA, F.A.L.; CASTRO, V. O papel de imunoglobulinas na nefropatia da leptospirose em suínos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 6, p. 509-514, 2014.

HERHOLZ, C.; JEMMI, T.; STARK, K.; GRIOT, C. Patterns of animal diseases and their control. **Rivista Trimestrale di Sanità Pubblica Veterinaria**, v. 42, n. 4, p. 295-303, 2006.

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

HERRMANN, G.P.; RODRIGUES, R.O.; MACHADO, G.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C. Soroprevalência de leptospirose em ovinos nas Mesoregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n.1, p. 131-138, 2012.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da Pecuária Municipal 2014**. Disponível em:<
http://ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2014/default_xls_perfil.shtm>. Acesso em: 05 fev. 2016.

JUNQUEIRA, J.R.; ALFIERI, A.A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 289-298, 2006.

KHELEF, N., ZYCHLINSKY, A.; GUIISO, N. 1993. *Bordetella pertussis* induces apoptosis in macrophages: role of adenylate cyclase-hemolysin. **Infection and Immunity**, v. 61, p. 4064-4071, 1993.

LAFETA, B.B. **Perfil Protéico da Membrana Externa da Leptospira interrogans sorovariedade hardjoprajitno**. 2006. 36 f. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2006.

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

LANGONI, H.; MARINHO, M.; BALDANI, S.; SILVA, A.V.; CABRAL, K.G.; SILVA, E.D. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospiras* em soros ovinos do Estado de São Paulo, Brasil, utilizando provas de macroaglutinação em placa e soroaglutinação microscópica. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 17, n. 6, p. 264-268, 1995.

LEE, S.H.; KIM, K.A; PARK, Y.G.; SEONG, I.W.; KIM, M.J.; LEE, Y.J. Identification and partial characterization of a novel hemolysin from *Leptospira interrogans* sorovar lai. *Gene*, v. 254, p. 19-28, 2000.

LEON-VIZCAINO, L.; MENDOZA, M.H.; GARRIDO, F.. Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 10, p. 149-153, 1987.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Veterinary*, v. 14, p. 296-326, 2001.

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

LILENBAUM, W.; VARGES, R.; MEDEIROS, L.; CORDEIRO, A.G.; CAVALCANTI, A.; SOUZA, G.N.; RICHTZENHAIN, L.J.; VASCONCELLOS, S.A. Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 84, p. 14–17, 2008.

MARINHO, M.; LANGONI, H.; OLIVEIRA, S.L.; CARREIRA, R.; PERRI, S.H.V.; LUVIZOTO, M.C. Resposta humoral, recuperação bacteriana e lesões histológicas em camundongos geneticamente selecionados para bons e maus produtores de anticorpos e balb/c, frente à infecção por *L.interrogans* sorovar icterohaemorrhagiae. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 23, p. 5-12, 2003.

MARTÍNEZ, J.; SEGALES, J.; ADURIZ, G.; ATXAERANDIO, R.; JARO, P.; ORTEGA, J.; PERES, B.; CORPA, J.M. Pathological and aetiological studies of multifocal interstitial nephritis in wasted pigs at slaughter. *Research in Veterinary Science*, v. 81, p. 92-98, 2006.

MAXIE, M.G. The urinary system, p.447-538. In: JUBB K.V.F., KENNEDY P.C. & PALMER N. (Eds), *Pathology of Domestic Animals*. 4th ed. Academic Press, London, 1993.

MERIEN, F.; BARANTON, G.; PEROLAT, P. Invasion of vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlation with virulence. **Infection and Immunity**, v. 65, p. 729-738, 1997.

MINEIRO, A.L.B.B. et al. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, p. 1103-1109, 2007.

MORIKAWA, V.M. Leptospirose. In: Programa de Zoonoses região Sul. Manual de Zoonoses. Curitiba, PR: 2 ed., v. 1, 2010, p. 91-99.

MUGHINI-GRAS, L.; BONFANTI, L.; NATALE, A.; COMIN, A.; FERRONATO, A.; LA GRECA, E.; PATREGNANI, T.; LUCCHESI, L.; MARANGON, S. Application of an integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds. **Epidemiology and Infection**, v. 142, p. 1172-1181, 2014.

NICOLINO, R.R.; LOPES, L.B.; RODRIGUES, R.O.; TEIXEIRA, J.F.B.; HADDAD, J.P.A. Prevalence and spatial analysis of antileptospiral agglutinins in dairy cattle – Microregion of Sete Lagoas, Minas Gerais, 2009/2010. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n.3, p. 648-654, 2014.

OLIVEIRA, F.C.S.; AZEVEDO, S.S.; PINHEIRO, S.R.; BATISTA, C.S.A.; MORAES, Z.M.; SOUZA, G.O.; GONÇALES, A.P.; VASCONCELLOS, S.A. Risk factors associated with leptospirosis in cows in the state of Bahia, northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 398-402, 2010.

ORTIZ, A., LORZ, C., CATALÁN, M.P., JUSTO, P., EGIDO, E. Role and regulation of apoptotic cell death in the kidney. Y2K update. **Frontiers in Bioscience**, v. 5, p. 735-749, 2000.

ORTIZ, A; JUSTO, P; CATALÁN, M.P. Apoptotic cell death in renal injury: the rationale for intervention. **Current drug targets. Immune, endocrine and metabolic disorders**, v. 2, p. 181-92, 2002.

ORTIZ-ARDUAN, A.; NEILSON, E.G. Apoptotic cell death in renal disease. **Nefrologia**, v. 14, p. 391-407, 1994.

PAPPAS, G.; CASCIO, A. Optimal treatment of leptospirosis: queries and projections. **Antimicrobial Agents**, v. 28, p. 491-496, 2006.

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 43, p. 1-9, 2013.

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. Bovine leptospirosis in Paraíba State: prevalence and risk factors associated with the occurrence of positive herds. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34(4), p. 332-336, 2014.

PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; HADDAD, J.P.A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 534-543, 2000.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. Espiroquetas. In: _____. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap. 31, p. 179-188.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**. Santa Maria, Pallotti, 2007.

SAGLAM, Y.S.; TEMUR, A.; ASLAN, A. Detection of leptospiral antigens in kidney and liver of cattle. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v. 110, p. 75-77, 2003.

SANZ, A.B.; SANTAMARIA, B.; RUIZ-ORTEGA, M.; EGIDIO, J.; ORTIZ, A. Mechanisms of Renal Apoptosis in Health and Disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 19, p. 1634-1642, 2008.

SARMENTO, A.M.C.; AZEVEDO, S.S.; MORAIS, Z.M.; SOUZA, G.O.; OLIVEIRA, F.C.S.; GONÇALES, A.P.; MIRAGLIA, F.; VASCONCELLOS, S.A. Use of *Leptospira* spp. strains isolated in Brazil in the microscopic agglutination test applied to diagnosis of leptospirosis in cattle herds in eight Brazilian states. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 601-606, 2012.

SITPRIJA, V.; LOSUWANRAK, T.; KANJANABUCH, T. Leptospiral nephropathy. **Seminars in Nephrology**, v. 23, p. 42-48, 2003.

SITPRIJA, V.; PIPATANAGUL, V.; MERTOWIDJOJO, K.; BOONPUCKNAVIG, V.; BOONPUCKNAVIG, S. Pathogenesis of renal disease in leptospirosis: clinical and experimental studies. **Kidney International**, v. 17, p. 827-836, 1980.

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

TULSIANI, et.al. Emergencias de doenças tropicais na Australia. Part.1. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 104, n. 7, p. 543-556, 2010.

VANASCO, N.B.; SEQUEIRA, M.D.; SEQUEIRA, G.; TARABLA, H.D. Associations between leptospiral infection and seropositivity in rodents and environmental characteristics in Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 60, p. 227-35, 2003.

VINETZ, J.M. Leptospirosis. **Current opinion in Infectious Diseases**, v. 14, p. 527-538, 2001.

VISITH, S.; KEARKIAT, P. Nephropathy in leptospirosis. **Journal of Postgraduate Medicine**. v. 51, p. 184-188, 2005.

WONG, V.Y.; KELLER, P.M.; NUTTALL, M.E. Role of caspases in human renal proximal tubular epithelial cell apoptosis. **European Journal of Pharmacology**, v. 433, p. 135-140, 2001.

YANG, C.W.; WU, M.S.; PAN, M.J. Leptospirosis renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 16, s. 5, p. 73-77, 2001.

YENER, Z.; KELES, H. Immunoperoxidase and histopathological examinations of leptospiral nephritis in cattle. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 48, p. 441-447, 2001.

ZUNINO, E.M.; PIZARRO, R.P. Leptospirosis. Puesta al dia. **Revista Chilena de Infectología**, v. 24, p. 220-226, 2007.

APÊNDICE

Modelo da ficha do inquérito epidemiológico aplicado aos proprietários de rebanhos bovino, ovino e caprino da Microrregião de Teresina, Piauí.

Identificação		
Município:	Região:	UF: PI
Proprietário:		
Propriedade:		
Data da visita e coleta:		
Coordenadas		
Latitude:	Longitude:	Altitude:
Exploração principal da propriedade:		
Informações referentes ao plantel de bovinos		
Número de animais: 0 a 6 Meses:	> de 6 meses:	
Informações referentes ao plantel de ovinos		
Número de animais: 0 a 6 Meses:	> de 6 meses	
Informações referentes ao plantel de caprinos		

Número de animais: 0 a 6 Meses:	> de 6 meses:
Raças predominantes:	
Sistema de criação: intensivo () semi-intensivo () extensivo ()	
Exploração principal: () carne () leite	
Tipo de instalação: galpão () ripado suspenso () cama ()	
Tipo de pastagem:	
Alimentação: pasto () volumoso () concentrado ()	
Tipo de cobertura: monta a campo () monta controlada ()	
Repetição de cio: Não () Sim ()	
Partos distócitos: Não () Sim ()	
Abortos: Não () sim ()	
Número de vacas em reprodução:	
Número de ovelhas em reprodução:	
Número de cabras em reprodução:	
Realiza algum tipo de manejo sanitário nos animais? Qual (is)?	
Os animais são vacinados contra alguma doença? Qual (is)	
Observou presença de roedores na propriedade? () Sim () Não	
Observou sintomas como febre, icterícia e falta de apetite nos animais?	
Qual a fonte de água em sua propriedade?	
Outras espécies na propriedade: equídeos() suínos() aves() caninos() felinos() silvestres()	
Há aborto nessas outras espécies?	
Tem assistência veterinária? () sim () não	

ANÁLISE SEMI-QUANTITATIVA DAS LESÕES RENAIS E ÍNDICE APOPTÓTICO										
Animal	HE Nefrite intersticial		HE Fibrose		ÍNDICE APOPTÓTICO HE			ÍNDICE APOPTÓTICO TUNEL		Título de anticorpos
	POSITIVOS	CORTICAL	MEDULAR	CORTICAL	MEDULAR	CORTICAL	MEDULAR	GLOMERULAR	CORTICAL	
22	++	-	-	-	0,92	2,91	4,98	1,19	0,7	200
65	+	-	-	-	1,68	2,73	1,78	0,43	0,34	100
130	-	-	-	-	0,61	0,85	3	0	0,09	100
140	+	+	-	-	3,52	3,8	2,29	0,09	0,06	100
144	+++	-	+++	-	9,03	1,71	2,17	0,24	0,17	100
149	-	-	-	-	1	1,79	1,82	0,46	0,95	200
153	++++	-	++++	++++	5,95	2,04	3,86	0,3	0,61	200
155	+	-	-	-	3,18	1,27	2,57	0,8	1,07	200
166	++++	-	-	-	23,01	22,41	5,48	0,0	0,04	200
187	+	-	-	-	2,53	1,48	2,86	0,03	0,49	100
192	+	-	+	-	9,36	4,42	5,34	0,16	0,45	100
198	+++	-	-	-	2,7	2,06	2,87	0,5	0,47	100
143	-	+	-	+	*	*	*	*	*	
161	-	-	-	-	*	*	*	*	*	
NEGATIVOS										
24	-	-	-	-	0,14	1,13	2,6	1,56	1,3	
60	-	-	-	-	4,59	6	1,65	0,11	0	
114	+	-	-	-	3,36	3,66	1,9	0	0	
132	-	-	-	-	*	*	*	*	*	
135	+	-	+	-	1,8	1,06	1,76	0,15	0,57	
142	+	-	-	-	0,95	0,78	1,4	0,10	0,11	
154	-	-	-	-	2,03	1,67	3,52	0,27	0,81	
193	+	-	-	-	1,8	2,06	2,88	0,07	0,08	
195	+	-	-	-	1,46	5,32	3,98	0	0,03	
200	-	-	-	-	0,92	0,92	3,26	0,2	0,33	

Escores: Normal (-) Mínima (+) Média (++) Moderada (+++) Moderadamente severa (++++) Severa (+++++)

