

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

MONOGRAFIA

**Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos
deslanados do semi-árido da Paraíba**

Jefferson Filgueira Alcindo



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

MONOGRAFIA

Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba

Jefferson Filgueira Alcindo
Graduando

Dr. Clebert José Alves
Orientador

Patos - PB
Agosto de 2010

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

**JEFFERSON FILGUEIRA ALCINDO
Graduando**

Monografia submetida à Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para obtenção do grau de Medico Veterinário.

APROVADA EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Clebert José Alves
Orientador

Nota _____

Prof. Dr. Sérgio Azevedo dos Santos
Examinador I

Nota _____

Prof. Dr. Albério Gomes de Barros Gomes
Examinador II

Nota _____

DEDICATÓRIA

A DEUS, por me conceder mais essa graça.

Aos meus pais, Geraldo e Maria, por não cessarem esforços para que eu alcançasse essa vitória.

Aos meus avós maternos, Josefa Filgueira (“*in memória*”) e Francisco Alves (“*in memória*”), que sempre me acolheram e me incentivaram ao longo desse curso.

A minha tia, Maria (mary), que sempre depositou total confiança em tudo que faço.

A minhas irmãs, Geiza Fernanda e Germana, por acreditarem que eu conseguiria.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, ao meu pai Geraldo, a minha mãe Maria, a minhas irmãs, Germana e Geiza Fernanda, aos meus avós (Josefa Filgueira de Jesus, “*in memória*” e Francisco Alves da Silva (“Chicô”), “*in memória*”; José Alcindo de Andrade (“zuca”), “*in memória*”, e Maria do socorro Alcindo.

A minha tia, Maria (Mary), que me acolheu em sua casa desde a minha infância e sempre me considerou como um filho. A tia Lúcia, que sempre acreditou em mim e não hesitou em me ajudar quando eu precisei. A tia Fátima e tio Manoel, que sempre confiaram no meu potencial.

A minha prima, Rayssa, a quem eu tenho muito afeto e admiração, e que sempre me escutou e me aconselhou quando precisei. Aos meus primos, João Vitor e Matheus, que me acompanharam nos momentos de curtição. A minha prima Rivianny, a quem tenho muito apreço.

Ao Prof. Dr. Clebert José Alves, meu orientador, por acreditar e me estimular sempre em meus esforços para a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Sérgio Azevedo dos Santos, meu co-orientador, que na ausência do meu orientador não mediu esforços para me ajudar a realizar este trabalho. Ao professor Albério, que me orientou pela primeira vez na monitoria.

A Prof.^a Verônica, coordenadora de nosso curso, que sempre esteve presente e tentou com muita garra defender o interesse da universidade e da classe estudantil.

A professora Sara e professores Pedro Isidro, Gil, Norma e Sônia Lima, por me fazerem acreditar que eu não estava no local errado, e me ensinarem que podemos vencer, mesmo com todas as adversidades.

Ao professor, Leydson Feitosa, por todo o apoio prestado em Araçatuba e na UNESP, e por servir de inspiração e me fazer acreditar que o meu sonho é possível.

Aos ex-residentes da clínica de grandes animais, João e Adriana, por me incentivarem e me fazerem confirmar o meu desejo profissional.

A dona Francinete, técnica do Laboratório de Doenças Transmissíveis UFCG/CSTR, pela paciência e apoio e a todos os funcionários da UFCG que me estiveram dando sua contribuição durante a minha graduação;

Aos funcionários, Tereza e Damião, que apesar de possuírem características diferentes, foram muito úteis ao longo desse curso, desempenhando total dedicação em seu ofício.

A Silvano, Luana, Carla, Arthur, Fabrine e Talita, que me ajudaram no desenvolvimento do projeto, e foram indispensáveis na construção desse trabalho.

A meninada do Casarão da Veterinária, Carlos Magno (Azevedo), Diego Figueiredo (Diego Bomba), Diego Barreto (pardal), Paulo Vinícius, Pedro Barbosa (Benza), Ronald Mc Donald (Pooh), Rodrigo Vieira (“Cacha” D’água), Allyson (bolinha), Aldenir e Francisberto (Fran fran). Ao meu amigo Ícaro (mudo), que sempre esteve presente ao longo desse curso, principalmente nos momentos de alegria da república.

A “Bibiu”, que nos suportou por todo esse tempo, e que além dos afazeres domésticos, cuidou de todos da república com presteza e dedicação.

Aos meus amigos de turma, Daniel (Vareta), Filipe lima (Gordo), Lisanka Ângelo, Hyago Ramalho (Abú), Jorge Fábio (Antônio Jorge), Vitor Hugo (Vei da Bereta), Jamilton (Jamilson), Diogo (.com), Vinícius e a todos os outros que de uma forma ou de outra compartilharam momentos que vão ficar pra sempre guardados em nossas vidas.

Ao ilustríssimo Flaubert, que apesar das críticas, sempre agiu com lealdade e procurou ajudar de qualquer forma a quem lhe solicitou.

A meu amigo Adriano, que esteve presente em diversos momentos, por ser quase parte integrante da família. A meus amigos de infância, Jefferson, Hilário, Bruno, Iury que apesar do tempo e da distância nunca deixaram a amizade acabar. A meu amigo Tibério, meu irmão, que dividiu na minha passagem em João Pessoa, momentos de muita alegria, que só fizeram firmar a amizade que a gente fez.

Aos estagiários e residentes da UNESP (Araçatuba), Anamara, Carlinha, Carol, Gustavo, Laurinha, Maurício, Guilherme, Mírian, Otávio e Sérgio que me receberam e me fizeram se adaptar muito bem à cidade e ao meu estágio.

Aos meus amigos Diego Barreto e Paulo, que me ajudaram a fazer a última revisão no meu trabalho monográfico.

Ao professor Onireves, por dispor de seu tempo e revisar a minha monografia, no aspecto gramatical e estrutural.

SUMÁRIO

RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Conceito	13
2.2 Agente etiológico	13
2.3 Aspectos epidemiológicos	14
2.4 Patogenia.....	15
2.5 Sinais Clínicos	16
2.6 Lesões	17
2.7 Diagnóstico	18
2.7.1 Diagnóstico clínico	18
2.7.2 Diagnóstico sorológico	19
2.7.3 Inoculação em animais de laboratório	19
2.7.4 Reação de polimerase em cadeia(PCR).....	19
2.8 Tratamento	20
2.9 Controle e profilaxia	20
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Descrição e caracterização da área de estudo	21
3.2 Animais.....	21
3.3 Delineamento amostral	22
3.4 Atividades de campo.....	22
3.5 Testes sorológicos.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5. CONCLUSÃO	31
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE QUADROS E TABELAS

- Quadro 1** – Sorovares de *Leptospiras* empregados como antígenos na técnica de SAM (soroaglutinação microscópica) aplicados a Leptospirose em ovinos no semi-árido paraibano no período de Julho de 2009 a julho de 2010. Patos, 2010..... 25
- Tabela 1** – Relação dos Municípios, quantidade de propriedades focos e a frequência de amostras de soro de ovinos reagentes pela técnica de soro aglutinação microscópica aplicada à leptospirose, no semi-árido da Paraíba, Brasil, no período de julho de 2009 a julho de 2010. Patos, 2010..... 27
- Tabela 2** – Relação dos sorovares de *leptospira* spp mais prevalentes e respectivos títulos em função do número de ovinos reagentes ao teste da soroaglutinação microscópica em 19 municípios do semi-árido paraibano. Patos, 2010..... 29
- Tabela 3** – Relação dos Municípios com a presença de ovinos reagentes a um ou mais sorovares de *Leptospira* spp., detectados pela SAM. Patos, 2010 30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Colheita de sangue pela punção da veia jugular	23
Figura 2 – Amostra negativa na soroaglutinação microscópica (SAM)	24
Figura 3 – Amostra positiva na soroaglutinação microscópica(SAM)	24

RESUMO

ALCINDO, JEFFERSON FILGUEIRA. Caracterização da leptospirose em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba. UFCG. 2010. 35p. (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

A leptospirose é uma enfermidade amplamente difundida no Brasil que acarreta elevados prejuízos econômicos para a pecuária nacional. O seu principal impacto é o comprometimento do desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos. O presente trabalho teve como objetivos determinar a prevalência de propriedades positivas (focos) para a leptospirose ovina no semi-árido da Paraíba, além de determinar a prevalência de ovinos deslanados soropositivos. Foram pesquisadas aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos da mesorregião do sertão paraibano do estado da Paraíba, Brasil. De julho de 2009 a julho de 2010, foram examinados 1275 soros de ovinos provenientes de 117 rebanhos situados em 19 municípios, pela prova de soroprecipitação microscópica, utilizando-se 24 sorovares de *Leptospira* spp. como antígenos. Das 1275 amostras testadas, 69 (5,41%) animais foram reagentes com títulos variando de 100 a 3200, e das 117 propriedades, 33 (28,20%) tiveram animais reagentes. A caracterização dos sorovares mais prováveis levou em conta a titulação e a frequência. A distribuição dos sorovares mais prováveis foi: autumnalis (49,30%), andamana (27,53%), sentot (17,39%), australis (1,44%) e whitcombi (4,34%).

Palavras-chave: prevalência, *Leptospira*, sorologia, ovinos

ABSTRACT

ALCINDO, JEFFERSON FILGUEIRA. Epidemiological characterization of leptospirosis in sheep of the semi-arid of Paraíba. UFCG. 2010. 35p. (Monograph-Veterinary Medicine, Preventive Veterinary Medicine and Animal Health).

Leptospirosis is a highly prevalent disease in Brazil leading to high economic losses for domestic livestock. Its main impact is the impairment of reproductive performance of herds affected. This work had as objective to determine the prevalence of positive properties (foci) to ovine leptospirosis in semiarid of Paraíba, beyond determine the prevalence of seropositive sheep. Were researched anti-*Leptospira* agglutinins in sheep from the mesoregion of semiarid of Paraíba State, Brazil. From July 2009 to July 2010 were examined 1275 sera of sheep from 117 flocks located in 19 cities by the microscopic agglutination test, using 24 *Leptospira* spp. serovars as antigens. From 1275 samples tested, 69 (5.41%) were positive with titers ranging from 100 to 3200 and 117 properties, 33 (28.20%) had reactive animals. The characterization of serovars most likely took into consideration the titration and frequency. The most likely distribution of serovars was: autumnalis (49.27%), andamas (27.53%), sentot (17.39%), australis (1.44%) and whitcomb (4.34%).

Keywords: ovine leptospirosis, *Leptospira*, serology, ovine

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande extensão territorial, oferece ótimas condições para a criação de caprinos e ovinos e está colocado entre os dez países possuidores dos maiores rebanhos no mundo. Conta com os rebanhos ovino e caprino que somados representam 25 milhões de cabeças, equivalente a 2,8 % do efetivo mundial, que é de aproximadamente 900 milhões de animais. O rebanho ovino brasileiro é de 16,2 milhões de cabeças, das quais 7,7 milhões estão na região Nordeste, e destes 4% se concentram na Paraíba.

Evoluindo de criações voltadas para a subsistência, nos últimos dez anos ocorreram mudanças significativas para a consolidação da cadeia produtiva da ovinocaprinocultura no Brasil.

Entretanto, apesar do impulso mercadológico, a produtividade da ovinocaprinocultura de corte no Brasil ainda é baixa. A mortalidade perinatal de cordeiros é um dos fatores que limitam a eficiência biológica e econômica dos sistemas de produção ovina em todo o mundo, sendo suas causas inúmeras e variáveis de rebanho para rebanho.

Desta forma, este mercado vem exigindo maior preocupação sanitária através de medidas de biossegurança com exames diagnósticos rápidos e confiáveis. Neste contexto, o estudo da leptospirose entre estes animais é relevante, devido à ocorrência de problemas da esfera reprodutiva, diminuição da produção de leite e a possibilidade de disseminação entre o rebanho e o risco de transmissão para os seres humanos.

O referido trabalho teve como objetivos determinar a prevalência de propriedades positivas (focos) e de ovinos sororeativos no semi-árido da Paraíba.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Conceito

A leptospirose pode ser tida como uma doença infecto-contagiosa, de curso agudo ou crônico, que acomete o homem, animais domésticos e silvestres, assumindo considerável importância econômica e de saúde pública (FAINE et al., 1999).

É uma antropozoonose causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* spp. que apresenta ampla distribuição geográfica e de ocorrência em áreas urbanas e rurais (BRASIL, 1995). Barthelemy et al (2003) ainda define a leptospirose como uma doença de caráter epidêmico em determinadas regiões, com maior ocorrência em países tropicais e em desenvolvimento, acarretando com isso sérios problemas econômicos.

2.2 Agente Etiológico

O agente etiológico da leptospirose pertence à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira*. 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 (QUINN et al., 1994; FAINE et al., 1999; ACHA; SZYFRES, 2003).

As leptospirosas são bactérias espiraladas, muito finas, apresentando 0,1 µm (micrômetros) de diâmetro e comprimento variando de 6 a 20 µm, tendo uma ou as duas extremidades em forma de gancho. São aeróbicas estritas, de multiplicação e crescimento lentos, com divisão celular em torno de sete a doze horas. Uma cultura em meio líquido leva cinco a sete dias para atingir crescimento ideal para ser utilizada como antígeno (BEER, 1999; FAINE, et al., 1999). São bastante sensíveis à luz solar direta, aos

desinfetantes comuns a aos anti-sépticos. O período de sobrevivência das leptospirosas patogênicas na água varia com a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição. Sua multiplicação é ótima em pH compreendido entre 7,2 a 7,4. Já foi constatada, por meio de ensaios experimentais, a persistência de leptospirosas viáveis em água por até 180 dias (LANGONI, 1999). No meio ambiente sobrevivem bem em terrenos úmidos, pântanos, córregos, lagos e estúbulos com excesso de umidade e de detritos. São muito sensíveis ao pH ácido e à dissecação (FAINE et al., 1999).

2.3 Aspectos epidemiológicos

Zoonose mundialmente distribuída, a leptospirose é particularmente prevalente nas Américas e considerada endêmica na América Latina e no Caribe. 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).

A leptospirose acomete, praticamente, todos os animais domésticos, silvestres e o homem, provocando ou não a manifestação de sinais. Animais de muitas espécies domésticas, bem como a maioria das espécies silvestres, podem se tornarem portadores de leptospirosas e contribuir para a disseminação do microorganismo na natureza.

Hospedeiros adaptados ou de manutenção são altamente susceptíveis, cujo ciclo de infecção é perpetuado dentro da mesma espécie, usualmente por transmissão direta. Os sorovares 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 homem se comporta na maioria das vezes como hospedeiro acidental, pois raramente se constitui em transmissor da infecção (FAINE et al., 1999).

Teoricamente, qualquer sorovar de *Leptospira* spp. pode infectar qualquer espécie animal, mas na prática um número limitado de sorovares é endêmico em uma região ou país em particular. Neste caso, a infecção será determinada pelas espécies animais de contato, pelo(s) sorovar(es) existente(s) naquela propriedade ou região, pelas condições

ambientais e climáticas, e ainda dependerá do manejo e das oportunidades de infecção direta ou indireta (GENOVEZ et al., 2006).

A eliminação da leptospira pela urina dos animais portadores ocorre em intervalos de tempo diferentes, isto é, podendo variar de poucas semanas a vários meses, entre os animais domésticos, e por toda vida no caso dos roedores (LILENBAUM et al., 2007; GIRIO et al., 2004; HERRMANN, 2004; FAVERO et al, 2002).

No Brasil, a enfermidade é amplamente difundida, o que acarreta elevados prejuízos econômicos para a pecuária nacional. O seu principal impacto é o comprometimento do desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos (VASCONCELLOS, 1993; VASCONCELLOS, 1987).

Teoricamente os ovinos, como qualquer outra espécie, podem ser infectados por quaisquer sorovar de leptospira, dependendo da situação epidemiológica do rebanho (ZAMORA et al., 1999; LÉON-VIZCAINO et al., 1987). Entretanto, a leptospirose clinicamente aparente em ovinos está associada a alguns sorovares como Pomona, Gippetiphosa, Icterohaemorrhagiae, Serjoe e Hardjo (ZAMORA et al., 1999; LÉON-VIZCAINO et al., 1987; ANDREANI et al., 1974; ELLIS et al., 1983; CACCHIONE et al., 1963).

Cacchione (1963) e Cicceroni (2000) relatam que os ovinos são os animais domésticos considerados menos susceptíveis, porém sofrem a infecção das leptospiras patogênicas e, em muitos casos, a evolução é assintomática, podendo, às vezes, ocorrerem surtos da doença com aborto e morte de cordeiros (CICCERONI et al., 2000).

2.4 Patogenia

Após a penetração nas mucosas externas ou pele escarificada, as leptospiras disseminam-se pela corrente sanguínea e inicia-se, assim, o seu processo de multiplicação no sangue e em diversos órgãos, como fígado, baço e rins. Esta fase é chamada de leptospiremia, que tem uma duração de quatro a cinco dias, raramente superando sete dias (VASCONCELLOS, 1987; FAINE, te al., 1999).

Com o progredir da infecção, ocorre o processo de reação imunitária do

hospedeiro, que antagoniza o agente invasor e faz com que o mesmo encontre refúgio em algumas áreas do organismo onde a imunidade humoral inexistente ou é verificada em níveis baixos. Tais locais são a câmara do globo ocular e a luz dos túbulos renais. A localização renal caracteriza a fase de leptospirúria, que tem início entre o sétimo e o décimo dia da evolução da doença. Nesta fase, ocorre a formação de complexos imunes e reação inflamatória, o que leva vários órgãos a uma vasculite generalizada, principalmente no fígado, rins, coração, pulmões e sistema reprodutivo (VASCONCELLOS, 1987; FAINE, et al., 1999).

Greene e Shotts (1990), assim como Zamora (1999) asseveram que a colonização renal ocorre na maioria dos animais infectados em virtude da replicação e persistência do agente nas células epiteliais dos túbulos renais, onde os anticorpos ocorrem em baixos níveis. O comprometimento agudo da função renal pode resultar na diminuição da filtração glomerular causada pelo edema intersticial e diminuição da perfusão renal.

2.5 Sinais Clínicos

A forma superaguda caracteriza-se por leptospiremia massiva e morte. A febre (39,5 a 40° C), tremores e sensibilidade muscular são os primeiros sinais clínicos. Subsequentemente, ocorrem vômitos e desidratação rápida, resultante da parada de ingestão de água, perdas de fluidos aumentadas por lesões dos túbulos renais, aumento da permeabilidade vascular e colapso vascular periférico. Na fase terminal, os animais tornam-se hipotérmicos e depressivos (GREENE; SHOTTS, 1990). Ciceroni (2000) atesta que na espécie ovina, embora menos comum, a forma aguda da doença pode ocorrer, caracterizando-se por quadros clínicos de septicemia, hemorragia, nefrite, seguida por icterícia, hemoglobinúria, mastite sanguinolenta, repetição de cio, abortamento nas ovelhas e anemia hemolítica nos cordeiros com morte na primeira semana de vida.

Nos ovinos a forma inaparente é mais comum. Nesse caso os animais estão infectados, mas não apresentam qualquer sinal da doença, dificultando, com isso, o diagnóstico clínico e epidemiológico (RAFYI et al., 1967).

2.6 Lesões

Na visão de Enrietti (2001) as lesões macroscópicas nos animais e no homem 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 espalhada pelo corpo com as inúmeras petéquias existentes.

As lesões hemorrágicas são preponderantes nos pulmões, onde se apresentam sob a forma de equimoses, sendo observadas, também, na vesícula biliar, cérebro, músculos e às vezes, em quase todos os órgãos do animal.

O fígado, muitas vezes, mantém-se em volume normal, porém, em outras ocasiões, encontra-se aumentado e o seu parênquima está corado de amarelo pela bilirrubina. Muitas vezes, a vesícula biliar é encontrada bastante distendida, acumulando bile de cor clara ou mesmo sanguinolenta (RIET-CORREA et al., 2001; ENRIETTI, 2001).

O miocárdio aparentemente normal apresenta focos petequiais e hiperemia dos capilares. As petéquias encontradas situam-se no tecido intersticial do miocárdio, principalmente, do lado endocárdico. Torna-se claro o estado de edema em que se encontram as fibras musculares onde ficam presentes elementos provenientes do sangue (ENRIETTI, 2001).

Nos pulmões, as hemorragias são focais e sempre em torno dos vasos que atravessam o parênquima. O órgão apresenta áreas atelectásicas e sofre hepatização, pois é grande a quantidade de elementos do sangue que são encontrados nos alvéolos. As paredes dão origem a mobilização dos elementos, que pouco a pouco, invadem o parênquima pulmonar e se transformam em grandes macrófagos que contem hemácias e pigmentos fagocitados (ENRIETTI, 2001; RIET-CORREA, et al., 2001).

Erietti (2001) mais especificamente observa que o aparelho digestivo também pode apresentar 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 dos elementos, pouco evidente com o aumento das placas de Peyer, conseqüente à reação histio-linfocitária que se processa. Microscopicamente, as lesões obedecem às mesmas causas que as lesões macroscópicas.

Riet-Correa (2001), afirma que, nos rins dos animais, degeneração hialina e tumefação 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. Ao lado do processo degenerativo, observa-se lesões hemorrágicas que se localizam nos próprios túbulos, como também, na próprias alças glomerulares. No timo observam-se numerosas áreas focais hemorrágicas.

2.7 Diagnóstico

Faine (1999) correlaciona procedimentos para o diagnóstico da leptospirose. Para o autor, devem ser considerados os achados clínicos, sorologia e na detecção e isolamento do agente. Também pode ser empregada a inoculação em animais de laboratório e recentemente, com o advento da biologia molecular, o DNA de *Leptospira* spp pode ser detectado a partir de vários materiais.

2.7.1 Diagnóstico Clínico

Taxas elevadas de abortos e repetições de cios podem ser sugestivas da infecção por leptospirose em rebanhos ovinos. Todavia, quadros clínicos de septicemia, hemorragias, nefrite, seguido de icterícia, hemoglobinúria, mastite sanguinolenta também são sinais indicativos da doença (CICCERONI et al., 2000).

Entretanto, Faine (1999) atenta para o fato de que o diagnóstico clínico por sinais e

sintomas, como é empírico, depende do sorovar infectante, havendo necessidade da sua confirmação laboratorial.

2.7.2 Diagnóstico Sorológico

A reação de soroaglutinação microscópica (SAM) é o teste recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para o diagnóstico da leptospirose. Na prática, por ser difícil a obtenção de amostras pareadas de soro, a sintomatologia e o título de 800 para o sorovar suspeito são altamente sugestivos de leptospirose (GALTON et al., 1965; SANTA ROSA, 1970). Nos Estados Unidos e no Canadá, a maior parte dos laboratórios das universidades inclui apenas os sorovares bratislava, canicola, icterohaemorrhagiae, pomona, hardjo e gipotyphosa na bateria de antígenos da reação de soroaglutinação microscópica (GALTON et al., 1965; SANTA ROSA, 1970).

2.7.3 Inoculação em animais de laboratório

Leptospiras virulentas causam infecção em animais de laboratório, que podem ser usados para o isolamento primário a partir de materiais clínicos. O hamster (*Mesocricetus auratus*) é a espécie mais sensível à ação das leptospiras, morrendo em aproximadamente quatro dias após a inoculação (ENRIETTI, 2001). A forma mais eficiente para o estabelecimento e evolução de infecções pelos variados sorovares de leptospiras nestes animais é a inoculação por via intraperitoneal (ANDREANI, 1968).

2.7.4 Reação de polimerase em cadeia (PCR)

A detecção do DNA de *Leptospiras* spp. pela PCR tem sido de grande utilidade e requer a seleção de *primers* específicos que permitam a amplificação de todas as espécies classificadas como patogênicas ou potencialmente patogênicas, incluindo *L. inadai* e *L. fainei*. As principais vantagens da PCR são: rapidez na obtenção dos resultados,

sensibilidade e especificidade elevada, entretanto, a necessidade de equipamentos especiais, o alto custo dos reagentes são fatores que limitam o seu uso (BATISTA, 2004).

2.8 Tratamento

Em termos de recomendação para o tratamento da leptospira duas drogas são consideradas eficientes: a diidroestreptomicina e a doxiciclina.

A diidroestreptomicina, na dose de 25 mg/kg, aplicada duas vezes com intervalo de sete dias entre aplicações, é a droga de eleição para a eliminação do agente dos rins e supressão do estado de portador (GREENE; SHOTTS, 1990). Doxiciclina, na dose de 2,5 a 5 mg/kg, uma vez ao dia, durante duas semanas, também é indicada para a eliminação das leptospiros dos rins (WOHL, 1996).

2.9 Controle e Profilaxia

A prevenção da leptospirose deve se basear em ações que atuem diretamente sobre o animal, como a imunoprofilaxia, através da utilização de vacinas e controle dos reservatórios da doença (FAINE et al., 1999; HAGIWARA, 2003).

Evidentemente, uma medida de controle importante consiste em evitar a introdução de animais portadores da bactéria no rebanho, entretanto, em função de algumas características epidemiológicas da doença em ovinos essa tarefa torna-se bastante difícil. As medidas gerais, como limpeza do ambiente, são medidas importantes para reduzir as chances de contaminação dos animais (HAGIWARA, 2003).

A vacinação contra a leptospirose é a principal arma para se prevenir a infecção nos animais. As vacinas contendo o microorganismo morto ou inativado são as mais usadas no controle da leptospirose (LANGONI, 1999).

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

não havendo imunidade cruzada. Portanto, quando um ou mais sorovares infectam os animais, é necessária a utilização de vacinas polivalentes (FAINE et al., 1999). O uso sistemático de bacterinas específicas contra as sorovariedades mais prevalentes na região e na espécie testada tem se revelado, na prática, como uma medida eficiente no controle de focos.

No Brasil, existem vacinas disponíveis no mercado, porém são poucos os estudos com vacina anti-*Leptospira* sp em ovinos, sendo a maioria em bovinos, suínos e caninos. O controle da doença em ovinos com o uso de bacterinas comerciais é comum no país, porém geralmente são utilizadas bacterinas disponíveis no mercado para a utilização em bovinos, sem haver, contudo, uma avaliação da eficiência destas para ovinos (HERRMANN, 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Descrição e caracterização da área de estudo

O Estado da Paraíba é dividido geograficamente em quatro mesorregiões (semi-árido paraibano, Borborema, Agreste paraibano e Zona da Mata paraibana) e 23 microrregiões. A mesorregião do sertão paraibano tem como principal atividade a pecuária extensiva, assumindo destaque a criação de ovinos com 7.087 propriedades criadoras e um efetivo total de 159.149 cabeças (SANTOS 2009).

3.2 Animais

Foram utilizados 1.275 ovinos deslanados adultos provenientes de 117 propriedades localizadas na mesorregião do sertão, Estado da Paraíba.

3.3 Delineamento amostral

A amostragem foi delineada para a determinação da prevalência de propriedades positivas e de animais soropositivos. O número de propriedades a serem amostradas foi calculado com o programa EpiInfo, versão 6.04 (DEAN, 1994), com o emprego dos seguintes parâmetros: prevalência esperada de 50% (valor adotado para maximizar a amostra), nível de confiança de 95%; e erro absoluto de 10% (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

d = erro absoluto

Para a mesorregião do Sertão que apresentou 7.087 propriedades criadoras de ovinos, a amostragem foi de 96 propriedades. Por motivo de segurança, foram visitadas 117 propriedades.

3.4 Atividades de campo

As atividades de campo realizadas nesse período incluíram colheita de sangue, com posterior 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 de ovinos deslanados adultos, em volumes de 8 mL, pela punção da veia jugular com agulha descartável e tubo com vácuo (sem anticoagulante) com capacidade de 8,5 mL(Figura 1).

Após o dessoramento, 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.



Figura 1. Colheita de sangue pela punção da veia jugular

3.5 Testes sorológicos

Para o diagnóstico da infecção por *Leptospira* spp, foi utilizado o teste de soroaglutinação microscópica (SAM), prova de referência pela Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Foram utilizados como antígenos 24 sorovares patogênicos (FAINE et al., 1999) mantidos em culturas em meio líquido de EMJH modificado (ALVES et al., 1996) suplementado com 15% de soro estéril de coelho e inativado a 56°C por 30 minutos, enriquecido com 1% de piruvato de sódio, 1% de cloreto de cálcio, 1% de cloreto de magnésio e 3% de L-asparagina e incubadas durante sete a dez dias em estufa bacteriológica a 28°C. Cada cultura era examinada quanto à

pureza e ausência de autoaglutinação em microscopia de campo escuro em aumento 100X. A densidade antigênica foi acertada para conter aproximadamente de 100 a 200 microrganismos por campo microscópico (100X). (GALTON et al., 1965; SANTA ROSA, 1970).

Cada amostra de soro era diluída a 1:50, em solução salina tamponada de Sorënsen (pH 7,4); 50 μ L do soro diluído eram colocados em micro placa de poliestireno de fundo chato com 96 poços, e acrescentados de 50 μ L do antígeno, obtendo-se diluição inicial 1:100. A amostra sorológica era então colocada frente à bateria antigênica com 24 sorovares. As micro placas eram incubadas em estufa bacteriológica a 28 °C por três horas.

Amostras que apresentaram menos de 50% de aglutinação no campo de visualização eram consideradas negativas (Figura 2), e os soros reagentes na triagem eram novamente testados para a determinação do título final de aglutininas antileptospiras, efetuando-se diluições seriadas em escala geométrica de razão dois em solução salina tamponada de Sorënsen (pH 7,4) e acrescentados de 50 μ L do antígeno detectado como positivo na triagem, seguindo-se o procedimento anterior. As leituras foram realizadas em microscópico óptico com condensador de campo escuro seco, com lente objetiva 10x/0,20 e ocular 10 (100X), observando-se a formação de aglutinações.

Os soros na diluição de 1:100 que revelarem 50% ou mais leptospiras aglutinadas (Figura 3) na triagem foram titulados frente aos respectivos antígenos. O título final foi resultado da recíproca da maior diluição (≥ 100) que apresentou pelo menos 50% de leptospiras aglutinadas (FAINE et al. 1999).

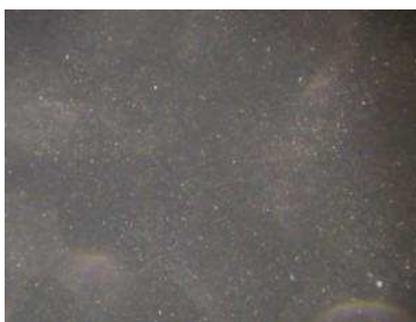


Figura 2. Amostra negativa na SAM.



Figura 3. Amostra positiva na SAM.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 19 municípios situados na mesorregião do semi-árido paraibano, onde foram realizadas as coletas em 33 propriedades (28,20%) das 117 estudadas houve, ao menos, uma amostra de soro reagente para um dos 24 sorovares de *Leptospira* spp usadas na bateria de antígenos (Quadro1), e 69 animais (5,41%) de 1275 pesquisados foram sororeativos para os antígenos testados (Tabela 1).

Os resultados obtidos foram inferiores, quanto ao número de reatores, aos encontrados por Herrmann (2004), que em estudo experimental na mesoregião do Sudeste e Sudoeste do Rio Grande do Sul, detectou, em 136 propriedades pesquisadas, um total de 113 (83,09%) positivas, com pelo menos uma amostra de soro reagente para uma das 17 sorovariedades de *Leptospira* spp utilizadas na bateria de antígeno. Essa disparidade entre os resultados encontrados provavelmente seja justificada pelo fato do estado do Rio Grande do Sul apresentar altos índices pluviométricos, diferentes sistemas de criação e maior quantidade de áreas irrigadas, facilitando a disseminação da *Leptospira* spp, conferindo dessa forma um maior número de reatores.

Já Azevedo et al. (2004), em pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira*, em ovinos do Estado do Rio Grande do Norte, obteve resultados inferiores, com 4 (3,5%) animais soropositivos de 115 pesquisados.

Quadro 1 – Sorovares de Leptospiras empregados como antígenos na técnica de Soroaglutinação microscópica (SAM) aplicados a Leptospirose em ovinos no semi-árido paraibano no período de Julho de 2009 a julho de 2010, Patos – PB.

Sorogrupo	Sorovar	Símbolo
Australis	Australis	1-A
Australis	Bratislava	1-B
Autummalis	Autummalis	2-A
Autummalis	Butembo	2-B

Ballum	Castellonis	3
Bataviae	Bataviae	4-A
Canicola	Canicola	5
Calledoni	Whitcombi	6
Cynopteri	Cynopteri	7
Grippotyphosa	Grippotyphosa	8
Hebdomalois	Hebdomalois	9
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	10-A
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	10-B
Javanica	Javanica	11
Panamá	Panamá	12
Pomona	Pomona	13-A
Pyrogenes	Pyrogenes	14
Serjoe	Hardjo	15-A
Sejroe	Wolffi	15-B
Shaermani	Shermani	16
Tarassovi	Tarassovi	17
Andamana	Andamana	18
Seramanga	Patoc	20
Djasiman	Sentot	ST

Tabela 1 - Relação dos municípios, quantidade de propriedades focos e a frequência de amostras de soro de ovinos reagentes pela técnica de soro aglutinação microscópica aplicada à leptospirose, no semi-árido da Paraíba, Brasil, no período de julho de 2009 a julho de 2010. Patos, 2010

Municípios das Coletas	Nº de propriedades reagentes (%)	Nº de animais reagentes (%)
Boa Ventura	0/1	0/11
Bom Jesus	0/1	0/11
Cachoeira dos Índios	1/5(0,85)	1/49(0,07)
Cacimba de Areia	0/1	0/7
Cajazeiras	6/13(5,12)	15/131(1,17)
Cajazeirinhas	0/1	0/10
Condado	0/1	0/9
Curral Velho	1/2(0,85)	1/90(0,07)
Diamante	0/12	0/140
Patos	2/9(1,70)	6/85(0,47)
Paulista	5/9(4,27)	15/117(1,17)
Pombal	2/8(1,70)	2/117(0,15)
Quixaba	2/4(1,70)	6/43(0,47)
Santa Terezinha	2/9(1,70)	2/98(0,15)
São João do Rio do Peixe	5/13(4,27)	9/136(0,70)
São José de Espinharas	1/2(0,85)	1/20(0,07)

São José de Piranhas	1/2(0,85)	2/22(0,15)
São José do Bonfim	2/9(1,70)	4/102(0,31)
Sousa	3/8(2,56)	5/77(0,39)
Total	33/117(28,20)	69/1275(5,41)

A distribuição dos soros que reagiram em diluição 100 ou mais, apresentou-se da seguinte forma: 24 animais reagentes em título 100; 27 animais reagentes em título 200; 10 animais em título 400; 3 animais reagentes em título 800; 4 animais reagentes em título 1600; 1 animal reagente em título 3200 (Tabela 2), sendo que estes reagiram para cinco sorovares: Andamana (19), Australis (1), Autumnalis (34), Sentot (12), Whitcombi (3), revelando a maior prevalência para o sorovar Autumnalis (49,27%), entretanto, não se conhece a sua real dinâmica no ambiente, admitindo-se a hipótese de que esse sorovar possa ser encontrado em animais da fauna silvestre na condição de portadores (ALVES et al., 1996).

Em trabalhos semelhantes no Brasil, o sorovar Autumnalis foi encontrado no Estado da Bahia (VIEGAS et al., 1980; CALDAS et al., 1983; CALDAS et al., 1993), discordando dos achados de Herrmann (2004), que revelou uma maior prevalência para a sorovariedade Hardjo, provavelmente devido ao contato direto dos animais com bovinos.

O sorovar Sentot teve a terceira maior prevalência (17,39%), com 12 animais positivos, revelando um achado não tão comum no Brasil, onde essa sorovariedade normalmente não é encontrada e, portanto, não é incluída nas baterias de antígenos usualmente, apesar de estar presente no ambiente (FAINE, 1982).

Tabela 2 - Relação dos sorovares de *leptospira* spp mais prevalentes e respectivos títulos em função do número de ovinos reagentes ao teste da soroaglutinação microscópica em 19 municípios do semi-árido paraibano no período de julho de 2009 a julho de 2010. Patos, 2010

Sorovares	Títulos						Total(%)
	100	200	400	800	1600	3200	
Andamana	3	7	5	2	2	-	19(27,53)
Australis	-	-	1	-	-	-	1(1,44)
Autummalis	15	13	3	-	2	1	34(49,27)
Sentot	4	7	1	-	-	-	12(17,39)
Whitcombi	2	-	-	1	-	-	3(4,34)
Total	24	27	10	3	4	1	69(100)

No presente trabalho, a maioria dos ovinos reatores não apresentava sinais clínicos visíveis da doença o que mostra a grande importância desse fato no que se diz respeito ao ponto de vista epidemiológico, pois os animais assintomáticos eliminam constantemente o agente, garantindo a sua persistência no meio ambiente (VASCONCELLOS,1993; FAINE et al., 1999).

Na tabela 3 observa-se a distribuição dos sorovares em relação as cidades, onde nos municípios de Cajazeirinhas, Curral Velho, Cajazeiras, Patos, Santa Terezinha, São João do Rio do Peixe, São José do Bonfim, Quixaba, Pombal, Cachoeira dos Índios, São José de Piranhas, Sousa, Paulista, São José de Espinharas verificou-se animais reagentes em título iguais ou superiores a 100.

Tabela 3 - Relação dos Municípios com a presença de ovinos reagentes a um ou mais sorovares de *Leptospira* spp., detectados pela SAM. Patos, 2010

Município	Sorovares
Cachoeira dos Índios	Andamana
Cajazeiras	Andamana, Autummalis
Cajazeirinhas	Sentot, Whitcomb
Curral Velho	Sentot
Patos	Sentot, Autummalis
Paulista	Andamana, Autummalis, Sentot
Pombal	Sentot, Andamana
Quixaba	Sentot, Autummalis
Santa Terezinha	Autummalis, Whitcomb
São João do Rio do Peixe	Sentot, Andamana, Autummalis,
São José de Espinhares	Autummalis
São José de Piranhas	Automnalis
São José do Bonfim	Sentot, Autummalis
Sousa	Andamana, Autummalis, Whitcomb

5. CONCLUSÃO

A prevalência de ovinos sororeativos foi de 5,41%, sendo o sorovar mais prevalente a sorovariedade autummalis, o que enfatiza a necessidade de estudos que demonstrem a sua verdadeira dinâmica no ambiente e nos animais.

Constatou-se ainda que 28,20% das propriedades tiveram animais reagentes. Portanto, há uma necessidade de estabelecer medidas de prevenção baseados nos meios de transmissão já conhecidos, além de atentar sobre a importância de produção de vacinas homólogas específicas.

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.2. p.425, 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.

ANDREANI, E. Leptosirosi da sierotipo *hardjo*. Prove di infezione sperimentale in animale di laboratorio. **Zooprofilassi**, v.23, p.557-569, 1968.

ANDREANI, E.; SANTARELLI E.; DILIGENTI R. Leptosirosi degli ovini, infezione naturale da sierotipo *hardjo*. **Annali Della Facoltà Di Medicina Veterinaria. Università Di Pisa** , v.27, p.33-40, 1974.

ARAÚJO NETO, J.O. Isolamento de *Leptospira* spp. A partir do trato genital de ovelhas abatidas no Matouro Público de Patos-PB, Estado de Paraíba, Brasil. 2005. 58f. Monografia (para obtenção do grau de Médico Veterinário) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB.

AZEVEDO, S.S. et al.. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v.11, n.3, p.167-170, 2004a. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V71_3/azevedo>. Acesso em: 10 janeiro de 2010.

BHARTI, A. R. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance **Lancet Infect Dis** v 3, p. 757-771, 2003.

BATISTA, C.S. A. **Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães da cidade de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil**. 2004. 49f. Monografia (para obtenção do grau de Médico Veterinário) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6ª. ed. Brasília, 2005. 816p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <http://ww2.prefeitura.sp.gov.br/arquivos/secretarias/saude/vigilancia_saude/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf> Acesso em: 1 ago 2010.

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

CACCHIONE, R.A.; CEDRO, V. C. F.; BULGINI, M.J.D.; CASCELI, S.; MARTINEZ, E. S. Leptospirose ovina. **Investigación sobre su frecuencia en la Argentina. Aislamiento y clasificación de una cepa ovina.** Buenos Aires, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Zoonosis (Serie Técnica, 24), 1963.

CALDAS, E.M. et al. Aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos e caprinos na região Nordeste do Estado da Bahia. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, v.8, n.11, p.88-89, 1983.

CALDAS, E.M. et al. Aglutininas anti-leptospiras em hemossoro de animais domésticos no Estado da Bahia, 1990-1993. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, v.16, n.1, p.45-49, 1993.

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 Veterinary Medicine**, v.47, n.5, p.217-223, 2000

DEAN, A. G. EpiInfo version 6: a word-processing, database, and statistic program for public health on IBM-compatible microcomputers. Atlanta: Center for Diseases Control and Prevention, 1994. 601 p.

ELLIS, W. A.; MCPARLAND, P. J.; BRYSON, D. G.; MALONE F.E. Possible involvement of leptospiroses in abortion, stillbirths and neonatal deaths in sheep . **Vet. Rec.**, v.112. p.291-293, 1983.

ENRIETTI, M.A. Contribuição ao Conhecimento da Incidência de *Leptospiras* em Murídeos, Caninos e Suínos no Paraná. **Braz. arch. biol. Technol**, vol.jubilee, p.311-342, 2001.

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. **Cienc. Rural**, v.32, no.4, p.613-619, 2002.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2 ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272p.

FAINE, S. Guidelines for the control of leptospirosis. Genebra: World Health Organization, 1982. 171p. (Offsetpublication, 67).

GALTON, M.M.; SULZER, C.R.; SANTA ROSA, C.A.; FIELDS, M.J. Application of a microtecnica to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v.13, 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: XXIV World Buiatric Congress, Nice –France, October 15-19, 2006

GIRIO, R.J.S.; PEREIRA, F.L.G.; MARCHIORI FILHO, M. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil: utilização da técnica de imuno-histoquímica para detecção do agente. **Cienc. Rural**, vol.34, no.1, p.165-169, 2004.

GREENE, C.E.; SHOTTS, E.B. Leptospirosis. In: GREENE, C.E. (Ed.) **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990. p.498-507.

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

HERRMANN, G.P.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Cienc. Rural**, vol.34, no.2, p.443-448, 2004.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e estatística – acesso *on line* Às notícias, publicações, tabelas, banco de dados e mapas. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 12 de fevereiro de 2010.

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 soroaglutinação microscópica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.17, n.6, p. 264-268, 1995.

LANGONI, L. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 2, n. 1, p. 52-58, 1999.

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. Disponível em: <http://cmr.asm.org/cgi/reprint/14/2/296?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&searchid=1&FIRSTINDEX=0&volume=14&firstpage=296&resourcetype=HWCIT>> Acesso em: 20 julho. 2010. doi: 10.1128/CMR.14.2.296-326.2001.

LILENBAUM, W. et al. Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. **Research in Veterinary Science**, 2007 (ARTICLE IN PRESS).

QUINN, P.J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G.R. **Clinical veterinary microbiology**. Virginia : Wolfe, 1994. 648p.

RAFYI, A.; MAGHAMI, G.; NIAK, A.L. Leptospirosis in ovine and caprine. **Bull. Off Inst. Epizoot.**, v.68, p.43-59, 1967.

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.

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

SANTOS, F.A. **Inquerito soro-epidemiológico e tentativa de isolamento de *Brucella ovis* em ovinos deslanado no semi-árido paraibano**. 2009, 24f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária). Curso e Medicina Veterinária - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB, 2009.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 2 ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995. 479 p.

VASCONCELLOS, S.A. O papel dos reservatórios na manutenção de leptospirose na natureza. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, V.11, p.17-24, 1987.

VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose animal. IN: **III Encontro nacional em leptospirose**, Rio de Janeiro, 1993. p.62-65.

VIEGAS, E.A. et al. Aglutininas anti-*Leptospira* em hemossoro de caprinos e ovinos, no Estado da Bahia. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, v.5, n.1, p.20-34, 1980.

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

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. Malta: WHO; 2003.

ZAMORA J; RIEDEMANN S; TADICH N.A. A serological survey of leptospirosis in sheep in Chile. **Rev Latinoam Microbiol**. V.41, n.2, p.73-76, 1999