Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em bovinos confinados para exportação Prevalence of anti-*Leptospira* antibodies in cattle confined for exportation Prevalencia de anticuerpos anti-*Leptospira* en ganado vacuno confinado a la exportación

Recebido: 05/11/2020 | Revisado: 09/11/2020 | Aceito: 11/11/2020 | Publicado: 15/11/2020

Caroline Dewes

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7404-0975

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: caroldewesvet@hotmail.com

João Pedro Mello Silva

ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3798-2071

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: jptam97@gmail.com

Tanise Pacheco Fortes

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3175-1718

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: tanisefortes@gmail.com

Iuri Vladimir Pioly Marmitt

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5039-0161

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: iurihrs@hotmail.com

Flávia Aleixo Vasconcellos

ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4174-3321

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: aleixo.fv@gmail.com

Samuel Rodrigues Felix

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2724-692X

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Brasil

E-mail: samuelrf@gmail.com

Éverton Fagonde da Silva

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4226-7235

Universidade Federal de Pelotas, Brasil

E-mail: fagondee@gmail.com

Resumo

No Brasil, a leptospirose bovina é uma enfermidade de grande preocupação, causando prejuízos econômicos à pecuária e um importante risco à saúde pública. Nos últimos anos, o Rio Grande do Sul se consolidou como importante exportador de gado vivo, refletindo diretamente na economia nacional. Nesse contexto, nosso estudo teve como objetivo determinar a prevalência de anticorpos anti-Leptospira em bovinos destinados à exportação, no município de Pelotas/RS. Para tanto, um total de 4.552 animais pertencentes a 34 municípios do RS foram incluídos no estudo. Uma amostragem estratificada foi realizada e uma amostra de 355 soros foram utilizados no teste de aglutinação microscópica (MAT). Dos 355 soros amostrados, 24 (6,76%; IC 95% 4,58-9,86) foram reativos para pelo menos um dos antígenos do MAT. Nenhum animal incluído no estudo tinha história de vacinação contra a leptospirose. Os sorovares Hardjo e Icterohaemorrhagiae tiveram prevalência de 2,53%, seguidos de Canicola com 1,97% e Grippotyphosa com 1,12%. Nossos resultados mostram a exposição dos bovinos ao agente, podendo levar a problemas de saúde pública, tendo em vista que a doença é uma zoonose. Pesquisas futuras podem utilizar nossos resultados para o planejamento de estudos epidemiológicos com o objetivo de descrever a situação da leptospirose em rebanhos bovinos no Rio Grande do Sul.

Palavras-chave: Leptospirose; Confinamento; Vacina; Diagnóstico.

Abstract

In Brazil, bovine leptospirosis is a disease of great concern, causing economic damage to livestock and an important risk to public health. In recent years, Rio Grande do Sul has consolidated itself as an important exporter of live cattle, directly reflecting on the national economy. In this context, our study aimed to determine the prevalence of anti-*Leptospira* antibodies in cattle destined for export, in the municipality of Pelotas / RS. A total of 4,552 animals belonging to 34 municipalities in RS were included in the study. A stratified sampling was performed and a sample of 355 sera was used in the microscopic agglutination test (MAT). Of the 355 sera sampled, 24 (6.76%; 95% CI 4.58-9.86) were reactive for at least one of the MAT antigens. No animals included in the study had a history of vaccination against leptospirosis. Serovars Hardjo and Icterohaemorrhagiae had a prevalence of 2.53%, followed by Canicola with 1.97% and Grippotyphosa with 1.12%. Our results show the exposure of cattle to the agent, which can lead to public health problems, considering that the disease is a zoonosis. Future research can use our results to plan epidemiological studies in order to describe the situation of leptospirosis in cattle herds in Rio Grande do Sul.

Keywords: Leptospirosis; Feedlot; Vaccine; Diagnosis.

Resumen

En Brasil, la leptospirosis bovina es una enfermedad de gran preocupación, que causa daños económicos al ganado y un riesgo importante para la salud pública. En los últimos años, Rio Grande do Sul se ha consolidado como un importante exportador de ganado en pie, reflejándose directamente en la economía nacional. En este contexto, nuestro estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia de anticuerpos anti-Leptospira en bovinos destinados a la exportación, en el municipio de Pelotas / RS. Por tanto, se incluyeron en el estudio un total de 4.552 animales pertenecientes a 34 municipios de RS. Se realizó un muestreo estratificado y se utilizó una muestra de 355 sueros en la prueba de aglutinación microscópica (MAT). De los 355 sueros muestreados, 24 (6,76%; IC del 95%: 4,58-9,86) fueron reactivos para al menos uno de los antígenos MAT. Ningún animal incluido en el estudio tenía antecedentes de vacunación contra la leptospirosis. Los serovares Icterohaemorrhagiae tuvieron una prevalencia de 2.53%, seguidos de Canicola con 1.97% y Grippotyphosa con 1.12%. Nuestros resultados muestran la exposición del ganado al agente, lo que puede generar problemas de salud pública, considerando que la enfermedad es una zoonosis. Las investigaciones futuras pueden utilizar nuestros resultados para planificar estudios epidemiológicos con el fin de describir la situación de la leptospirosis en los rebaños bovinos en Rio Grande do Sul.

Palabras clave: Leptospirosis; Corral de engorde; Vacuna; Diagnóstico.

1. Introdução

A leptospirose é uma doença endêmica na América Latina, sendo considerada como uma das principais causas de perdas econômicas para a pecuária (Campos, et al., 2017, Yatbantoong, et al., 2019). No Brasil, em bovinos e outros ruminantes, a leptospirose tem sido implicada em falhas reprodutivas, como abortos, natimortos e recém-nascidos fracos e debilitados, além da importante diminuição na produção de carne e leite (Lilenbaum, et al., 2014). Nos bovinos o sorovar Hardjo é implicado como a principal causa da leptospirose bovina no mundo (Bharti, et al., 2003, Adler, 2015).

Por se tratar de uma zoonose, a leptospirose é considerada como fator de risco ocupacional para magarefes, produtores rurais além de médicos veterinários (Levett, 2001, Dorjee, et al., 2011, Ellis, 2015). No entanto, devido ao diagnóstico clínico ser inconclusivo

pela diversidade de manifestações clínicas em humanos e animais, o diagnóstico laboratorial e o epidemiológico são fundamentais para a confirmação do caso de leptospirose (WHO, 2003). Dessa forma, o teste de soroaglutinação microscópica (MAT) é o teste sorológico recomendado para o diagnóstico laboratorial da leptospirose (WHO, 2003). O MAT é um teste que se baseia na reação antígeno-anticorpo, sendo realizado em microscopia de campo escuro (Adler, 2015).

Em 2018, o Brasil consolidou-se no cenário internacional como um grande exportador de bovinos vivos, faturando cerca quinhentos milhões de dólares, refletindo diretamente na economia nacional (BRASIL, 2019). O avanço do Brasil no mercado de bovinos vivos é consequência um testemunho do alto padrão genético e da qualidade dos animais brasileiros (BRASIL, 2019).

Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em bovinos confinados para a exportação, em uma propriedade localizada no município de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul.

2. Metodologia

2.1 Confinamento

No distrito de Santa Silvana em Pelotas (RS), nas coordenadas 31°30'40"S e 52°12'21"O, situa-se uma estação de pré-embarque de bovinos, os quais são destinados à exportação. A capacidade estacionária é de 7.000 bovinos, sendo estes reunidos e mantidos em quarentena. A identificação e o rastreamento individual dos animais se dão através de brinco eletrônico, com os dados da raça, sexo, idade, município e propriedade de origem. Após a chegada dos animais na quarentena, e o lacre da propriedade, não é permitida a entrada e saída de novos animais no estabelecimento. Todos os bovinos confinados são submetidos à coleta de sangue para exames sorológicos exigidos pelo país importador. A coleta de sangue é realizada por Médicos Veterinários habilitados pelo Plano Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose e Encefalopatias Espongiformes (PNCEBT) e a numeração das amostras de sangue é correspondente ao brinco eletrônico dos animais.

2.2 Amostragem

Neste trabalho realizamos um estudo de natureza quantitativa (Pereira et al., 2018). Para os testes e posterior análise estatística dos resultados, a amostragem foi realizada de forma probabilística estratificada, de acordo com o número de propriedades e municípios de origem dos animais. utilizando-se o programa OpenEpi Versão (http://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm). Para isso, a amostra foi calculada utilizando-se o número total dos animais confinados, uma população finita de 4.552 animais, contendo animais oriundos de 34 munícipios do RS (Figura 1). Os demais parâmetros utilizados foram os seguintes: (1) prevalência de 50%; (2) nível de significância de 5%; e (3) erro de 1% (Thrusfield, 2007). Após a obtenção do número total de animais, houve uma estratificação baseada no percentual da amostra em relação a população finita, calculando-se o número de animais a ser utilizado por município e propriedade. Após, dentro de cada município, houve a seleção randomizada dos animais utilizando-se o programa Research Randomizer (https://www.randomizer.org/). Neste estudo, nenhum dos bovinos tinha histórico de vacinação contra a leptospirose.

2.3 Amostras

Para a realização do nosso estudo, utilizou-se os soros provenientes de um banco de sangue do próprio confinamento, os quais eram armazenados para possíveis contraprovas. Após este período, as amostras de sangue foram encaminhadas ao laboratório de Biotecnologia da Faculdade de Veterinária da UFPel em tubos de sangue. Após foram centrifugados a 3.000 r.p.m. por cinco minutos, a fim de obter os soros. Todos os soros foram organizados e mantidos em nosso banco de soros a -20°C até o uso.

2.4 MAT

O MAT foi realizado com os soros amostrados conforme recomendações (WHO, 2003). A triagem das amostras foi realizada através da diluição dos soros em PBS (pH 7,2) para uma leitura. Para o teste, uma bateria com 12 antígenos vivos foi mantida em estufa bacteriológica a 29°C, sendo utilizados com 7 dias de crescimento e uma concentração de 10⁸ leptospiras/mL. As amostras reagentes na etapa de triagem foram tituladas até 1:6.400. O teste foi considerado reagente quando 50% ou mais do antígeno foi aglutinado, ou quando a

densidade do antígeno no complexo antígeno-anticorpo foi menor que 50%.

Argentina

Legenda
34 municípios do RS

Uruguai

Figura 1. Distribuição espacial da procedência dos animais confinados.

Fonte: Autores.

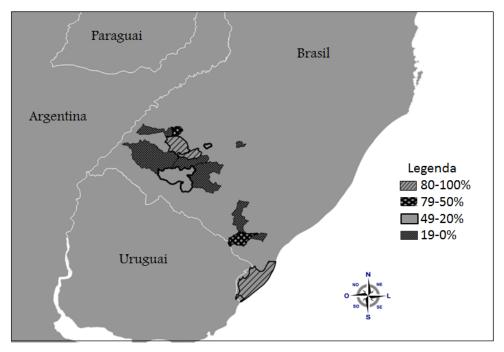
3. Resultados e Discussão

Dos 355 animais amostrados, 24 (6,76%; IC95% 4,58-9,86) foram reagentes a pelo menos um dos antígenos no MAT. A Figura 2 apresenta o mapa de calor dos casos reagentes no MAT e o local de origem dos bovinos.

A Tabela 1 mostra os sorovares reagentes no MAT e os títulos de cada município. Os sorovares Hardjo e Icterohaemorrhagiae apresentaram uma prevalência de 2,53%, seguido de Canicola com 1,97% e Grippotyphosa com 1,12%.

Na tabela 1 podemos evidenciar que no nosso estudo os títulos de anticorpos variaram de 1:100 a 1:1600. Os sorovares com os mais altos títulos (1:1600) encontrados foram o sorovar Grippotyphosa e o sorovar Hardjo. Esses bovinos não apresentavam sinais clínicos ou uma infecção aguda e assim o título poderia estar aumentando após a coleta de sangue para o exame (Shafbauer, et al., 2019). Esses anticorpos poderiam ser relacionados ao procedimento de vacinação, mas conforme informado, os bovinos desse trabalho não foram vacinados.

Figura 2. Mapa de calor representando a localização das reações dos soros bovinos frente aos antígenos testados, com titulação variando de 100 a 600.



Fonte: Autores.

Os resultados do nosso estudo revelaram uma maior prevalência do sorovar Hardjo, (sorogrupo Serjoe) com 2,53%, o qual está relacionado com bovinos (Ellis, 2015). A identificação deste soorovar como o mais predominante nos animais pode ser explicada através do seu mecanismo de transmissão de bovino para bovino (Figueiredo, et al., 2009). No Rio de Janeiro, autores também demonstraram uma maior prevalência desse sorovar nos rebanhos estudados (Balamurugan, et al., 2017, Pinna, et al., 2018). Este fato também pode ser evidenciado através de uma alta prevalência desse sorovar em rebanho do Paraná e do Rio Grande do Sul (Hashimoto, et al., 2012, Herrmann, et al., 2012).

Desde o ano de 2004 a exportação de animais vivos, como bovinos e bubalinos, começou a se intensificar no Brasil. Esse fato se deve as melhorias nas condições sanitárias que o rebanho brasileiro vem sofrendo ao longo dos anos, atraindo o interesse de países importadores de animais vivos (Brasil, 2019). Nos dois semestres de 2018, as exportações de bovinos atingiram 535 milhões de dólares (Brasil, 2019), e segundo dados disponíveis, o Brasil exporta animais vivos para todos os continentes, exportando para países como Venezuela, Egito, Turquia, Angola, Iraque, Equador, entre outros.

Tabela 1. Reações dos 355 soros testados no MAT de acordo com os antígenos utilizados. Apenas os resultados como os 24 soros bovinos reagentes foram mostrados.

Municípios	Soro	Antígenos reagentes			
	(ID)	Canicola	Grippotyphosa	Hardjo	Icterohaemorrhagiae
Alegrete	6737		100		
Cacequi	6716				100
Herval	1021			800	
Maçambará	6760				100
Nova Palma	6750			100	
Pedro Osório	18	100			
Pinheiro Machado	6748		100		
Rosário do Sul	6702			400	
Santa Vitória	33				100
Santa Vitória	272				200
Santa Vitória	709			400	
Santa Vitória	1978		1600		
São Francisco	6725			1600	
São Francisco	6732	100			
São Francisco	6749				400
São Francisco	6757	100			100
São Gabriel	6721			100	
São Vicente do Sul	995	400			400
São Vicente do Sul	6710			1600	
São Vicente do Sul	6758	100			
Toropi	244	100	200		400
Toropi	288	100			100
Toropi	351			100	
Unistalda	2391			800	

Fonte: Autores.

Por se tratar de uma amostra de bovinos jovens (até 24 meses), a prevalência encontrada nos animais demonstra a necessidade de intensificação de medidas de prevenção nas propriedades, principalmente a vacinação, pois é um procedimento prático e eficaz,

contribuindo para a redução da doença nos rebanhos e as perdas econômicas causadas pela enfermidade (Pimenta, et al., 2014).

A técnica utilizada como teste sorológico, o teste de soroaglutinação microscópica (MAT), é usada para o diagnóstico da doença em nível de rebanho, para prevalência de sorogrupos circulantes nos municípios, e para a detecção individual quando necessário (Otaka, et al., 2012, Picardeau, 2013, Ellis, 2015). No entanto, um resultado não reagente ou um título menor do que 1:100, não deve ser usado para definir um diagnóstico laboratorial definitivo, necessitando dessa forma de uma amostra pareada (Hernández-Rodriguez, et al., 2011).

A ocorrência do sorogrupo Icterohaemorrhagiae nos animais amostrados também foi relatado anteriormente em bovinos (Suepal, et al., 2011), demonstrando uma importância na saúde pública. Este sorovar possui maior frequência em seres humanos e está ligado a presença de roedores, podendo os bovinos se infectarem entrando em contato com alimentos ou água contaminada com a urina desses animais (Adler, 2015). Já as reações para o sorovar Canicola pode sugerir uma infecção cruzada entre os cães e bovinos, além disso, esses animais infectados podem gerar riscos zoonóticos para agricultores, ordenadores e trabalhadores rurais e de matadouros (Abdollahpour, et al., 2009, Balamurugan, et al., 2017, Sunder, et al., 2018). Por outro lado, a frequência do sorovar Grippotyphosa, assim como de sorovares Pomona, Tarassovi e Javanica podem ocorrer como consequência do contato direto e indireto, criações de gado em ambientes fechados onde há contato com outros lotes ou animais de outras espécies que atuam como reservatório de *Leptospira* (Guernier, et al., 2016). Além disso, o sorovar Grippotyphosa pode estar associado com roedores o que mostram uma transmissão comum de pequenos mamíferos a infecção de animais como os bovinos (Desvars, et al., 2013).

Os municípios que se destacaram no estudo, apresentando animais com títulos altos e uma porcentagem de 80-100% no mapa de calor, como Santa Vitória do Palmar, São Francisco de Assis e São Vicente do Sul, são locais onde há predomínio de várzeas e locais alagadiços. Nessas regiões, destaca-se a produção de arroz e a pecuária extensiva, evidenciando-se um ecossistema propício para a presença de animais silvestres e um ambiente que contribui para a sobrevivência de bactérias como a *Leptospira* (Levett, 2001). Além disso, outras regiões onde há a cultura de tabaco, a correção do pH do solo para valores próximos da neutralidade (7,2-7,4), beneficia a sobrevivência da bactéria (Schneider, et al., 2016).

4. Considerações Finais

A prevalência de 6,76% nos 355 animais amostrados no nosso estudo evidencia uma exposição dos bovinos as leptospiras, podendo levar a problemas de saúde pública por se tratar de uma zoonose. Dessa forma, os autores sugerem que os proprietários dos animais sejam orientados a realizar a vacinação dos animais.

Estudos futuros poderão utilizar os nossos resultados para planejar estudos epidemiológicos visando a descrição do status da leptospirose nos rebanhos bovinos gaúchos.

Conflito de interesse

Os autores declaram que não possuem conflito de interesse.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e a FAPERGS pelas bolsas de estudo e pelos demais auxílios financeiros para a execução deste trabalho.

Referências

Abdollahpour, G., Shafighi, T., & Tabrizi, S. (2009). Serodiagnosis of leptospirosis in cattle in north of Iran, Gilan. *International Journal of Veterinary Research*, *3*, 7-10.

Adler, B. (2015). *Leptospira* and leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, Berlin, 387, 293.

Balamurugan, V., Alamuri, A., Bharathkumar, K., Patil, S. S., Govindaraj, N., Nagalingam, M., Krishnamoorthy, P., Rahman, H., & Shome, B. R. (2018). Prevalence of *Leptospira* serogroup-specific antibodies in cattle associated with reproductive problems in endemic states of India. *Tropical Animal Health and Production*, *50*, 1131–1138.

Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., Levett, P. N., Gilman, R. H., Willig, M. R., Gotuzzo, E., & Vinetz, J. M. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infectious Diseases*, *3*, 757–771.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2019). Recuperado dehttps://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/equador-abre-o-mercado-de-bovinos-vivos-para-o-brasil.

Campos, A. P., Miranda, D. F. H., Rodrigues, H. W. S., Lustosa, M. S. C., Martins, G. H. C., Mineiro, A. L. B. B., Castro, V., Azevedo, S. S., & Sousa Silva, S. M. M. (2017). Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in cattle, sheep, and goats at consorted rearing from the State of Piauí, northeastern Brazil. *Tropical Animal Health Produce*, 49, 899-907.

Desvars, A., Michault, A., & Bourhy, P. (2013). Leptospirosis in the western Indian Ocean islands: What is known so far? *Veterinary Research*, 44, 80.

Dorjee, S., Heuer, C., Jackson, R., West, D. M., Collins-Emerson, J. M., Midwinter, A. C., & Ridler, A. L. (2011). Assessment of occupational exposure to leptospirosis in a sheep-only abattoir. *Epidemiology and Infection*, *139*, 797-806.

Ellis, W. A. (2015). Animal leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 99-137.

Figueiredo, A. O., Pellegrin, A. O., Gonçalves, V. S. P., Freitas, E. B., Monteiro, L. A. R. C., Oliveira, J. M., & Osório, A. L. A. R. (2009). Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29, 375-381.

Guernier, V., Lagadec, E., Cordonin, C., Le Minter, G., Gomard, Y., Pagès, F., Jaffar-Bandjee, M. C., Michault, A., Tortosa, P., & Dellagi, K. (2016). Human leptospirosis on Reunion Island, Indian Ocean: Are rodents the (only) ones to blame? *PloS Neglected Tropical Disease*, e0004733.

Hashimoto, V. Y., Dias, J. A., Spohr, K. A. H., Silva, M. C. P., Andrade, M. G. B., Muller, E. E., & Freitas, J. C. (2012). Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em

rebanhos bovinos da região centro-sul do Estado do Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32, 99-105.

Hernández-Rodríguez, P., Díaz, C. A., Dalmau, E. A., & Quintero, G. M. (2011). A comparison between polymerase chain reaction (PCR) and traditional techniques for the diagnosis of leptospirosis in bovines. *Journal of Microbiological Methods*, 84, 1-7.

Herrmann, G. P., Rodrigues, R. O., Machado, G., Lage, A. P., Moreira, E. C., & Leite, R. C. (2012). Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, *13*, 131-138.

Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. Clinical and Microbiology Review, 14, 296-326.

Lilenbaum, W., & Martins, G. (2014). Leptospirosis in Cattle: A challenging scenario for the understanding of the epidemiology. *Transboundary and Emerging Diseases*, 61, 63-68.

Otaka, D., Penna, B., Martins, G., & Lilenbaum, W. (2012). Serology and PCR for bovine leptospirosis: a herd and individual approaches. *Veterinary Record*, 170, 338.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Recuperado de https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Picardeau, M. (2013). Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine et maladies infectieuses*, 43, 1–9.

Pimenta, C. L. R. M., Castro, V., Clementino, I. J., Alves, C. J., Fernandes, L. G., Brasil, A. W. L., Santos, C. S. A. B., & Azevedo, S.S. (2014). Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, *34*, 332-336.

Pinna, M. H., Martins, G. M., Loureiro, A. P., & Lilenbaum, W. (2018). Detection of bovine carriers of *Leptospira* by serological, bacteriological, and molecular tools. *Tropical Animal Health Production*, 50, 883–888.

Schafbauer, T., Dreyfus, A., Hogan, B., Rakotozandrindrainy, R., Poppert, S., & Straubinger R. K. (2019). Seroprevalence of *Leptospira* spp. Infection in Cattle from Central and Northern Madagascar. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*, 2014.

Schneider, M. C., Najera, P., Pereira, M. M.; Machado, G., Anjos, C. B., Rodrigues, R. O., Cavagni, G. M., Muñoz-Zanzi, C., Corbellini, L. G., Leone, M., Buss, D. F., Aldighieri, S., & Esinal, M. A. (2015). Leptospirosis in Rio Grande do Sul, Brazil: ecosystem approach in the animal-human interface. *PloS Neglected Tropical Disease*, *12*, 1-20.

Suepaul, S. M., Carrington, C. V., Campbell, M., Borde, G. A., & Adesiyun, A. (2011). Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. *Tropical Animal Health Production*, 43, 367e375.

Sunder, J., Sujatha, T., Kundu, A., & Kundu, M. S. (2018). Carrier status and seroprevalence of leptospirosis in cattle of South Andaman. *Indian Journal Animal Research*, *52*, 140-143.

Thrusfield, M. (2007). Veterinary Epidemiology. Blackwell Science, Oxford.

WHO. World Health Organization (2003). *Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control.* Malta.

Yatbantoong, N., & Chaiyarat, R. (2019). Factors Associated with Leptospirosis in Domestic Cattle in Salakphra Wildlife Sanctuary, Thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*, 1042.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Caroline Dewes - 20%

João Pedro Mello Silva – 15%

Tanise Pacheco Fortes – 10%

Iuri Vladimir Pioly Marmitt – 15%

Flávia Aleixo Vasconcellos – 10%

Samuel Rodrigues Felix – 10%

Éverton Fagonde da Silva – 20%