

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

MONOGRAFIA

Estudo sorológico da leptospirose em equinos da mesorregião leste Potiguar, Rio Grande do Norte, Brasil.

Aline Ferreira da Silva

2015



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

MONOGRAFIA

Estudo sorológico da leptospirose em equinos da mesorregião leste Potiguar, Rio Grande do Norte, Brasil.

Aline Ferreira da Silva
Graduanda

Prof. Titular Dr. Clebert José Alves
Orientador

Patos-PB
Outubro de 2015

S586e Silva, Aline Ferreira da

Estudo sorológico da leptospirose em equinos da mesorregião leste Potiguar, Rio Grande do Norte, Brasil / Aline Ferreira da Silva. – Patos, 2015. 32f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2015.

“Orientação: Prof. Titular Dr. Clebert José Alves”

Referências.

1. Canguaretama. 2. Esfera reprodutiva. 3. Sorovares. 4. Zoonose.
I. Título.

CDU 614

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINARIA

ALINE FERREIRA DA SILVA
Graduanda

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para a obtenção do grau de Médica Veterinária.

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

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Titular. Dr. Clebert José Alves

Nota

Orientador

Dr. Severino Silvano dos Santos Higinio

Nota

Examinador I

MSc. Diego Figueiredo da Costa

Nota

Examinador II

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

ALINE FERREIRA DA SILVA
Graduanda

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para a obtenção do grau em Médica Veterinária.

Aprovada em:/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Titular. Clebert José Alves
Orientador

Dr. Severino Silvano dos Santos Higinio
Examinador I

MSc. Diego Figueiredo da Costa
Examinador II

DEDICATÓRIA

*Em primeiro lugar a **DEUS** que sempre conduziu os meus passos e graças a ele
consegui chegar até aqui.*

*Aos meus pais, Maria do Carmo e José Ferreira pelo carinho, força, incentivo amor e
dedicação.*

*Aos meus irmãos Kaline Ferreira e Damião Ferreira que sempre me motivaram a
continuar, por todo amor e carinho a me dedicados.*

Ao meu namorado Érico Luiz pelo estímulo, companheirismo, dedicação e amor.

AGRADECIMENTOS

A **DEUS** pelo milagre da vida e por conduzir os meus passos todos os dias me concedendo inúmeras bênçãos. Aos meus pais Maria do Carmo e José Ferreira, que fizeram todos os esforços para que eu conseguisse chegar até aqui, pelo exemplo de dignidade, caráter, casal e por todo amor e carinho dedicados a me, amo vocês. Aos meus irmãos Damião Ferreira e Kaline Ferreira, pelo amor e incentivo o que sempre me motivou a seguir em frente, ao meu pequeno príncipe Matheus Ferreira que mesmo tão criança tornou os meus dias menos estressantes, te amo titia, ao meu namorado Érico Luiz, por todo amor, companheirismo, amizade, compreensão e orientações desde o início do curso, amo todos vocês.

Ao meu tio Sebastião Ferreira e minha prima Lúcia Lucena, que sempre me incentivaram e ajudaram bastante, foram fundamentais na minha vida e formação profissional.

A toda minha família meu muito obrigada, pois, foram meu combustível para chegar até aqui.

Ao meu orientador Clebert José Alves, pela oportunidade de desenvolver pesquisas, ensinamentos, estímulo e pela confiança em mim depositada, sendo grande colaborador para minha formação profissional.

Ao professor Sérgio Santos de Azevedo que foi meu primeiro orientador e pelas orientações durante esta pesquisa.

Ao amigo Diego Figueiredo da Costa pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados durante esta trajetória e pelo auxílio durante o curso o que foi essencial para que este estudo fosse concluído.

Ao amigo Fabrine Alexandre (o mago), as minhas amigas e companheiras de residência Risoneide Henriques (Riso), Anaisa Bidô e ele a ciência em pessoa (Francione) pelas alegrias, brincadeiras e companheirismo.

Aos meus amigos de turma, Kalyne Dannielly, Joyce Barreto, Julia Laurindo, Priscila Rocha, Luana Figueredo, Raíssa Almeida, Brunark Carvalho Lídio Ricardo, Gian Libanio e Robison Lira, a minha eterna fera Alyne Cristina (Cobra) e a Rosa Pessoa amigos que Deus me deu a oportunidade de conhecer.

A todos os colegas do laboratório Dona Francinete, Silvano Higino, Camila, Arthur, Anielle Regina, Areano, Carla. Enfim a todas as pessoas que fizeram parte da

minha trajetória. Aos companheiros de residência Marcela Miranda, Ariane, Juliana Maria e Junior.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.0 LEPTOSPIROSE	12
2.1 Conceito.....	12
2.2 Agente Etiológico.....	12
2.3 Epidemiologia.....	13
2.4 Patogenia.....	14
2.5 Sinais Clínicos.....	15
2.6 Patologia.....	15
2.6.1 Aspecto Macroscópico.....	15
2.6.2 Aspecto Microscópico.....	16
2.7 Diagnóstico.....	16
2.7.1 Métodos Indiretos.....	17
2.7.2 Métodos Diretos.....	17
2.8 Tratamento.....	17
2.9 Controle e Profilaxia.....	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Descrição da área de estudo.....	19
3.2 Animais e amostragem	19
3.3 Técnica da sorologia.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÃO	25
6. BIBLIOGRAFIA	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 01- Sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentes e respectivos títulos em equinos do município de Canguaretama-RN, durante o ano de 2013.....21 Pag.

RESUMO

SILVA, ALINE FERREIRA. Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos da mesorregião leste Potiguar do Rio Grande do Norte. Patos. UFCG. 2015 32p (Monografia-Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária preventiva e Saúde Animal).

A leptospirose é uma doença infectocontagiosa causada por bactérias do gênero *Leptospira* spp. com ampla distribuição mundial. Nos equinos esta enfermidade causa elevados prejuízos econômicos devido à uveíte recorrente e aos problemas reprodutivos, além do risco de contaminação para os seres humanos, por se tratar de uma zoonose de importância em saúde pública. O objetivo do trabalho foi determinar a frequência de equinos soropositivos para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp., bem como identificar os sorovares predominantes na região. Foram analisados 150 soros de equinos criados no município de Canguaretama, Rio Grande do Norte. Para verificar a presença de anticorpos anti-*Leptospira*, foi utilizado o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM), utilizando uma bateria com 24 sorovares como antígenos, considerou-se como positivo a amostra que apresentou aglutinação igual ou superior a 1:100. A frequência encontrada foi 38% (57/150), os sorovares mais frequentes neste estudo foram Australis (36,8%), seguido por, Javanica (19%), Hardjobovis, Djasiman, Wolffii (10,6%), Hebdomadis (5,3%), Autumnalis (3,5%), Grippytyphosa e Pomona (1,8%). Os títulos destes sorovares variaram de 100 á 800.

Palavras chaves: Canguaretama, Esfera reprodutiva, Sorovares, Zoonose.

ABSTRACT

SILVA, ALINE FERREIRA. Epidemiological characterization of leptospirosis in horses of mesoregion Potiguar east of Rio Grande do Norte. Patos. UFCG. 2015 32p (Monograph-Course of Veterinary Medicine, Preventive Veterinary and Animal Health).

Leptospirosis is an infectious disease caused by bacteria of the genus *Leptospira* spp. with worldwide distribution, in horses this disease causes high economic losses due to recurrent uveitis and reproductive problems, and the risk of contamination for humans, because it is a zoonosis of importance to public health. The objective was to determine the frequency of seropositive horses to search for antibodies anti-*Leptospira* spp., As well as identifying the predominant serotypes in the region. We analyzed 150 blood sera of horses belonging to Canguaretama municipality in the state of Rio Grande do Norte. To verify the presence of antibodies anti-*Leptospira*, we used the test Microscopic Agglutination Test (MAT) using a battery of 24 serovars as antigens, it was considered as a positive sample that showed agglutination equal to or greater than 1: 100. The rate found was 38% (57/150), the most common serovar in this study were Australis (36.8%), followed by, Javanica (19%), Hardjobovis, Djasiman, Wolffi (10.6%) Hebdomadis (5.3%), Autumnalis (3.5%), and Grippotyphosa Pomona, (1.8%). The titles of these serovars ranged from 100 to 800.

Key words: Canguaretama, reproductive sphere, Serovars, Zoonoses.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um plantel de aproximadamente oito milhões de equídeos (IBGE, 2011), onde se destaca a criação de equinos, possuindo o maior rebanho da América Latina e o terceiro maior a nível mundial, impulsionando assim o mercado brasileiro nacional, movimentando cerca de R\$ 7,3 bilhões por ano (LIMA, 2013). Na região Nordeste concentra o maior efetivo de asininos e muares, no entanto os equinos também são bastante explorados. Além de ter contribuído com o desenvolvimento da região esses animais possuem importante valor cultural, sendo bastante utilizados, no manejo de bovinos, para cargas, tração e principalmente em esportes como a vaquejada.

Este contato próximo do homem com o animal facilita a propagação de inúmeras doenças infectocontagiosas, entre elas a leptospirose, zoonose de extrema importância para a saúde pública. Esta enfermidade nos equinos acomete a esfera reprodutiva causando abortos e repetição de cio, nas fêmeas e uveíte recorrente nos machos.

Tendo em vista os prejuízos reprodutivos e de saúde pública que essa enfermidade proporciona e a escassez de estudos prévios em equinos na região, objetivou-se determinar a frequência de equinos soropositivos para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp., bem como identificar os sorovares predominantes na região.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.0 LEPTOSPIROSE

1.1 Conceito

É uma doença infectocontagiosa zoonótica que acomete várias espécies, inclusive o homem. Seu principal impacto é na esfera reprodutiva, mas em algumas espécies podem causar graves sinais clínicos e levar a morte do animal (FAINE et al., 2000).

2.2 Agente etiológico

A enfermidade é causada por bactérias do gênero *Leptospira* spp., que são espiroquetas com 0,10-0,25 μ M de diâmetro a 6-25 μ M de comprimento. São aeróbios obrigatórios com uma temperatura ótima de crescimento de 28-30°C (BHARTI et al., 2003). A *Leptospira* spp. pertence a Família *Leptospiraceae*, Ordem *Spirochaetales*, na qual compreende tanto espécies saprófitas (*L. biflexa* lato sensu) como patogênicas (*L. interrogans* lato sensu). A classificação sorológica das leptospiras está baseada na expressão dos epítomos expostos do lipopolissacarídeo (LPS) (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

Com o advento das metodologias moleculares, Yasuda et al. (1987) propuseram sete novas espécies de *Leptospira* spp., relacionadas a homologia de DNA, devido a grande heterogeneidade entre estas. Porém a classificação sorológica não se correlacionou bem com a identificação de espécies por métodos moleculares (LEVETT, 2001).

Na reunião do Subcomitê de Taxonomia de *Leptospiraceae*, no ano de 2007, foi decidido dar o status de espécies segundo a classificação molecular, dando como resultado 13 espécies de leptospiras patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. Interrogans* (stricto sensu), *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffi*, com mais de 260 sorovares. As espécies saprófitas incluem *L. biflexa* (stricto sensu), *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, com mais de 60 sorovares (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

O crescimento bacteriano em meio de cultura pode variar de dois a 30 dias (FAINE et al., 2000). Estas bactérias apresentam alta sensibilidade aos detergentes, desinfetantes, pH ácido, dissecação, luz solar e aos demais antissépticos. No ambiente a sua resistência varia de acordo com o pH, salinidade e grau de contaminação, apresentando multiplicação ótima em terrenos úmidos, pântanos, córregos, lagos como também em estábulos úmidos com detritos (FAINE et al., 1999; SANTOS, 2007; ALCINDO, 2010; MACHRY et al., 2010).

2.3 Epidemiologia

A leptospirose é uma zoonose com ampla distribuição mundial, sendo mais prevalente nas Américas, endêmica na América Latina e no Caribe, sua ocorrência está condicionada a fatores ambientais, tendo como fatores de risco à presença de animais silvestres, domésticos portadores do agente e períodos de alta pluviosidade (ALVES et al., 1996; GENOVEZ et al., 2006; ESCÓCIO et al., 2010).

Qualquer sorovar pode infectar qualquer espécie animal, porém, alguns hospedeiros são mais adaptados a um determinado sorovar. Com isso, os animais são divididos em hospedeiros de manutenção (adaptado) e hospedeiros incidentais (MARTINS; LILENBAUM, 2014). Quando um sorovar estiver adaptado a uma determinada espécie animal, a doença pode se apresentar de forma assintomática ou com sintomatologia leve, moderada ou crônica, e os animais são considerados hospedeiros de manutenção. Estes são capazes de eliminar leptospiros em grandes quantidades no meio ambiente, durante meses ou anos (LEVETT, 2001).

Animais considerados hospedeiros incidentais terão geralmente sinais clínicos e sintomatologia de forma aguda (GUERRA, 2009). Os equinos são considerados adaptados ao sorovar Bratislava, os demais sorovares acometem esta espécie de forma incidental (LILENBAUM, 1998).

No Brasil a prevalência e a incidência para esta enfermidade variam entre 5,8 a 100 %, de acordo com inquéritos sorológicos conduzidos em equídeos, sendo os sorovares mais frequentes: Patoc, Autumnalis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Bratislava, Pomona, Australis, Djasiman, Hardjobovis, Canicola, Copenhageni e Grippothyphosa (PIRES NETOS et al., 2005; HASHIMOTO et al., 2007; GOMES et al., 2007; CHIARELI et al., 2008; MORAIS et al., 2010; PINNA et al., 2011; SANTOS et al., 2012; LASTA et al., 2013; SANTOS et al., 2014). A ocorrência desta diversidade

sorológica varia de acordo com os fatores que causam a infecção em cada região (ALVES et al., 2012).

Estudos epidemiológicos apontam que cada região deve ser avaliada isoladamente de acordo com as características epidemiológicas da área em particular, uma vez que a ocorrência e os focos de infecção variam bastante de acordo com cada área de estudo (ALVES et al., 2012).

2.4 Patogenia

O agente pode invadir o hospedeiro pela mucosa, pele íntegra ou lesada. Após a penetração as bactérias se disseminam pela corrente sanguínea e inicia-se a fase de multiplicação no sangue e nos órgãos, como o fígado, baço e rins caracterizando a fase de leptospiremia que perdura de quatro a cinco dias, chegando ao sétimo dia no máximo. Com o desencadeamento da infecção ocorre a ativação do sistema imunológico contra os microorganismos invasores (FAINE et al., 1999; ZAMORA et al., 1999).

Na tentativa de se refugiarem do sistema imunológico as bactérias migram para os órgãos onde a imunidade humoral é baixa ou inexistente, como a câmara anterior do globo ocular e a luz dos túbulos renais caracterizando a fase de leptospirúria (FAINE et al., 2000). Os equinos normalmente se infectam através do contato com urina de outros animais contaminados, sejam eles domésticos ou silvestres. Após a contaminação ocorre o mecanismo patogênico da enfermidade, a fase de leptospiremia ocorre cerca de 10 dias após infecção e estes animais podem manifestar um quadro agudo da doença ou se tornam portadores crônicos, atuando como fontes de infecção para outros animais. A lesão ocular encontrada nos equinos ocorre devido à infiltração por linfócitos TH1 e neutrófilos com deposição extensiva de fibrina (TIZARD, 2009).

2.5 Sinais Clínicos

A infecção nos equinos normalmente cursa sem sinais clínicos, mas abortamentos, uveíte recorrente e outros sinais como fotofobia, lacrimejamento, conjuntivite, ceratite, hipópio e iridociclite podem ser encontrados (RADOSTITIS et al., 2002; PIRES NETO et al., 2005). Clinicamente a leptospirose nesses animais se

caracteriza em três síndromes, infecção do trato reprodutivo, falência renal aguda e oftalmia periódica (DIVERS; CHANG, 2009).

Nas fêmeas os principais sinais clínicos são abortos, principalmente no sexto mês de gestação, nascimento de potros fracos e repetição de cio, enquanto que nos machos o sinal característico é uveíte recorrente (MACIEL et al., 2008). Também pode ser observado epífora, congestão ocular, blefaroespasma, fotofobia e dispigmentação focal peripapilar (BRAGA et al., 2011).

Na avaliação renal, através da ultrassonografia observa um aumento de volume do tecido renal, quando se realiza a biopsia encontra nefrite tubulointersticial, sendo característico da colonização por leptospiros, as quais causam uma insuficiência renal aguda (HINES, 2007).

A associação entre outras doenças equinas e a leptospirose já levou a muitos questionamentos, no entanto hoje a sua patogenia esta bem esclarecida sendo uma importante causa de aborto e uveíte em equinos (HAMOND et al., 2011).

2.6 Patologia

2.6.1 Aspecto Macroscópico

Os achados patológicos macroscópicos nos fetos são hepatite e hepatomegalia, quando são encontrados em estado de autólise avançado, nas crias fracas ou natimortos encontra-se fígado pálido e amarelado, os rins podem estar edemaciados com manchas pálidas, nos potros são encontrados hemorragia pulmonar, nas fêmeas observa áreas de necrose inflamação e edema na placenta (DIVERS & CHANG, 2009; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2012).

2.6.2 Aspecto Microscópico

Na microscopia observa-se necrose e vacúolos nos hepatócitos da região centrolobular, presença de macrófagos nos sinusódes hepáticos e infiltrado de neutófilos no parênquima hepático. Nos pulmões encontra-se pneumonia intersticial, congestão, edema e moderada infiltração de macrófagos no septo intralveolar com infiltração de neutrófilos intralveolar. Nos rins, observa-se nefrite intersticial com degeneração de células epiteliais dos túbulos e múltiplos vacúolos (DIVERS; CHANG, 2009; MARCOLONGO-PEREIRA et al., 2012).

2.7 Diagnóstico

Diferentes métodos podem ser utilizados para o diagnóstico da leptospirose, sejam eles clínicos ou laboratoriais (FAINE et al., 1999). Os laboratoriais são divididos em diretos e indiretos, onde o primeiro é composto pelo isolamento e identificação do agente, enquanto que os métodos indiretos são baseados na detecção de anticorpos específicos (BURRIEL, 2010).

2.7.1 Métodos diretos

O isolamento bacteriano é realizado a partir de diferentes amostras animais (urina, rins, fígado, baço e material de aborto), onde estes são cultivados em meios específicos (Fletcher e o Ellinghausen-Mc Cullough-Johnson-Harris-EMJH) no intuito do crescimento *in vitro* do agente. Tem como vantagem o diagnóstico definitivo e desvantagens à baixa sensibilidade, problemas com contaminação, longo período para crescimento e identificação do agente (SCARCELLI et al., 2004).

A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica molecular para identificação de leptospiros patogênicas. Essa vem demonstrando ser uma importante ferramenta no diagnóstico da leptospirose animal (DIRECTOR et al., 2014). Através desta é possível amplificar o DNA e identificar leptospiros em amostras de difícil cultivo (GOTTI, 2006).

2.7.2 Métodos indiretos

A Soroaglutinação Microscópica (SAM) é o teste padrão recomendado pela Organização Mundial da Saúde Animal (OIE, 2012). Sua principal vantagem é a alta especificidade, porém, sua aplicação exige profissionais extremamente qualificados e aparelhos específicos o que a restringem há alguns laboratórios (BOURHY et al., 2013). O teste ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) também vem sendo utilizado, este é baseado na detecção de IgG e IgM e tem como desvantagens uma menor especificidade quando comparado a SAM (OIE, 2012).

Martins & Lilenbaum (2014) recomendam o uso da Soroaglutinação Microscópica (SAM) como teste de triagem, associado à PCR para detecção dos animais portadores de leptospiros no rebanho.

2.8 Tratamento

As leptospirosas são susceptíveis à maioria dos antibióticos, sendo indicada a penicilina, doxiciclina, estreptomicina e tetraciclina para tratamento da leptospirose. Para a diminuição da replicação das leptospirosas, limitação da leptospirose e diminuição da eliminação do agente pela urina, são recomendadas duas fases de antibioticoterapia. A penicilina G procaína é o antibiótico de eleição para o tratamento da leptospirose e deve ser administrada no início do curso da doença na dose de 40.000 a 80.000 UI/kg, intramuscular ou subcutânea, uma ou duas vezes ao dia, durante cinco a sete dias, é o esquema de tratamento mais comumente utilizado (WOHL, 1996).

Nos equinos o tratamento consiste na aplicação parenteral de estreptomicina (25-30 mg / Kg) via intramuscular profunda uma ou duas vezes ao dia. Pode-se fazer associação entre a penicilina G procaína e à estreptomicina, provocando um sinergismo. Esse tratamento demonstrou ótima eficiência de acordo com estudo experimental desenvolvido no Estado do Rio de Janeiro (PINNA; VARGES; LILENBAUM, 2008). Segundo Hamond et al. (2011) este protocolo demonstrou eficácia até nos casos de animais soropositivos que apresentavam hemorragia pulmonar, sendo a melhora clínica mais rápida quando se faz esta associação (HAMOND et al., 2012).

2.9 Controle e Profilaxia

O controle da leptospirose é fundamental para minimizar os transtornos reprodutivos e as perdas econômicas. Este depende de uma variedade de fatores, sejam eles inerentes ao hospedeiro, ao agente ou ao ambiente, que pode favorecer a ocorrência da enfermidade em um rebanho (CORTESE et al., 2014).

As ações para o controle da infecção devem ser baseadas nas particularidades de cada rebanho e no sorovar infectante, com elaboração de programas específicos que funcionem dentro do tripé vacinação, antibioticoterapia e medidas de manejo/ambientais, possibilitando uma abordagem precisa, com expressiva redução do número de casos, e assim favorecendo o incremento da produtividade (MARTINS et al., 2012; MUGHINI-GRAS et al., 2014). No entanto, apesar de sua importância, esta é ainda uma doença desafiadora, em que ainda são escassas as informações sobre a epidemiologia, transmissão, profilaxia e controle da infecção em nosso cenário.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética - CEP/ CSTR número de protocolo CEP 248/2015.

3.1 Descrição da área do estudo

A pesquisa foi desenvolvida na cidade de Canguaretama, localizado no Estado do Rio Grande do Norte, pertence á mesorregião do Leste Potiguar. A mesma possui latitude e longitude de 06° 22' 26'S e 35° 07' 44' W, respectivamente. Está a uma altitude de 5 m acima do nível do mar, ocupando uma área de 245 Km² (IBGE, 2011). O clima da cidade é tropical chuvoso, com pluviosidade anual de 1.500 mm, com distribuição irregular das chuvas (EMPARN, 2013).

3.2 Animais e amostragem

Para o desenvolvimento desta pesquisa foram utilizados 150 equinos adultos, não vacinados, de ambos os sexos, envolvidos em atividades de tração, vaquejada e lida com o gado. As coletas foram realizadas durante o ano de 2013. Destes, foram coletados sangue pela punção da veia jugular externa, tomando todos os cuidados usuais de assepsia, utilizando tubos á vácuo (vacutainer ®) estéreis de 8 mL sem anticoagulante, estas amostras foram devidamente identificadas e acondicionadas em caixa isotérmicas e conduzidas ao Laboratório de Doenças Transmissíveis (LTD) do CSTR da UFCG. No laboratório as amostras foram centrifugadas á 3000 rpm durante dez minutos, os soros obtidos foram armazenados em microtubos de plástico (eppendorff ®) identificados e armazenados a - 20 °C até o momento em que foi realizado a sorologia.

3.3 Técnicas da Soroaglutinação Microscópica

A presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi determinada pela SAM (OIE, 2012), utilizando uma coleção de cepas com 24 antígenos de *Leptospira biflexa* sorovares Andamana e Patoc, *Leptospira interrogans*: Australis, Copenhageni, Bataviae, Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjoprajitno, Pomona, Pyrogenes,

Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis, Wolffi, Butembo; *Leptospira borgpeterseni*: Autumnalis, Castellonis, Hardjobovis Javanica, Tarassovi, *Leptospira santarosai*: Guaricura, Shermani; *Leptospira kirschneri*: Cynopteri, e *Leptospira noguchii*: Panama .Cedidas pelo Laboratório de Bacteriologia Veterinária da Universidade Federal Fluminense (UFF) e oriundas do Instituto Pasteur, França. Todas as amostras com atividade aglutinante na diluição de 1:100 foram consideradas positivas. As amostras positivas foram tituladas de forma seriada na razão de dois. O ponto de corte era o tubo de maior diluição que apresentasse 50% de aglutinações quando comparado com o controle. O maior título alcançado foi usado para identificar o sorovar infectante.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 150 equinos amostrados, 57 (57/150) foram soropositivos pelo teste de SAM para pelo menos um sorovar, revelando uma frequência de 38% e com títulos variando de 1:100 á 1:800 tabela 01. O sorovar Australis foi o mais frequente nesse estudo (36,8%), seguido pelos sorovares, Javanica (19%), Hardjobovis, Djasiman, wolffi (10,6%), Hebdomadis (5,3%), Autumnalis (3,5%), Grippytyphosa e Pomona (1,8%).

Tabela 01: Sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentes e respectivos títulos em equinos do município de Canguaretama-RN, durante o ano de 2013.

Sorovares	Títulos						Total (%)
	100	200	400	800	1600	3200	
Australis	1	12	5	3	-	-	21(36,8)
Javanica	2	8	-	1	-	-	11(19)
Hardjobovis	3	3	-	-	-	-	6(10,6)
Djasiman	3	1	2	-	-	-	6(10,6)
Wolffi	3	3	-	-	-	-	6(10,6)
Hebdomadis	-	2	1	-	-	-	3(5,3)
Autumnalis	1	1	-	-	-	-	2(3,5)
Grippytyphosa	-	1	-	-	-	-	1(1,8)
Pomona	1	-	-	-	-	-	1(1,8)
Total (%)	14(24.6)	31(54,4)	8(14)	4 (7)	0 (0)	0 (0)	57 (100)
Negativos(-)							

A frequência de animais reativos para a SAM encontrada no presente estudo reflete a falta de padrão na frequência no Brasil e na região Nordeste, os quais variaram

de 5,8 á 100% no Brasil (PIRES NETOS et al., 2005; HASHIMOTO et. al., 2007; GOMES et. al., 2007; CHIARELI et. al., 2008; MORAIS et. al., 2010; PINNA et al 2011; SANTOS et al., 2012; LASTA et al., 2013; SANTOS et al., 2014) e de 8 á 86% no Nordeste (GOMES et al., 2007; BULHÕES et al., 2011; SIQUEIRA et al., 2012). Demonstrando que fatores como a diferença climática, manejo, presença de reservatórios podem influenciar a permanência de leptospiras nos rebanhos e pode levar a infecção. Como os animais amostrados não eram vacinados, não houve interferência vacinal nos mesmos. Com isso, é possível que os animais soropositivos estejam refletindo a exposição natural à infecção.

Segundo a EMPARN (2013) no ano em que foram realizadas as coletas o acumulado médio de chuvas no Estado foi de 400 mm, valor 45% inferior ao acumulado anual esperado. Mesmo assim a frequência de soropositivos foi condizente com estudos realizados em regiões de clima tropical (PINNA; MARTINS; LILENBAUM, 2010). Com isso, mesmo com condições adversas para a sobrevivência de leptospiras no ambiente, encontrou-se uma frequência relativamente alta na região, visto que a pluviosidade influencia diretamente na soropositividade dos animais.

O sorovar Australis, mais frequente nesse estudo, também foi encontrado como mais frequente por Moraes et al. (2010), analisando equídeos criados na ilha de Algodal, no estado do Pará, no qual relatou uma frequência de 54,05%. Resultado semelhante também foi observado por Siqueira et al. (2012) analisando equinos pertencentes a região metropolitana de Salvador e Recôncavo Baiano. Esse sorovar tem como principal reservatório os animais silvestres (PINHO et al., 2014). Devido à região estudada apresentar uma área de reserva ecológica e fauna silvestre, os equinos podem ter sido contaminados em decorrência do contato com esses animais. Outra hipótese é que este sorovar esteja adaptado aos equinos, devido à alta frequência de anticorpos que vem sendo usualmente detectados (LILENBAUM, 1998; PIRES NETO et al., 2005; PINNA et al., 2008) podendo estes estarem atuando como reservatórios e transmitindo a enfermidade para as outras espécies.

A presença de aglutinas para os sorovares Hardjobovis, wolffi e Hebdomadis, encontrados neste estudo foi semelhantes aos resultados observados por Bulhões et al. (2011) estudando equídeos de tração em Mossoró-RN. Siqueira et al. (2012) analisando equinos criados na região metropolitana de Salvador e Recôncavo Baiano. Como os animais pesquisados desenvolviam atividades em que estabeleciam uma relação de contato direto com bovinos (lida no campo, vaquejada), além do hábito regional de

criação consorciada com várias espécies. Provavelmente foram estes fatores que favoreceram a contaminação dos equinos. Visto que estes sorovares são mais adaptados aos bovinos (OLIVEIRA et al., 2010; HERMANI et al., 2012). Sendo importante destacar a presença dos bovinos como provável fonte de infecção.

O sorovar Javanica também identificado nas reações sorológicas neste estudo é encontrado principalmente em roedores domésticos e silvestres, sobretudo na espécie *Rattus norvegicus*, na qual já foi implicada como importante fonte de infecção (NATARAJAS; ENIVASAN & RATNAM, 1999). Esse roedor também é uma importante fonte de infecção para seres humanos. Já que na Índia foi relatado o isolamento deste sorovar através da urina de um homem com sintomatologia clínica e comprometimento renal (SARAVANAN et al., 1998), demonstrando o seu potencial risco de transmissão para seres humanos e animais.

O sorovar Pomona, também reagente nesta pesquisa, é considerado mais adaptado aos bovinos e suínos ocorrendo nos equinos de forma acidental (LILENBAUM et al., 1998). Em estudos sorológicos conduzidos no Rio de Janeiro e Goiás na espécie equina também detectaram a presença deste sorovar (LILENBAUM et al., 1998; LINHARES et al., 2005). A presença deste sorovar neste estudo sugere a provável contaminação destes animais a partir de bovinos e/ou suínos, destacando o risco das criações consorciadas.

Os sorovares Djasiman, Autumnalis, Griptophosa detectado nas reações soropositivas, são associados á contaminação do ambiente e mantidos em animais silvestres (HAMOND et al., 2015), estes acometem os equinos de forma acidental. A presença destes sorovares também foram frequentes nos estudos de Siqueira et al. (2012). As reações aglutinantes para estes sorovares destacam a possível contaminação dos equinos a partir de animais silvestres, por se tratar de uma região em que apresenta fauna silvestre e condições ambientais favoráveis à sobrevivência e disseminação das leptospiras.

A diversidade sorológica ocorre devido as mais diversas fontes de infecção que contribuem para a disseminação da bactéria (LOUREIRO ET AL., 2013). Portanto, os resultados encontrados na SAM, nesse estudo sugerem a existência de diferentes fontes de infecção, observados nas reações soropositivas para diversos sorovares.

5. CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados, conclui-se que a infecção por *leptospiras* esta presente na região de Canguaretama. Deste modo, é importante estabelecer programas de controle baseados nos meios de transmissão já conhecidos, além de atentar sobre a importância de produção de vacinas homólogas específicas, de acordo com os sorotipos circulantes na região. Sendo importante o desenvolvimento de mais estudos na região visando o isolamento do agente e participação dos animais silvestres no ciclo doméstico da leptospirose.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**. Amsterdam, v. 140, n. 3-4, p. 287-296, 2010.

ALCINDO, J. F. **Caracterização epidemiológica de leptospirose em ovinos deslanados do semi-árido paraibano. Estado da Paraíba, Brasil**. 2010.36 p. Monografia (para obtenção do grau em Médico Veterinário) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB, 2010.

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**, São Paulo, v. 63, n. 2, p. 11-18. 1996.

ALVES, C. J.; ALCINDO, J. F.; FARIAS, A. E. M.; HIGINO, S. S. S.; SANTOS, F. A.; AZEVEDO, S. S.; COSTA, D. F.; SANTOS, C. S. A. B. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslanados do semiárido Brasileiro. **Pesq. Vet. Bras.** v. 32, n. 6, p.523-528, 2012.

BRAGA, J; HAMOND, C; MARTINS, G; ABREU, R.N; Lilenbaum W. Ophthalmicalterations in horses with leptospirosis by serovar Icterohaemorrhagiae in Rio de Janeiro, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro. v. 31, n. 2, p.147-150, fevereiro, 2011.

BHARTI, A. R.; NALLY, J. E.; RICARDI, J. N.; MATTHIAS, M. A.; DIAZ, M. M.; LOVETT, M. A.; LEVETT, P. N.; GILMAN, R. H.; WILLIG, M. R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J. M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**, Amsterdã, v. 3, p. 757 – 771, 2003.

BOURHY, P.; VRAY, M.; PICARDEAU, M. Evaluation of an in-house ELISA using the intermediate species *Leptospira fainei* for diagnosis of leptospirosis. **Journal of Medical Microbiology, Edinburgh**, v. 62, p. 822–827. 2013.

BULHÕES, J. M.; FERNANDES, L. G.; SALES, L. E. M.; DIAS, R. V. C.; SAKAMOTO, S. M. Estudo sorológico da leptospirose em equídeos de Mossoró-RN. Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária 38^o, 2011. Florianópolis- Santa Catarina. Resumo. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2011. 3 p.

BURRIEL, A. R. **Leptospirosis: an important zoonotic diseasesis**, In: MENDEZ-VILAS, A. 3 (Ed). Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. Badajoz: Formatex. p. 687-693. 2010.

CHIARELI, D.; MOREIRA, E.C.; GUTIÉRREZ, H. O. D.; RODRIGUES, R.O.; MARCELINO, A. P.; MENESES, J. N. C.; ALMEIDA, V. M. A. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em equídeos, em Minas Gerais, 2003 a 2004. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 6, p. 1576-1579, 2008.

CORTESE, V. S.; GALLO, G. F.; CLEAEARY, D. L.; GALVIN, J. E.; LEYH, R. D. Efficacy of a flexible schedule for administration of a *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo bacterin to beef calves. **American Journal of Veterinary Research**, v 75, n 5 p. 507-512, 2014.

DIRECTOR, A.; MARTINS, G. M. S.; LOUREIRO, A. P. P.; HAMOND, C.; REIS, R. M.; MEDEIROS, M. A.; LILENBAUM, W. Molecular detection of leptospiral carriers in sheep under tropical field conditions. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 51, n. 3, p. 220-223. 2014.

DIVERS, T.J.; CHANG, Y. Leptospirosis, In: ROBINSON, N.E.; SPRAYBERRY, K.A. (Ed). **Current therapy in equine medicine**. 6 Ed. St.Louis: Elsevier. p. 145-147. 2009.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE- EMPAR. Boletins de precipitação- estação de Canguaretama: Séries 1963 a 2013. Natal-RN. 2015.

ESCÓCIO, C.; GENOVEZ, M. E.; CASTRO, V.; PIATTI, R. M.; CHIEBAOD, P.; AZEVEDO, S. S.; VIEIRA, S.R. & CHIBAM. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos na região de Sorocaba-SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 371-379, jul.-set, 2010.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**. 2 ed. Sydney: Medi Sci. 272 p., 1999.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIM, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**, 2 ed. Medi Sci, Melbourne, Austrália, 272 p, 2000.

GENOVEZ, M. E.; DELFAVA, 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 Buiatrics Congress, Nice –France, October 15-19, 2006.

GOMES, A. H. B.; OLIVEIRA, F. C. S.; CAVALCANTI, L. A.; CONCEIÇÃO, I. R.; SANTOS, G. R.; RAMALHO, E. J.; VIEGAS, S. A. R. A. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de equinos no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 8, n. 3, p. 144-151, 2007.

GOTTI, T. B. **Avaliação de três protocolos de associações antibióticas na qualidade do sêmen bovino quanto ao seu efeito sobre a microbiota autóctone e na destruição da *Leptospira* spp. sorovares Hardjo (estirpes Hardjoprajtino e Hardjovis) e Wolffi (estirpe 3705).** Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 88 p. 2006.

GUERRA, M. A. Leptospirosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 234, p. 472 – 478, 2009.

HASHIMOTO, V. Y. GARCIA, K. A. H.; SPOHR, K. A. H.; SILVA, F. G.; ALVES, L. A. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Parana, Brazil. **Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 49, n. 5, p. 327-330, 2007.

HASHIMOTO, V.Y. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 2, p. 99-105, fevereiro. 2012.

HAMOND, C; MARTINS,G.; REIS, J.; KRAUS, E.; PINNA, A.; LILENBAUM, W. Pulmonary hemorrhage in horses seropositive to leptospirosis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, maio 2011. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_t&pid=S0100736X2011000500008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 05/ out/ 2013.

HAMOND, C.; MARTINS, G.; LILENBAUM, W. Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 44, n. 8, p. 1927–1930. 2012.

HAMOND, C. ; PINNA, M.H.;MARTINS, G.; MEDEIROS, M. A. ;LILENBAUM, W. Infection by *Leptospira* spp. in Cattle in a Tropical Region, Rio de Janeiro, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, p. 210-210.2015.

HERMANN, G. P.; RODRIGUES, R. O.; MACHADO, G.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 131-407 138. 2012.

HINES, M.T. Leptospirosis, In: SELTON, D.C.; LONG, M.T. (Ed.). **Equine infectious diseases**. Saint Louis: Elsevier, 2007. p. 301-309.

IBGE. Produção Pecuária **Municipal. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, BRASIL** 2011. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/2011/default_pdf.shtm>. Acesso em: 13 dez. 2014.

LASTA, C. S.; OLIVEIRA, S. T.; MERINI, L. P.; DASSO, M. G.; PEDRALLI, V.; GONZÁLEZ, F. H. D. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em soros de equinos de tração em Porto Alegre, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 20, n. 1, p. 23-25, 2013.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clin. Microbiol. Rev. Apr**, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.

LIMA, R. A. S. Atualizando os valores do complexo do agronegócio do cavalo. **Revista Brasileira de Medicina + Equina**, São Paulo, v 9, n 50, p 34-35, 2013.

LILENBAUM, W. Leptospirosis on Animal Reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brasil (1993-1996). **Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo: v. 35, n. 2, p. 61-63. 1998.

LINHARES, G. F. C.; GIRIO, R. J. S.; LINHARES, D. C. L.; MONDEIROS, L. C.; OLIVEIRA, A. P. A. Sorovares de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da Microrregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 6, n. 4, p. 255-259. 2005.

LOUREIRO, A.P.; HAMOND, C.; LILENBAUM, W. Leptospirosis in horses. **Veterinary Record**, London, v.172, n.18, p.479-480. 2013.

MACHRY, L; RIBEIRO, R. L; BRAZIL, J. M. V; PALASSIANO, 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 *pulsedfield gel eletrophoresis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 43, n. 2, p. 166-169, 08-abr, 2010.

MACIEL, R. M.; LOPES, S. T. A.; MARTINS, D. B.; FRANCISCATO, C.; MERINI, L. P.; COSTA, M. M.; BADKE, M. R. T.; GONÇALVES. A.P.; VEIGA, A. P. M.; MÜHLEN, R. V. Incidência de aglutininas anti-leptospira em soro de equinos utilizados na tração de carroças no município de Santa Maria -RS. In: **Congresso Brasileiro de**

Medicina Veterinária. Resumo, Gramado-RS. 2008. Disponível em: <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1040-2.pdf>>. Acesso em: 10/out/2013.

MACHRY, L; RIBEIRO,R.L; BRAZIL,J.M.V; PALASSIANO,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 *pulsedfield gel eletrophoresis***. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. vol.43, n.2, p.166-169, 08-abr, 2010.

MARCOLONGO-PEREIRA, C.; ADRIEN, M. L.; LADEIRA, S. R. L.; SOARES, M. P.; ASSIS-BRASIL, N. D.; SCHILD, A. L. Abortos em equinos na região Sul do Rio Grande do Sul: estudo de 72 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, p. 22-26. 2012.

MARTINS, G. & LILENBAUM, W. Leptospirosis in sheep and goats under tropical conditions. **Trop. Anim. Health Prod.** p.11–17, 2014.

MARTINS, G.; PENNA, B.; LILENBAUM, W. Differences between seroreactivity to leptospirosis in dairy and beef cattle from the same herd in Rio de Janeiro, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.377-378, 2012.

MORAIS. C. C .G.; KURODA, R. B. S.; PINHO, A. P. V. B.; YWASAK, F.; MENESES, A. M. C.; MARTINS, A. V.; JÚNIOR, J. M. A.; DIAS, H. L. T.; VASCONCELOS, S. A. A study of anti-*Leptospira interrogans* antibodies in horses bred on Algodual island, in the Brazilian State of Pará. **Revista de ciências agrárias**,Belém, v. 53, n. 2, p. 188-194, Jul/Dez 2010.

MUGHINI-GRAS, L.; BONFANTI, L.; NATALF, A.; COMIN, A.; FERRONATO, A.; PATREGNANI, T.; LUCCHESI, L.; MARANGON, S. A. A aplicação de um plano de gestão integrada para o controle da leptospirose em rebanhos bovinos leiteiros. **Epidemiol Infect**, v 142, n 6, p. 1172-1181,2014.

NATARAJASE ENIVASAN, K. & RATNAM, S. Isolation of *Leptospira Javanica* from sheep. **Indian J Anim Sci** .1999.

OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 6. ed. Paris: World Organisation for Animal Health, 1343 p. 2012.

OLIVEIRA, F. C. S.; AZEVEDO S. S.; PINHEIRO, S. R., BATISTA, C. S. A.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G. O.; GONÇALES, A. P.; VASCONCELLOS, S. A. 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.

PINNA, M.; H; VARGES, R.; LILENBAUM, W. Application of an integrated program of leptospirosis control in horses from Rio de Janeiro, Brazil. **R. bras. Ci. Vet.**, v. 15, n. 2, p. 63-66, maio/ago. 2008.

PINNA, M.; MARTINS, G.; FREIRE, I.; LILENBAUM, W. Seropositivity to *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associated to reproductive problems without significant biochemical or hematological alterations in horses. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2214-2217. 2010

PINNA, A. E. **Estudo sorológico, bacteriológico e molecular da leptospirose em éguas envolvidas em programa de transferência de embriões**. 2011. 100 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói.

PINHO, A. P. V. B; KURODA, R. B. S.; VASCONCELLOS, S.; NETO, J. S. F.; OSSADA, R.; SOUZA, V. A. F.; ROCHA, K. S. Serological study of brucellosis and leptospirosis in equines of island Maiandeuá (Algodual) state of Pará **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 6, p. 3221-3230, nov./dez. 2014.

PIRES NETO, J. A. S.; HESSE, F.; OLIVEIRA, M .A. M. Leptospirose equina: aspectos clínicos, tratamento, prevenção e levantamento sorológico. **Veterinária em Foco**, v. 2, p. 165-176, 2005.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1737 p. 2002.

SANTOS, W. R. R. **Investigação soroepidemiológica para brucelose e leptospirose em equídeos de tração e seus tratadores nos municípios de Belém e Ananindeua – Pará**. Belém: 2007. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Pará. Belém. 2007.

SANTOS, C. S.; GUEDES JUNIOR, D. S.; PEREIRA, R. C. G.; SANTOS, C. C. A.; CASTRO, V.; JESUS, V. L. T. Inquérito sorológico da ocorrência de leptospirose em equídeos da microrregião de Itaguaí no estado do Rio de Janeiro-RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 2, p. 96-100, 2012.

SANTOS, R. F. **Anticorpos contra *leptospira* spp e *brucella* spp. em equídeos da região sul do Brasil abatidos em matadouro-frigorífico, Jaboticabal-SP, Brasil.**

Jaboticabal. 2014. Dissertação (para obtenção do título de mestre em medicina veterinária preventiva)- Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP. 2014.

SARAVANAN, R.; RAJEDAN, P.; THYAGARAJAN, S. P.; SMYTHE, L. D. First report of human leptospirosis due leptospirosis interrogans serovar javanica in Indian. **Trans. R. Soc. Trop. Med .Hyg.** v. 92, n. 2, p 186. 1998.

SIQUEIRA, C. C. **Leptospirose equino: Estudo soroepidemiológico nas regiões Metropolitanas de Salvador e Recôncavo Baiano.** Salvador. 2012. Dissertação (para obtenção do título de mestre em medicina veterinária preventiva)- Universidade Federal da Bahia. 2012.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R. M.; CARDOSO, M. V. Detecção de agentes bacterianos pelas técnicas de isolamento e identificação e PCR – Multiplex em fetos bovinos abortados. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, n.1, p. 23-27. 2004.

TIZARD, I. R. **Veterinary Immunology an introduction.** the Ed. Saint Louis: Elsevier, 2009. 574 p.

WOHL, J.S. **canine leptospires. Compedium of Continuing Education Praticing Veterinarian.** v. 18, n. 11, p. 1215-1224. 1996.

VANASCO, N.B., SCHMELING M.F., LOTTESBERGER J., COSTA F., KO A.I. & TARABLA H.D. 2008. Clinical characteristics and risk factors of human leptospirosis in Argentina (1999-2005). **Acta Trop.** p.:255-258. 2008.

YASUDA, P.H.; SANTA ROSA, C. A. Correlação entre soroaglutinação e isolamento de leptospiras em cães. **Rev. Microbiol**, v. 12, n .2, p. 35-37, 1987.

ZAMORA J; RIEDEMANN S; TADICH N. A. A. serological survey of leptosirosis in sheep in chile. **Rev Latino am Microbiol.** V. 41, n. 2, p. 73-76, 1999.