

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Soroprevalência de leptospirose em rebanhos caprinos leiteiros no
semiárido da Paraíba**

Carla Laíse Rodrigues Menezes Pimenta

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**Soroprevalência de leptospirose em rebanhos caprinos leiteiros no
semiárido da Paraíba**

Carla Laíse Rodrigues Menezes Pimenta
Graduanda

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador

Patos
Maio de 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

CARLA LAUISE RODRIGUES MENEZES PIMENTA
Graduanda

**Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para
obtenção do grau de Medico Veterinário.**

ENTREGUE EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo
Orientador

Nota

Prof. Dr. Edisio Oliveira de Azevedo
Examinador I

Nota

Prof. Dr. Albério Gomes de Barros Gomes
Examinador II

Nota

DEDICATÓRIA

A Deus, por ser a razão da minha vida. Pela sua fidelidade e seu amor.

Aos meus pais, Zenaide e Roque, pelo amor e carinho. E que apesar da distância, sempre estiveram presente durante toda essa caminhada.

Ao meu esposo, Marllus, por sempre me encorajar a prosseguir. Por estar sempre ao meu lado, dividindo cada momento.

AGRADECIMENTO

A Deus, por ser o meu refúgio, a minha fortaleza, por está comigo em todos os momentos. Sempre me impulsionando a viver intensamente, a não desistir, a lutar, conquistar, e alcançar aquilo que Ele sonhou para mim.

Aos meus pais, por me amarem tanto. Por acreditarem que o meu sonho seria possível. Por cada palavra de ternura dita ao telefone. Por se dedicarem tanto, para que eu pudesse vencer e conquistar o meu maior objetivo.

Ao meu esposo, a quem eu amo tanto. Pelo seu amor, e por sonhar junto comigo. Por acreditar, que eu chegaria até aqui.

À minha irmã, Joana (Lila) pela sua cumplicidade e por tantos momentos de alegria que me proporciona.

Ao Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo, meu orientador, por acreditar e me motivar durante todo o trabalho. Pela sua amizade, paciência e dedicação. Muito obrigado por tudo!

As minhas amigas, Dani e Rê. Sempre presentes em todos os momentos. Dividindo alegrias e tristezas.

À minha tia, Denaide pelo seu apoio e amor. Sempre me incentivando, e me ajudando em tudo que fosse preciso.

Ao meu amigo, Silvano, pela sua simplicidade, amizade, e por sempre está disposto a ajudar em tudo.

Aos Professores, pelo ensino transmitido, contribuindo com minha formação profissional.

Aos amigos, Arthur, Luana, Sabrina, Roberta, Fabrine, Diego e Jefferson, que me ajudaram durante o desenvolvimento do meu trabalho, contribuindo para que fosse possível sua concretização.

À todos os meus colegas de turma, pelos momentos compartilhados e que jamais esquecerei.

À dona Francinete, técnica do Laboratório de Doenças Transmissíveis UFCG/CSTR, pelo apoio disposição e a todos os funcionários da UFCG que durante a graduação me ajudaram.

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

À todos muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Agente Etiológico.....	14
2.2 Aspectos epidemiológicos	15
2.3 Patogenia	16
2.4 Sinais Clínicos	17
2.5 Patologia.....	18
2.6 Diagnóstico	19
2.6.1 Diagnóstico Clínico	19
2.6.2 Diagnóstico sorológico	20
2.6.3 Exame direto em microscopia de campo escuro	20
2.6.4 Inoculação em animais de laboratório	21
2.6.5 Reação de Polimerase em Cadeia (PCR)	21
2.6.6 Diagnóstico por imunofluorescência	21
2.6.7 Isolamento do agente	22
2.7 Controle e profilaxia.....	22
2.8 Tratamento.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 Animais e amostragem	24
3.2 Atividades de campo	26
3.3 Diagnóstico sorológico da infecção por <i>Leptospira spp</i>	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5 CONCLUSÃO	32
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Sorovares de *Leptospira spp.* prevalentes em propriedades de caprinos leiteiros no semiárido do Estado da Paraíba, no período de março a julho de 2009. 29

Tabela 2 - Sorovares de *Leptospira spp.* prevalentes em caprinos leiteiros reagentes em relação ao total de animais pela técnica de soroaglutinação microscópica aplicada à leptospirose no semiárido da Paraíba, no período de março a julho de 2009. 31

Lista de Figuras

Figura 1 – Amostra negativa na soroaglutinação microscópica (SAM)27

Figura 2 – Amostra positiva na soroaglutinação microscópica (SAM)27

RESUMO

PIMENTA, CARLA LAUISE RODRIGUES MENEZES. Soroprevalência de *Leptospirose* em rebanhos caprinos leiteiros no semiárido da Paraíba. Patos, UFCG. 2011 38p. (Trabalho de conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

Zoonose mundialmente distribuída, a leptospirose é particularmente prevalente nas Américas e considerada endêmica na América Latina e no Caribe, com impacto na economia agropecuária. Este trabalho teve como objetivo determinar a soroprevalência de leptospirose a partir de caprinos leiteiros soropositivos no semiárido paraibano. Foram colhidas 975 amostras de soro caprino de 110 propriedades leiteiras localizadas no Município de Monteiro, microrregião do Cariri Ocidental, Estado da Paraíba. A amostragem foi delineada para a determinação da prevalência de propriedades positivas (focos) e de animais soropositivos para a leptospirose. Para o diagnóstico sorológico de leptospirose, foi empregada a reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM), utilizando-se uma coleção de 24 sorovares de *Leptospira spp.* como antígenos. Uma propriedade foi considerada foco quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. As prevalências de propriedades positivas e de animais soropositivos foram de 43,6% (IC 95% = 34,2% - 53,4%) e de 10,0% (IC 95% = 8,2% - 12,0%), respectivamente. Os sorovares mais frequentes por propriedade, foram Autumnalis (10,9%), Whitcombi (8,2%) e Sentot (7,3%) e por animal foram Autumnalis (2,5%), Sentot (1,9%) e Whitcombi (1,4%).

Palavras-chave: Leptospirose, sorologia, prevalência, caprinos.

ABSTRACT

PIMENTA, CARLA LAUISE RODRIGUES MENEZES. Seroprevalence of leptospirosis from dairy goat herds in the semiarid of the Paraíba state. Patos, UFCG. 2011 38p. (Monograph- Veterinary Medicine, Preventive Veterinary Medicine and Animal Health).

Worldwide spread zoonoses, leptospirosis is particularly prevalent in the Americas and considered endemic in Latin America and the Caribbean, with an impact on the agricultural economy. This work aimed to determine the seroprevalence of leptospirosis from seropositive dairy goats in the semiarid of Paraíba State. Nine hundred seven-five serum samples were collected from goats from 110 dairy herds in the Monteiro, Cariri Ocidental microregion of the Paraíba State. Sampling was designed to determine the prevalence of positive herds (foci) and seropositive animals for leptospirosis. For the serological diagnosis of leptospirosis the microscopic agglutination test (MAT) was carried out using 24 *Leptospira spp.* serovars as antigens. A herd was considered positive when presented at least one seropositive animal. The prevalence of positive herds and seropositive animals were 43.6% (95% CI = 34.2% - 53.4%) and 10.0% (95% CI = 8.2% - 12.0%), respectively. The most frequent serovars by herd, serovars Autumnalis (10.9%), Whitcomb (8.2%) and Sentot (7.3%) and in animals were Autumnalis (2.5%), Sentot (1.9%) and Whitcomb (1.4%).

Keywords: Leptospirosis, serology, prevalence, goats.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande extensão territorial, oferece ótimas condições para a criação de caprinos e está colocado entre os dez países possuidores dos maiores rebanhos dessa espécie no mundo. Conta com os rebanhos ovino e caprino que somados representam mais de 25 milhões de cabeças (BRASIL, 2007), equivalente a 2,8 % do efetivo mundial, que é de aproximadamente 900 milhões de animais. No período que compreendeu os anos de 1999 a 2004, o crescimento da criação de ovinos e caprinos no Brasil foi de aproximadamente 4,6% e 16,5%, respectivamente (BRASIL, 2007).

A caprinocultura no Nordeste, de forma geral, é desenvolvida em um sistema de criação extensivo, no qual os animais são soltos na pastagem nativa, em sua maioria constituída de caatinga, sem divisões de pastos, permitindo que os rebanhos de várias propriedades pastem em conjunto (NOGUEIRA FILHO, 2003). Representa uma das principais atividades econômicas das áreas mais secas (SOUSA NETO et al., 1997), onde a venda de animais vivos e/ou peles constitui fonte adicional de recursos para obtenção de gêneros não produzidos na propriedade.

O rebanho caprino paraibano ocupa o quinto lugar do rebanho nacional (BRASIL, 2007), sendo que a microrregião do Cariri Ocidental paraibano destaca-se na exploração da ovinocaprinocultura, pois representa a melhor área de mercado do país pela sua localização geográfica, maior densidade de caprinos e ovinos do continente e principalmente por possuir o melhor material genético tanto para leite como para carne, além de um rico acervo tecnológico gerado ao longo das duas últimas décadas na fazenda experimental de Pendência, pertencente à EMEPA (Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba).

Evoluindo de criações voltadas para a subsistência, nos últimos anos ocorreram mudanças significativas para a consolidação da cadeia produtiva da ovinocaprinocultura no Brasil. Nesse período, a atividade despertou maior atenção de governantes, técnicos e produtores, acarretando mudanças significativas, destacando-se a intensificação da pesquisa voltada para produção de animais e beneficiamento de seus produtos, crescimento do nível de organização dos produtores, aumento da absorção das novas tecnologias, maior atuação dos agentes financeiros para facilitar o acesso ao crédito e, o mais importante, aumento da demanda por produtos derivados de caprinos e ovinos (MEDEIROS et al.,

2005; CARVALHO, 2007). Entretanto e apesar do impulso mercadológico, a produtividade da ovinocaprinocultura no Brasil ainda é baixa.

Uma das razões está no regime de manejo da exploração predominantemente extensiva e rudimentar, com alta dependência da vegetação nativa, utilização de raças não especializadas, assistência técnica deficitária, baixo nível de organização e de gestão da unidade produtiva e, sobretudo, carece de controle sanitário efetivo. Desta forma, este mercado vem exigindo maior preocupação sanitária através de medidas de biossegurança com exames diagnósticos rápidos e confiáveis. Neste contexto, o estudo de agentes infecciosos com destaque para a leptospirose é relevante devido às perdas econômicas ocasionadas e a possibilidade de transmissão para os seres humanos.

Zoonose mundialmente distribuída, a leptospirose é particularmente prevalente nas Américas e considerada endêmica na América Latina e no Caribe, com impacto na economia agropecuária. A ocorrência de leptospirose está estreitamente vinculada aos fatores ambientais, que podem dar lugar a um foco de infecção, cuja amplitude está na dependência de condições favoráveis, das características do habitat e da presença de animais silvestres (ALVES et al., 1996; GENOVEZ et al., 2006). Hospedeiros adaptados ou de manutenção são altamente susceptíveis, cujo ciclo de infecção é perpetuado dentro da mesma espécie, usualmente por transmissão direta. Os sovares adaptados aos hospedeiros naturais favorecem a sua manutenção no meio ambiente, podendo atingir, por transmissão indireta, os hospedeiros incidentais, que são infectados de forma acidental, geralmente por espécie diferente. O ser humano se comporta na maioria das vezes como hospedeiro incidental, pois raramente se constitui em transmissor da infecção (FAINE et al., 1999).

Embora tenha nos caprinos incidência reduzida, a disseminação de leptospirosas entre eles é um fato real e crescente, sendo agravado em propriedades que adotam atividades consorciadas com outras espécies animais (LANGONI et al., 1995). Na infecção aguda dos caprinos, observa-se anorexia, dificuldade respiratória, anemia hemolítica, icterícia, urina de cor vermelho-escura e febre. A forma crônica, que ocorre com mais frequência, é caracterizada por baixa fertilidade, mortalidade neonatal, abortamentos e diminuição da produção de leite, levando a perdas econômicas importantes (CUNHA et al., 1999).

A despeito dos caprinos serem considerados menos susceptíveis à infecção por *Leptospira spp.* (LEON-VIZCAINO et al., 1987), alguns relatos no Brasil demonstraram soropositividades variando de 24% a 76% (CUNHA et al., 1999).

O isolamento de leptospiros exerce um papel de relevância indiscutível no controle da infecção, pois permite o conhecimento exato dos diferentes sorovares existentes em determinada região (FREITAS et al., 2004).

Considerando a importância da caprinocultura para a região Nordeste do Brasil, particularmente para o Estado da Paraíba, as perdas econômicas ocasionadas, e a possibilidade de transmissão de leptospiros para os seres humanos, o objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de leptospirose em rebanhos de caprinos leiteiros do semiárido paraibano.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agente Etiológico

O agente etiológico da leptospirose pertence à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira*. Membros dessa espécie são bactérias helicoidais móveis (0,1 x 6 a 12 μm) com extremidades em forma de gancho (QUINN et al., 2005). São bactérias aeróbicas, com multiplicação por divisão simples e o seu deslocamento realizado mediante movimentos giratórios de propulsão ao redor do eixo corporal (BEER, 1999; TRABULSI, 2008). Embora gram-negativas citoquimicamente, elas não se coram bem com corantes bacteriológicos convencionais e em geral são visualizadas usando-se microscópico de campo escuro (QUINN et al., 2005).

Segundo a classificação taxonômica clássica, com base em sorogrupos e sorovares e na patogenicidade, as leptospirosas podem ser divididas em dois grandes grupos: patogênicas e saprófitas. As patogênicas que infectam os humanos são: *Leptospira interrogans sensu stricto*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. fainii* e *L. weilii*; possuem cerca de 200 sorovares agrupados em 23 sorogrupos. As espécies saprófitas de vida livre são: *L. biflexa*, *L. wolbachii*, *L. meyeri*, *Turneria parva*, *Leptonema illini*; possuem 38 sorovares agrupados em seis sorogrupos, sendo encontradas principalmente em água doce, e existindo raros registros de infecção nos seres humanos e nos animais (FAINE et al., 1999; ACHA; SZYFRES, 2003).

As leptospirosas patogênicas possuem um período de vida variável em águas que depende da temperatura, pH, salinidade e grau de poluição (BROD et al., 2005). A temperatura ideal para o crescimento é de 28°C a 30°C, e o tempo de geração em cultura ou em animais é de seis a oito horas (TRABULSI, 2008). Possuem pH ótimo compreendido entre 7,2 e 7,6, com grande sensibilidade frente aos desvios desses valores de pH, possuindo acentuada sensibilidade frente a toda classe de desinfetantes que desviam o pH abaixo de 6 e acima de 11. Os agentes morrem rapidamente pela ação do calor, a dessecação também provoca a morte entre 1,5 e 16 horas e resistem relativamente ao frio (BEER, 1999).

Sendo as leptospirosas eliminadas pelas vias urinárias dos animais doentes e portadores naturais, contaminam o solo, a água e os alimentos, onde se conservam vivas

durante 6-7 dias, sendo que em condições favoráveis, isto é, águas estagnadas, lama dos canais e margens dos riachos lentos, podem viver, saprofiticamente, durante um tempo considerável (ENRIETTI, 2001).

As culturas de leptospira são difíceis de manterem vivas e, com vitalidade longa, porém, em determinadas condições, são capazes de permanecerem utilizáveis, durante longo tempo. O pH 7,4-7,6 é uma das condições essenciais para o cultivo “in vitro” (ENRIETTI, 2001). Dentre outros fatores que atuam sobre as culturas de leptospiras, temos a dessecação do meio pela evaporação da água, tornando mais densas, coisa que abrevia muito a longevidade das culturas (ENRIETTI, 2001).

2.2 Aspectos epidemiológicos

A Leptospirose é uma doença bacteriana de caráter zoonótico que afeta os animais domésticos, silvestres e o homem. Estudos sorológicos têm demonstrado o envolvimento de diferentes espécies sinantrópicas e silvestres, na epidemiologia da doença. Roedores e pequenos marsupiais são reservatórios de maior importância (FAINE et al., 1999; CORRÊA et al., 2004). Muitos animais silvestres, entre eles os roedores, estão perfeitamente adaptados as leptospiras e não manifestam sintomas ou lesões (ACHA; SZYFRES, 2003).

Sua ocorrência é maior em países de clima tropical e subtropical, principalmente nos períodos de altos níveis pluviométricos, devido à elevada sobrevivência da bactéria em ambientes úmidos, o que aumenta o risco de exposição e contaminação de animais susceptíveis e seres humanos (OLIVEIRA et al., 2010)

A leptospirose é considerada doença de risco ocupacional, atingindo diferentes categorias profissionais, como trabalhadores em arrozais e canaviais, minas, abatedouros e saneamento, além de tratadores de animais (SOTO, 2007). As leptospiras podem ser transmitidas por contato direto entre indivíduos ou contato indireto com urina de um animal infectado ou água contaminada. Os animais, incluindo o homem, podem ser divididos em hospedeiros de manutenção e acidentais. A doença se mantém na natureza por infecção crônica dos túbulos renais dos hospedeiros de manutenção, sendo o homem um hospedeiro acidental. Os hospedeiros de manutenção são as principais fontes de contaminação ambiental e de transmissão natural para outras espécies animais,

denominadas hospedeiros acidentais. As espécies de hospedeiros incidentais geralmente exibem baixa susceptibilidade à infecção, desenvolvem doença severa e são transmissores ineficientes pra outros animais. Alguns animais podem ser considerados hospedeiros de manutenção de alguns sorovares e hospedeiros acidentais de outros, cuja infecção pode causar doença grave ou fatal (LEVETT, 2001; QUINN et al., 2005).

Dentre as modalidades de fonte de infecção dos animais acometidos, da maior relevância é o papel dos portadores (convalescentes e sadios), excretores de leptospiras a quem se atribui a maior parcela de culpa pela persistência de focos da doença. Os portadores excretam leptospiras intermitentemente ou regularmente por períodos de meses, anos ou por toda a vida. Devido à longa duração desta condição e ampla facilidade de deslocamento, por não manifestar sinais de infecção, eles se tornam os reservatórios de manutenção do agente no ambiente. Os surtos se reproduzem por exposição à água contaminada com urina ou tecidos provenientes de animais infectados, particularmente nas ocasiões em que ocorrem elevados índices de precipitações pluviométricas e nas regiões em que o solo apresenta reação neutra ou levemente alcalina, associando-se ainda a variedade de espécies hospedeiras que facilitam a cadeia de eventos necessários para a transmissão da doença (VASCONCELLOS, 1993; TRABULSI, 2008).

Animais em lactação podem eliminar leptospiras no leite na fase aguda da doença (JULIANO et al., 2000). Outra forma de transmissão pode ser por meio do sêmen. Embora a transmissão de leptospiras seja tradicionalmente associada a exposição à urina infectada, o DNA leptospiral foi detectado no sêmen de seis carneiros com infecção subclínica e isso sugeriu fortemente que os machos podem transmitir a bactéria por meio do sêmen. No entanto, os autores não descartaram a possibilidade de o DNA encontrado no sêmen ser devido a uma contaminação com urina presente na uretra (LILENBAUM et al., 2008a).

2.3 Patogenia

A leptospirose constitui uma enfermidade bifásica. Tendo início a fase aguda, após a penetração da leptospira pelas membranas mucosas ou pela pele íntegra. Invadem a circulação, multiplicando-se ativamente, para posterior migração em direção a determinados órgãos de eleição, desaparecendo a seguir completamente da circulação, constituindo assim, a fase imune (MARINHO et al., 2003). A segunda etapa da

leptospirose aguda também referida como a fase imune, coincide com o surgimento de anticorpos (LEVETT, 2001).

A leptospiremia dura, em geral, de dois a três dias, há uma fase febril discreta e, já no quarto dia, as leptospiras estão presentes nos rins onde localizam-se no lúmen dos túbulos proximais, causando nefrite intersticial (CORREA; CORREA, 1992).

Em animais que sobrevivem à fase aguda, as leptospiras persistem em sítios imunologicamente protegidos, como os túbulos proximais, câmara anterior do olho e trato genital (CASTRO, 2006).

2.4 Sinais Clínicos

Caprinos e ovinos são considerados menos susceptíveis a leptospirose do que outras espécies de animais domésticos (LILENBAUM et al., 2008b).

A leptospirose nos caprinos, enquanto doença clínica, não tem sido relatada. Nos casos de infecção natural, o período de incubação é de 5 a 14 dias, quando o número de leptospiras no sangue e nos tecidos alcança um nível crítico. Os sinais mais evidentes são: perda de peso, icterícia, hemoglobinúria, anorexia, letargia e hipertermia, com duração do quadro por 2 a 4 dias; em fêmeas prenhes têm-se verificado aborto. Nos casos de doença aguda, pode ocorrer uma alta taxa de mortalidade (SCHIMIDT et al., 2002; TRABULSI, 2008).

A apresentação clínica da leptospirose é bifásica, uma fase aguda ou septicêmica (leptospiremia) que dura cerca de uma semana, seguida de uma fase imune, caracterizada pela produção de anticorpos e excreção de leptospiras na urina (leptospirúria) (RODRIGUES, 2008). A forma crônica com infertilidade, óbitos neonatais, abortos e produção de leite diminuída, ocorre com mais frequência, causando consideráveis perdas econômicas (LILENBAUM et al., 2008b). E em rebanhos leiteiros, pode haver distúrbio no fluxo e na qualidade do leite (FAINE et al., 1999).

2.5 Patologia

As lesões macroscópicas no homem e nos animais caracterizam-se pela presença de hemorragias petequiais e, menos comumente, equimóticas, espalhadas pelo corpo. Quando presente a icterícia, a necropsia revela uma intensa coloração amarela ouro, que atinge todo o organismo. Contrasta, perfeitamente, a cor amarela das inúmeras petéquias espalhadas pelo corpo (ENRIETTI, 2001).

O fígado por vezes, mantém-se em volume, porém, noutras ocasiões, encontra-se aumentado, e o seu parênquima está corado de amarelo pela bilirrubina. Na histologia do fígado observa-se que os hepatócitos da região centro lobular apresentam-se necróticos ou vacuolizados e alguns contém glóbulos citoplasmáticos (ENRIETTI, 2001; RIET-CORREA et al., 2001).

As lesões hemorrágicas são preponderantes nos pulmões, onde se apresentam sob a forma de equimose, sendo observadas, também, na vesícula biliar, cérebro, músculos e, às vezes, em quase todos os órgãos do animal (ENRIETTI, 2001). No pulmão há pneumonia intersticial com edema, congestão e discreta infiltração de neutrófilos no septo interalveolar. As lesões atelectásicas e hemorrágicas, observadas macroscopicamente, correspondem a áreas focais de edema, hemorragias e acúmulo de exsudato eosinofílico dentro dos alvéolos (RIET-CORREA et al., 2001).

A hemorragia é muito comum nas regiões inguinal e axilar, não sendo, entretanto, visível, perfeitamente, nos animais de pele pigmentada. Em síntese, podemos afirmar que as principais modificações patológicas da Leptospirose, dependem, em última análise, do grau de icterícia, do índice de azotemia e das modificações acarretadas pelo próprio microorganismo que se localiza nos órgãos após a fase septicêmica. Por esse motivo, as lesões estão representadas por hemorragias em quase todos os órgãos, de preferência nas serosas, tubo gastrointestinal, pulmões, adrenais, rins e, especialmente, músculos voluntários (ENRIETTI, 2001).

Os rins são os órgãos mais atingidos pela doença e, assim, apresentam-se, freqüentemente, aumentados no seu volume, amolecidos, pálidos e corados pela bilirrubina, com hemorragias intraparenquimais, separando perfeitamente, a cápsula da medula. No rim há degeneração das células epiteliais dos túbulos, que apresentam vacúolos de diversos tamanhos ou citoplasma de aspecto granular. Cilindros hialinos, e granulares

em menor número, são observados em muitos túbulos. Alguns túbulos apresentam-se dilatados e observam-se poucos neutrófilos no interstício ou dentro dos túbulos (ENRIETTI, 2001; RIET-CORREA et al., 2001).

O timo sofre, também, a ação tóxica da doença, apresentando focos hemorrágicos bem como, modificações na sua consistência e no volume, que se torna menor, sofrendo regressão. O miocárdio aparentemente normal, apresenta focos petequiais e hiperemia dos capilares. As petéquias estão situadas no tecido intersticial do miocárdio, principalmente, do lado endocárdico. Torna-se claro o estado de edema em que se encontram as fibras musculares onde estão presentes elementos provenientes do sangue (ENRIETTI, 2001).

O aparelho digestivo também apresenta numerosos pontos de hemorragias no interior da cavidade gastro-entérica. Encontra-se por esse motivo, líquido sanguinolento no estômago e nos intestinos, e a mucosa desses órgãos se apresenta de aspecto hemorrágico puntiforme ou mesmo, com grandes sufusões em toda a sua extensão. Os folículos linfóides do intestino apresentam mobilização evidente com aumento das placas de Peyer, conseqüente à reação histio-linfocitária que se processa (ENRIETTI, 2001).

2.6 Diagnóstico

Como os sintomas da leptospirose são amplos e inespecíficos para a doença, a experiência clínica, a avaliação do ambiente epidemiológico e história clínica do paciente podem contribuir para o diagnóstico médico; porém, a confirmação da leptospirose só é possível através de diagnóstico laboratorial (VIEIRA, 2008).

2.6.1 Diagnóstico Clínico

O diagnóstico clínico da leptospirose é baseado no histórico epidemiológico, no quadro clínico de caráter sistêmico, incluindo anorexia, prostração, desidratação, icterícia e, nas alterações laboratoriais indicativas de comprometimento renal e hepático (RODRIGUES, 2008). Tais como elevação de atividade de enzimas hepáticas, bilirrubina, uréia e creatinina séricas. Essas alterações podem apenas sugerir um diagnóstico de leptospirose, o qual deve ser confirmado por testes microbiológicos, sorológicos e moleculares (LEVETT, 2001).

2.6.2 Diagnóstico sorológico

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

Na bateria de antígeno é incluído pelo menos um representante de cada um dos sorogrupos existentes. Quando nem todos os sorogrupos estão presentes, a infecção por sorovares do grupo não representado na bateria de antígenos passa despercebida (HAGIWARA, 2003).

A demonstração de um aumento de pelo menos quatro vezes no título do anticorpo de 2 a 4 semanas de intervalo é o método sorológico mais definitivo para diagnosticar a leptospirose. Em geral, um título alto isolado (maior ou igual a 1:800) é suficiente para um diagnóstico de leptospirose se o histórico do paciente e constatações clínicas e laboratoriais forem compatíveis (WOHL, 1996).

2.6.3 Exame direto em microscopia de campo escuro

Durante a primeira semana de infecção até os dez dias (fase aguda), especialmente entre três e sete dias, as leptospiras podem ser vistas por exame direto em microscopia de campo escuro, utilizando-se sangue, exudato peritonal, pleural ou urina. A vantagem da observação direta é a rapidez na obtenção de resultados, entretanto, as desvantagens incluem as dificuldades técnicas para a obtenção de espécies viáveis, o curto período (três a sete dias pós infecção) em que provavelmente encontra-se um resultado positivo, e a interpretação subjetiva dos resultados, tendo em vista que coleções de fibrina e proteína em preparações a fresco podem ser confundidas com leptospiras (FAINE et al., 1999).

2.6.4 Inoculação em animais de laboratório

Métodos de inoculação em animais são particularmente úteis para o isolamento de cepas a partir de tecidos ou fluidos corporais que contenham os microrganismos contaminantes (MAHON; MANUSELIS, 1995).

Os cobáios são os animais de escolha para a reprodução experimental da doença. Estes animais são sensíveis à inoculação intra-peritoneal, de macerado de órgãos ou sangue de leptospirósicos (ENRIETTI, 2001).

A inoculação de sangue venoso no peritônio de cobáios jovens produz nesse animal um quadro de icterícia hemorrágica mortal, no fim de 5-6 dias após a inoculação (ENRIETTI, 2001). O hamster morre em 4 dias, ao passo que o cobáio resiste até o sexto dia. Por esse motivo, o hamster, torna-se o animal mais próximo para o isolamento do microorganismo.

2.6.5 Reação de Polimerase em Cadeia (PCR)

O ensaio de reação de cadeia polimerase (PCR) do DNA leptospiral é um meio eficaz de diagnóstico antes do desenvolvimento do título do anticorpo ou quando os títulos estão baixos e o curso clínico confuso (WOHL, 1996).

Uma limitação do diagnóstico baseado em PCR da leptospirose é a incapacidade da maioria dos testes de PCR para identificar o sorovar infectante. A PCR tem sido utilizada para distinguir sorovares patogênicos de não patogênicos (LEVETT, 2001). Porém apresenta vantagens, pois é um método rápido e de baixo custo podendo ser aplicado ao diagnóstico clínico (HARKIN et al., 2003).

2.6.6 Diagnóstico por imunofluorescência

A imunofluorescência pode ser utilizada para identificar leptospiras em tecidos (fetal, fígado, pulmões, rins ou placenta) ou sedimentos urinários. É um teste rápido, podendo ser utilizado em amostras congeladas. Sua interpretação requer um técnico treinado, e o conjugado disponível comercialmente não é sorovariedade-específico e torna

necessária a realização do exame sorológico para identificar a sorovariedade infectante (GROOMS; BOLIN, 2005).

2.6.7 Isolamento do agente

A cultura bacteriana é um método definitivo de diagnóstico. A urina deve ser coletada após aplicação de furosemida para aumentar a filtração glomerular, liberando mais leptosiras e diluindo a urina, o que aumenta a sobrevivência das leptosiras. Esse método tem como desvantagem ser mais difícil e dispendioso. O isolamento e classificação de cepas patogênicas de leptospira são processos demorados, decorrentes principalmente da baixa taxa de crescimento, muitas vezes aliado à contaminação concomitante com microrganismos de crescimento mais rápido, e rigorosas exigências da cultura *in vitro* desta bactéria (GROOMS; BOLIN, 2005; MACHRY et al., 2010).

Os meios de cultivo das leptosiras são líquido, semi-sólido ou sólido. Os meios mais utilizados são o Ellinghausen, McCullough, Johnson, Harris (EMJH) e o meio de Fletcher (ambos semi-sólidos). As culturas são incubadas a uma temperatura entre 28°C e 30°C e examinadas semanalmente por microscopia de campo escuro durante pelo menos 2 meses. Amostras com possível contaminação podem ser inoculadas em meios de cultura seletivos contendo antibióticos (RODRIGUES, 2008).

2.7 Controle e profilaxia

Caracterizando-se por uma enfermidade de caráter populacional e ambiental, seu controle está intimamente ligado a medidas de prevenção, aplicadas aos animais e ao ambiente no qual os mesmos são mantidos (ARDUINO et al., 2009).

O controle da leptospirose nos animais domésticos envolve a aplicação de medidas que incluem a identificação das fontes de infecção, o controle no momento da aquisição de animais e a imunização sistemática dos susceptíveis com vacinas inativadas que contenham as sorovariedades de leptosiras presentes na região (FAINE et al., 1999). Das medidas preventivas relacionadas ao manejo, a vacinação é uma das mais importantes, pois pode proporcionar uma imunidade humoral aos animais de forma que estes estejam protegidos contra a manifestação dos sinais clínicos da leptospirose, impedindo que a

enfermidade seja transmitida entre os animais e os seres humanos (ARDUINO et al., 2009).

A identificação da variante sorológica da *Leptospira* é muito importante, uma vez que a imunidade adquirida é sorovariedade específica, então a imunização protege somente contra as sorovariedades homólogas ou semelhantes antigenicamente (LEVETT, 2001).

2.8 Tratamento

O tratamento da leptospirose consiste de terapia antibiótica e cuidados de apoio. A penicilina é o antibiótico de escolha para o tratamento da leptospiremia e deve ser administrada precocemente no curso da doença. Penicilina G procaína (40.000 a 80.000 U/kg via intramuscular ou via subcutânea a cada 24 horas ou divididas a cada 12 horas) é a forma de penicilina mais comumente usada para o tratamento da leptospirose, embora a ampicilina e a amoxicilina também possam ser eficazes (WOHL, 1996).

A doxiciclina (2,5 a 5 mg/kg, via oral, a cada 24 horas por 2 semanas) é recomendada após a conclusão da terapia com penicilina para eliminar as leptospiros do rim. A di-hidroestreptomicina e a tetraciclina têm sido recomendadas para este propósito. Estas drogas, entretanto, têm efeitos nefrotóxicos em pacientes com doença renal (WOHL, 1996).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e amostragem

Foram utilizadas fêmeas caprinas adultas provenientes de propriedades localizadas no Município de Monteiro, microrregião do Cariri Ocidental, Estado da Paraíba. Optou-se pela utilização de fêmeas adultas pelo fato de que, em se tratando de propriedades leiteiras, as fêmeas são mantidas no rebanho.

A amostragem foi delimitada para a determinação da prevalência de propriedades positivas (focos) e de animais soropositivos para a infecção por *Leptospira spp.* Foi realizada em duas etapas: (1) uma seleção aleatória de um número pré-estabelecido de propriedades (unidades primárias); (2) dentro das unidades primárias, foi amostrado, aleatoriamente, um número pré-estabelecido de caprinos (unidades secundárias).

Para o cálculo do número de unidades primárias a serem amostradas, foram considerados os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada; (b) erro absoluto; e (c) nível de confiança, de acordo com a fórmula para amostras aleatórias simples (NOORDHUIZEN et al., 1997; THRUSFIELD, 1995):

$$n = \frac{Z^2 \times P(1 - P)}{d^2}$$

Onde:

n = número de propriedades amostradas

Z = valor da distribuição normal para o nível de confiança de 95%

P = prevalência esperada de 20,8% (LILENBAUM et al., 2008)

d = erro absoluto de 5%

Para o ajuste para populações finitas, foi utilizada a seguinte fórmula (THRUSFIELD, 1995):

$$n_{ajus} = \frac{N \times n}{N + n}$$

Onde:

n_{ajus} = tamanho da amostra ajustado

N = tamanho da população total

n = tamanho inicial da amostra

De acordo com o Centro de Desenvolvimento Integrado da Caprinovinocultura (CENDOV), atualmente há 180 propriedades de exploração de cabras leiteiras cadastradas. Com base nesses dados, o número de unidades primárias a serem visitadas é de 105. Por motivo de segurança, foram utilizadas 110 propriedades.

O número de animais testados para um rebanho ser classificado como positivo ou negativo foi calculado com base no valor de sensibilidade e especificidade agregadas (MARTIN et al., 1992; DONALD et al., 1994; JORDAN, 1996). Dessa forma, o cálculo do número de unidades secundárias foi realizado com o programa Herdacc versão 3.0, de modo a ser obtido um valor de sensibilidade e especificidade agregadas de pelo menos 90% (MARTIN et al., 1992; JORDAN, 1996), utilizando os seguintes parâmetros:

- a) Sensibilidade e especificidade do teste, em nível individual, de 80% e 100%, respectivamente (VASCONCELLOS et al., 1990).
- b) Tamanho do rebanho.
- c) Ponto de corte 1, ou seja, número mínimo de animais positivos para classificar o rebanho como foco.

Após várias simulações no programa Herdacc versão 3.0, optou-se pelos seguintes tamanhos amostrais:

- Propriedades com até 100 fêmeas adultas => foram amostrados 12 animais.
- Propriedades com mais de 100 fêmeas adultas => foram amostrados 13 animais.
- Propriedades com até 12 fêmeas adultas => foram amostrados todos os animais.

No total, foram amostradas 975 fêmeas caprinas adultas procedentes de 110 propriedades, no período de 10 de março a 29 de julho de 2009.

3.2 Atividades de campo

As atividades de campo incluíram a colheita de sangue, aplicação de questionário epidemiológico e envio das amostras para o Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB.

As amostras de sangue foram colhidas em volumes de 8 ml, pela punção da veia jugular com agulha descartável e tubo com vácuo e gel separador (sem anticoagulante) com capacidade de 15 ml. Após o dessoramento, o soro foi transferido para microtubos e congelado. O transporte das amostras para o laboratório foi feito em caixas de isopor com gelo, com o formulário epidemiológico envolvido em plástico e fixado no lado externo da tampa.

3.3 Diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira spp*

O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM), de acordo com Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973), com uma coleção de antígenos vivos composta por 22 sorovares patogênicos e dois saprófitos: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffii, Shermani, Tarassovi, Andamana, Patoc e Sentot.

Inicialmente cada amostra de soro foi diluída na razão de 1:50, ou seja, 0,1 ml de soro diluído em 4,9 ml de solução salina tamponada de Sorensen estéril (SANTA ROSA, 1970). Em seguida, alíquotas de 50 µl de cada amostra de soro diluída foram pipetadas para placas de polietileno com 96 poços de fundo chato. Foram então adicionados 50 µl dos antígenos previamente diluídos para cada amostra.

As misturas de soro e antígeno foram incubadas em temperatura ambiente durante uma hora, tempo necessário para que ocorresse a reação antígeno-anticorpo. Ao término do prazo procedeu-se à leitura em microscópio com condensador de campo escuro e objetiva de longa distância.

Amostras que apresentaram menos de 50% de aglutinação no campo de visualização eram consideradas negativas (Figura 1). Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação (Figura 2), foram titulados pelo exame de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo. Os antígenos foram examinados ao microscópio de campo escuro, previamente aos testes, a fim de verificar a mobilidade e a presença de auto-aglutinação ou de contaminantes.

Uma propriedade foi considerada positiva quando apresentou pelo menos um animal soropositivo. No animal, o provável sorovar infectante foi o que apresentou o maior título, e na propriedade foi o que apresentou maior título e/ou número de reações positivas. Os animais que apresentaram dois ou mais sorovares com títulos idênticos foram considerados positivos, porém desconsiderados para o cálculo do sorovar mais freqüente.

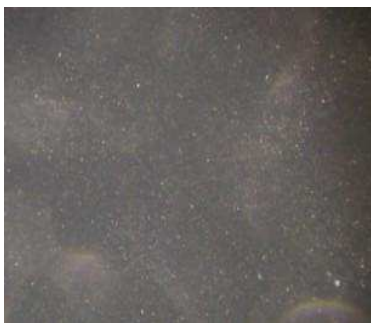


Figura 1. Amostra negativa na SAM.

Fonte: FAINE, 1999.



Figura 2. Amostra positiva na SAM.

Fonte: FAINE, 1999.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 975 amostras de soro caprino analisadas, 98 foram positivas pela técnica de soroglutinação microscópica aplicada à leptospirose, obtendo-se uma prevalência de animais soropositivos de 10,0% (IC 95% = 8,2%-12,0%).

Lilenbaum et al. (2008a) avaliaram 248 caprinos oriundos de 13 propriedades no Rio de Janeiro, e encontraram 52 animais positivos, com uma soroprevalência de 20,9%. Silva et al. (2006) analisaram 450 amostras de soro caprino de 45 rebanhos da microrregião do Cariri Paraibano, e encontraram 59 (13,1%) amostras positivas. Fávero et al. (2002) avaliaram 1262 caprinos no Estado da Paraíba em estudo retrospectivo, e encontraram 65 (5,1%) animais positivos. Schimidt et al. (2002) examinaram 354 soros de caprinos leiteiros de 15 municípios do Rio Grande do Sul, e identificaram 56 (3,4%) animais positivos. A diferença entre os resultados obtidos nos vários estudos de prevalência da leptospirose em caprinos pode estar relacionada à variedade de fatores que influenciam na ocorrência da doença, como as espécies animais de contato, manejo utilizado, os sorovares existentes na região, as condições climáticas e ambientais e das oportunidades de infecção direta ou indireta. Tendo em vista que os animais amostrados no presente estudo são animais leiteiros, o tipo de manejo utilizado, a estrutura da produção, as medidas higiênico-sanitárias entre outros, são fatores que contribuem para diminuição da prevalência da leptospirose.

Dentre as 110 propriedades amostradas, 48 propriedades apresentaram pelo menos um animal reagente na SAM para qualquer sorovar, o que resultou em uma prevalência de focos de 43,6% (IC 95% = 34,2% - 53,4%). Na tabela 1 é apresentado o número de propriedades reagentes na SAM aplicada à leptospirose de acordo com os sorovares. O sorovar Autumnalis foi o mais frequente, com 12 propriedades positivas (10,9%), seguido do Whitcombi com nove (8,2%), Sentot e Patoc com oito propriedades cada (7,3%), Butembo com cinco (4,5%), e Andamana com quatro (3,6%) propriedades positivas.

Tabela 1 - Sorovares de *Leptospira spp.* prevalentes em propriedades de caprinos leiteiros no semiárido do Estado da Paraíba, no período de março a julho de 2009.

Sorovar	Proporção de propriedades positivas	Prevalência (%)	IC (95%) %
Autumnalis	12/110	10,9%	5,8 –18,3
Whitcombi	9/110	8,2%	3,8 –15,0
Sentot	8/110	7,3%	3,2 –13,8
Patoc	8/110	7,3%	3,2 –13,8
Butembo	5/110	4,5%	1,5 –10,3
Andamana	4/110	3,6%	1,0 – 9,0

Na tabela 2 é apresentado o número de animais reagentes na SAM aplicada à leptospirose de acordo com os sorovares. O sorovar Autumnalis foi o mais freqüente, com 25 soros reagentes (2,5%), seguido de Sentot com 19 soros (1,9%), Whitcombi com 14 (1,4%), Patoc com 13 (1,3%), Andamana com 11 (1,1%), Butembo com sete (0,7%), e Pyrogenes, Bratislava e Castellonis com um soro (0,1%).

Nesta pesquisa o sorovar mais prevalente foi o Autumnalis tanto para propriedades quanto para animais, resultados igualmente encontrados por Silva et al. (2006), que analisaram 450 amostras de soro caprino de 45 rebanhos da microrregião do Cariri Paraibano e obtiveram 44 soros reagentes para o sorovar Autumnalis (74,6%). O sorovar Autumnalis possui como principais reservatórios os roedores, indicando a importância desses animais como prováveis fontes de infecção para os caprinos, bem como a necessidade de intensificação do controle de roedores.

Estudos conduzidos em caprinos no semiárido nordestino apontaram predominância de reações para o sorovar Autumnalis. Araújo Neto (2005) utilizou 100 ovelhas abatidas no matadouro público de Patos, PB, para o isolamento da bactéria a partir do trato genital, realizando paralelamente a sorologia, obtendo 9% de soropositividade para a doença, e 44,4% de freqüência para o sorovar Autumnalis. Higino (2007) realizou a sorologia de 80 ovinos e obteve 7,5% de positividade, com 83,3% de freqüência para o sorovar Autumnalis. Esses estudos, bem como os resultados do presente trabalho, levantam a hipótese dos caprinos e ovinos como fontes de infecção do sorovar Autumnalis na região e reforçam o risco de transmissão para os seres humanos e para outras espécies.

A ocorrência do sorovar Autumnalis causa preocupação, pois não existe imunidade cruzada entre os diferentes sorovares, e no mercado as vacinas são compostas, basicamente, pelos sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Grippytyphosa, Hardjo, Tarassovi, Andamana, Wolffii e Bataviae, o que alerta para a importância da produção de novas vacinas contra a leptospirose e a necessidade de inclusão de novos sorovares, visando à elaboração de vacinas mais efetivas e de imunidade mais duradoura.

O sorovar Sentot foi apontado como o segundo mais freqüente nos animais e terceiro nas propriedades. Herrmann et al. (2004), testaram 1360 amostras de soros ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado do Rio Grande do Sul e encontraram 466 animais reagentes, e pela primeira vez no Brasil relataram a presença do sorovar Sentot em animais domésticos, com o agravante de ser o segundo sorovar mais freqüente (16,8%). Corrêa et al. (1964) relataram dois casos do sorovar Sentot em pacientes humanos no Estado de São Paulo, os primeiros a serem registrados no Brasil, e referiram que este sorovar é descrito como causador de doença clínica em seres humanos. Os achados destes estudos e os resultados do presente trabalho ressaltam a importância do sorovar Sentot, e o possível risco de transmissão entre seres humanos e caprinos.

O uso de amostragem por conveniência em estudos de ocorrência de doenças infecciosas é muito comum e possibilita o levantamento de informações importantes, entretanto, inferências epidemiológicas não devem ser feitas com base nesse procedimento tendo em vista a ocorrência de vieses. O presente estudo é o primeiro, conduzido com base em delineamento amostral adequado, sobre a ocorrência e distribuição de leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido da Paraíba. A determinação da situação epidemiológica dessas infecções é de grande importância para a implementação e condução de medidas de prevenção, pois possibilita a escolha de estratégias adequadas, que podem diferir de acordo com a freqüência e distribuição das doenças. Some-se a isso o fato de que tal conduta contribuirá para a minimização de perdas econômicas decorrentes de tal infecção e bloqueio da transmissão aos seres humanos.

Tabela 2 - Sorovares de *Leptospira spp.* prevalentes em caprinos leiteiros reagentes em relação ao total de animais pela técnica de soroaglutinação microscópica aplicada à leptospirose no semiárido da Paraíba, no período de março a julho de 2009.

Sorovar	Proporção de reagentes	Prevalência (%)	IC 95% (%)
Autumnalis	25/975	2,5%	1,6 – 3,7
Sentot	19/975	1,9%	1,2 – 3,0
Whitcombi	14/975	1,4%	0,8 – 2,4
Patoc	13/975	1,3%	0,7 – 2,3
Andamana	11/975	1,1%	0,6 – 2,0
Butembo	7/975	0,7%	0,3 – 1,5
Pyrogenes	1/975	0,1%	0,0 – 0,6
Bratislava	1/975	0,1%	0,0 – 0,6
Castellonis	1/975	0,1%	0,0 – 0,6

5 CONCLUSÃO

Foi encontrada uma soroprevalência de 10,0% para leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido paraibano, bem como 43,6% das propriedades apresentaram animais soropositivos, indicando que a doença está distribuída em caprinos da região, o que reforça a necessidade de implantação de medidas de controle e prevenção com o intuito de reduzir sua ocorrência e, conseqüentemente, diminuir perdas econômicas ocasionadas e bloquear a possível transmissão da infecção aos seres humanos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, v.1. p.175-185, 2003.

ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; CAMARGO, C. R. A.; MORAIS, Z .M. Influência dos fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 63, n. 2, p. 11-8, 1996.

ARAÚJO NETO, J. O. **Isolamento de *Leptospira* spp. a partir do trato genital de ovelhas abatidas no matadouro público de Patos-PB, Estado da Paraíba, Brasil**. 2005. 58 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2005.

ARDUINO, G. G.C.; GIRIO, R. J. S; MAGAJEVSKI, F.S.; PEREIRA, G.T. Títulos de anticorpos aglutinantes induzidos por vacinas comerciais contra leptospirose bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Vol.29, n.7, p.575-582, 2009.

BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1999. 380p.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Pesquisa da Pecuária Municipal**, 2007. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=20>>. Acesso em: 30 março. 2009.

BROD, C. S.; ALEIXO, J. A. G.; JOUGLARD, S. D. D.; FERNANDES, C. P. H.; TEIXEIRA, J. L. R. S.; DELLAGOSTIN, O. A. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. São Paulo, v. 38, n. 4, 2005.

CARVALHO, R. B. Potencialidades dos Mercados para os produtos derivados de caprinos e ovinos. Disponível em: <<http://www.caprítec.com.br/art040521.htm>>. Acesso em: 22 de maio de 2011.

CASTRO, V. Estudo da soroprevalência de leptospirose bovina em fêmeas em idade reprodutiva do estado de São Paulo, Brasil. 104f. Dissertação (mestrado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

COLE J. R.; SULZER, C. R.; PURSELL, A. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. **Applied Microbiology**, v. 25, n. 6, p. 976-980, 1973.

CORRÊA, M. O. A.; HHHYAKUTAKE, S.; NATALE, V.; TIRIBA, A. C.; GALVÃO, P. A. A. Leptospiroses humanas ainda não assinaladas no Brasil. **Revista instituto de medicina tropical**, v. 6, n. 2, p. 71-74, 1964.

CORRÊA, S. H. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z.; TEIXEIRA, A DE A.; DIAS, R. A.; GUIMARÃES, M. A DE B. V.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, n.3, p.189-193, 2004.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora Médica Científica, 1992. 843p.

CUNHA, E. L. P.; MOTA, R. A.; MEIRELES, L.; SILVA, A. C. C.; SILVA, A. V.; LANGONI, H. Pesquisa de Aglutininas anti-*Leptospira* em soros de caprinos no estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v. 21, p. 38–40, 1999.

DONALD, A. W.; GARDNER, I. A.; WIGGINS, A. D. Cut-off points for aggregate herd testing in the presence of disease clustering and correlation of test errors. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 19, n. 3-4, p. 167-187, 1994

ENRIETTI, M.A. Contribuição ao Conhecimento da Incidência de Leptospiras em Murídeos, Caninos e Suínos no Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, vol.jubilee, p.311-342, 2001.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2 ed. Melbourne: MediSci, 1999.

FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A. Sorovares de leptospiras predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, v32, n.4, p. 613-619, 2002.

FREITAS, J. C.; SILVA, F.; OLIVEIRA, R. C.; DELBEM, A. C. B.; MULLER, E. E.; ALVES, L. A.; TELES, P. S. Isolamento de *Leptospira* spp. de cães, bovinos e suínos naturalmente infectados. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p.853-856, 2004.

GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 81-85, 1965.

GENOVEZ, M. E.; DEL FAVA, C.; CASTRO, V.; GREGORY, L.; FERRARI, C. I. L.; LANÇA NETO, P.; SOUZA, M. R.; GOTTI, T. B.; OLIVEIRA, J. C. F.; PITUCO, E. M. Effect of *Leptospira* spp serovar Hardjo infection on reproduction of two beef Nelore herds with different serological status. In: World Buiatric Congress, 24., 2006, France.

GROOMS, D.L.; BOLIN, C.A. Diagnosis of fetal loss caused by bovine viral diarrhea virus and *Leptospira* spp. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v.21, n.2, p.463-72, 2005.

HAGIWARA, M.K. **Leptospirose canina**. São Paulo: Pfizer Saúde Animal (Boletim Técnico). 2003. 6p.

HARKIN, K. R.; ROSHTO, Y. M.; SULLIVAN, J. T. Clinical application of a polymerase chain reaction assay for diagnosis of leptospirosis in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 9, p. 1224-1229, 2003.

HERRMANN, G.P.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E.C.; HADDAD, J. P. A.; de RESENDE, J. R.; RODRIGUES, R.O.; LEITE, R. C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira spp.* Em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 443-448, 2004.

HIGINO, S. S. **Isolamento de *Leptospira spp.* a partir do trato geniturinário de ovinos abatidos no Matadouro Público de Patos, Estado da Paraíba, Brasil**. 2007. 44 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2007.

JORDAN, D. Aggregate testing for the evaluation of Johne's disease herd status. **Australian Veterinary Journal**, v. 73, n. 1, p. 16-19, 1996.

JULIANO, R.S.; CHAVES, N. S. T.; DOS SANTOS, C. A.; RAMOS, L. S.; DOS SANTOS, H. Q.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; FILHO, R. A. C. C. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microrregião de goiânia – GO. **Ciência Rural**, v.30, n.5, p. 857-862, 2000.

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

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 Reviews**, v.14, p.296–326, 2001.

LILENBAUM, W.; VARGES, R.; BRANDÃO F.Z.; CORTEZ, A.; de SOUZA.S.O.; BRANDÃO.P.E.; RICHTZENHAIN, L. J; VASCONCELLOS, S. A. Detection of leptospirira spp.in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. **Theriogenology**, v. 69, p. 837-842, 2008.

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, n. 1, p. 14-17, 2008.

MACHRY, L.; RIBEIRO, R. L.; VITAL-BRAZIL, J.M.; BALASSIANO, I. T.; OLIVEIRA, I. C. M.; AVELAR, K. E. S.; PEREIRA, M.M. Caracterização de cepas de referência de *Leptospira* sp utilizando a técnica de pulsed field gel electrophoresis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol.43, n.2, p.166-169, 2010.

MAHON, C.R.; MANUSELIS, G., Jr. **Textbook of diagnostic microbiology**. United States of America: W. B. Saunders Company, 1995.

MARINHO, M.; LANGONI, H.; OLIVEIRA, S.L.; CARREIRA, R.; SILVIA, H.V.P.; 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 *Leptospira interrogans* sorovar *icterohaemorrhagiae*, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n. 1, p.5-12, 2003.

MARTIN, S. W.; SHOUKRI, M.; THORBURN, M. A. Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 14, n. 1-2, p. 33-43, 1992.

MEDEIROS, J. X.; SANO, E. E.; RIBEIRO, J. B. L. Cenário mercadológico da ovinocultura. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINO-CULTURA, 4., 2005, Lavras.

NOGUEIRA FILHO, A. Ações de fomento do banco do Nordeste e potencialidades da caprino-ovinocultura. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003. João Pessoa. Anais. João Pessoa: EMEPA, 2003. p. 43-55.

NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFD, C. M.; GRAAF, E. A. M. **Application of quantitative methods in veterinary epidemiology**. Wageningen: Wageningen Pers, 1997. 445p.

OLIVEIRA F.C.S., AZEVEDO S.S., PINHEIRO S.R., BATISTA C.S.A., MORAES Z.M, SOUZA G.O., GONÇALES A.P. & VASCONCELLOS. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.5, p.398-402, 2010.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto alegre: Artmed, 2005.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MÉNDEZ, M.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2001. 426p.

RODRIGUES, A. M. A. Leptospirose canina: diagnóstico etiológico, sorológico e molecular e avaliação da proteção cruzada entre os sorovares *icterohaemorrhagiae* e *copenhagen*. 2008. 116f. Dissertação (mestrado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. **Revista de Microbiologia**, v.1, p.97-109, 1970.

SCHIMIDT, V.; AROSI, A; SANTOS, A. R. Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciencia Rural*, vol.32, n.4, p. 609-612, 2002.

SILVA M. L. C. R.; PEREIRA A.R da C.; NETO.J.O. de A. Inquérito soro-epidemiológico para a leptospirose caprina nas microrregiões do cariri ocidental e cariri oriental do estado da Paraíba, Brasil. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 4., 2006. Petrolina.

SOTO, F.R.M.; VASCONCELLOS, S.A.; PINHEIRO, S.R.; BERNARSI, F.; CAMARGO, S.R. Leptospirose Suína. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 74, n. 4, p. 379-395, 2007.

SOUZA NETO, J.; SOUSA, F. B.; CARVALHO, R. B. Produção de caprinos: modelagem e avaliação da produtividade. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 35., 1997. SOBER, Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural. BRASIL. p. 641- 652, 1997.

TRABULSI, L. R. et al. *Microbiologia*. Atheneu, 5ª ed, São Paulo, 2008.

THRUSFIELD, M.; ALTERTHUM, F. **Veterinary epidemiology**. 2 ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995.

VASCONCELLOS, S. A. ; OHTSUBO, I. ; YASUDA, P. H. ; MORETTI, A. S. A. ; ITO, F. H. ; PASSOS, E. C.; CÔRTEZ, J. A. Efeito da concentração do soro sobre a sensibilidade e a especificidade da reação de soroglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose suína, tendo como antígeno a *L. biflexa* estirpe Buenos Aires. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 27, n. 1, p. 33-39, 1990.

VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose animal. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 3., Rio de Janeiro, 1993. **Anais**. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde/Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Nacional de Saúde, 1993. p. 62-65.

VIEIRA, M.L. Análise da expressão de proteínas de *leptospira interrogans* virulentas e avirulentas. Dissertação (mestrado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

WOHL, J.S. Canine leptospirosis. **Compendium of Continuing Education Practicing Veterinarian**, v.18, n.11, p.1215-1224, 1996.