



Isolamento e caracterização molecular de leptospira spp. a partir do tecido renal e do trato geniturinário de ovinos deslançados do semiárido brasileiro sub-projeto inquérito epidemiológico e isolamento de leptospira spp. a partir do tecido renal e do trato geniturinário de ovinos deslançados do semiárido brasileiro

Aline Ferreira da Silva¹, Clebert José Alves²

RESUMO

A leptospirose é uma enfermidade infectocontagiosa causada por bactérias do gênero *Leptospira* spp. com ampla distribuição mundial. Nos ovinos esta enfermidade causa elevados prejuízos econômicos devido aos problemas na esfera reprodutiva, 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 ovinos soropositivos para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp., bem como identificar os sorovares predominantes na região e isolar o agente. Foram analisados 78 soros de ovinos abatidos no Matadouro Público de Patos no período de agosto de 2012 à julho de 2015. 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 de 16.8 % (13/78), os sorovares mais frequentes neste estudo foram Autumnalis, Javanica, Patoc, Australis, Hardjobovis. Os títulos destes sorovares variaram de 100 à 400.

Palavras-chave: leptospira, ovinos, sorologia, isolamento.

Isolation and molecular characterization of *Leptospira* spp. from kidney tissue and genitourinary tract of sheep woolless the Brazilian semi-arid sub-project epidemiological survey and isolation of leptospira spp. from kidney tissue and genitourinary tract of sheep woolless the Brazilian semiarid

ABSTRACT

Leptospirosis is an infectious disease caused by bacteria of the genus *Leptospira* spp. with worldwide distribution. In sheep this disease causes high economic losses due to the problems in the reproductive sphere, besides 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 sheep to search for anti-*Leptospira* spp antibodies., As well as identifying the predominant serotypes in the region and isolate the agent. We analyzed 78 sera of sheep slaughtered in the Patos Public Slaughterhouse from August 2012 to July 2015. To verify the presence of anti-*Leptospira* antibodies, we used the Microscopic Agglutination Test test (MAT) using a battery with 24 serotypes as antigens, it was considered as positive agglutination of the sample showing less than 1: 100. The frequency was found in 16.8% (13/78), the most common serotypes in this study were Autumnalis, Javanica, Patoc, Australis, Hardjobovis. The titers of these serovars ranged from 100 to 400.

Keywords: leptospira, sheep, serology, isolation.

¹Aluna do Curso de Medicina Veterinária, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCA, PATOS, PB, E-mail: aline_ferreirabsf@hotmail.com

²Professor, Doutor, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCA, Patos, PB, E-mail: clebertja@uol.com.br

INTRODUÇÃO

O Brasil possui grande extensão territorial, oferecendo ótimas condições para a criação de ovinos, situado o Brasil entre os dez países possuidores dos maiores rebanhos dessa espécie no mundo. O efetivo ovino brasileiro é de aproximadamente 17.662 milhões de cabeças, onde a região Nordeste detém cerca de 60 % (9.566.968) do efetivo total (IBGE, 2011). Este crescimento pode ser explicado devido às inúmeras vantagens que esta criação oferece como, menor consumo alimentar, menor área de criação, facilidade no manejo e grande diversidade de produção (carne, leite e couro), tornando-se uma fonte de renda para os pequenos produtores.

As raças deslanadas como Santa Inês, Morada Nova e Somalis são as mais representativas no nordeste do país, devido ao seu potencial de adaptabilidade à região e seu desempenho produtivo satisfatório (BARROS et al., 2003). As criações na região nordeste vêm evoluindo ao longo dos anos de criações voltadas exclusivamente para a subsistência, para criações com maior absorção e implantação tecnológica (CARVALHO, R. B, 2007; MEDEIROS et al., 2005; NOGUEIRA FILHO, 2003), embora todo esse avanço as taxas de mortalidade e perdas reprodutivas ainda são altas o que acaba gerando perdas econômicas (FERNANDES, 2009).

Sendo importante neste contexto o estudo da leptospirose zoonose com ampla distribuição mundial que acomete a esfera reprodutiva, prevalente nas Américas e considerada endêmica na América Latina e no Caribe, com impacto na economia agropecuária. A ocorrência da leptospirose esta 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; ESCÓCIO et al., 2010).

Os hospedeiros adaptados ou de manutenção são altamente susceptíveis, cujo ciclo de infecção é perpetuado dentro da mesma espécie, usualmente por transmissão direta. Os sovares adaptados aos hospedeiros naturais favorecem a sua manutenção no meio ambiente, podendo atingir, por transmissão indireta, os hospedeiros incidentais, que são infectados de forma acidental, geralmente por espécie diferente. O principal impacto nos ovinos é o comprometimento do desempenho reprodutivo (VASCONCELLOS, 1993; VASCONCELLOS, 1987).

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(es) 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).

Embora tenha nos ovinos, incidência reduzida, a disseminação entre eles é um fato real e crescente, sendo agravado em propriedades que adotam atividades consorciadas com outras espécies animais (ARAUJO NETO, J.O 2005; LANGONI et al. 1995).

Teoricamente os ovinos, como qualquer outra espécie, pode se infectar por qualquer sorovar de *leptospira*, dependendo da situação epidemiológica do rebanho. Entretanto a leptospirose clinicamente aparente em ovinos está associada a alguns sorovares, como Pomona, Gippotiphosa,

Icterohaemorrhagiae, Serjoe e Hardjo (ZAMORA J, et al., 1999). Os ovinos são os animais domésticos considerados menos susceptíveis, porém sofrem a infecção das leptospirosas patogênicas, em muitos casos, a evolução é assintomática, podendo ocorrer em forma de surtos (CICCERONI et al., 2000).

A forma inaparente é mais comum, embora infectados não apresentem nenhum sinal da doença dificultando com isso o diagnóstico clínico e epidemiológico (RAFYI et al., 1967). 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, retorno de cio, abortamento nas ovelhas e anemia hemolítica nos cordeiros com morte na primeira semana de vida. (CICCERONI et al., 2000). A prevenção da leptospirose ovina deve se basear em ações que atuem diretamente sobre o animal, como a imunoprofilaxia, pela utilização de vacinas, controle de seus reservatórios, sejam os próprios animais infectados, bem como os roedores e o ambiente (FAINE et al., 1999).

No Brasil, pouco tem sido relatado sobre isolamento de leptospirosas e seu papel na etiologia da leptospirose, contudo, HIGINO et al. (2010) isolou amostras de leptospirosas do trato reprodutivo de ovinos abatidos no abatedouro do semiárido paraibano. Reforçando-se desse modo, o risco ocupacional dos magarefes envolvidos na lida com esses animais.

No presente estudo objetivou-se isolar e identificar *Leptospira ssp.* a partir do trato geniturinário de ovinos fêmeas deslanadas abatidas no matadouro público de Patos-PB, assim como determinar a frequência para leptospirose.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados para realização desta pesquisa, fragmentos do tecido renal, do trato geniturinário e soro sanguíneo de 78 ovinos fêmeas deslanadas destinadas ao abate no Matadouro Público de Patos-PB, entre o período de agosto de 2012 a julho de 2015.

Amostra

Rins e trato geniturinário

Para o isolamento do agente foram coletados 78 fragmentos de rins, 30 fragmentos de ovários, 30 fragmentos de úteros, 30 fragmentos de tubas uterinas, 62 fragmentos de bexigas e 50 urinas.

Os fragmentos foram retirados da cavidade abdominal tomando-se todos os cuidados usuais de assepsia, colocados em sacos plásticos com zip devidamente identificados com número e órgãos correspondentes, posteriormente acondicionados em uma caixa térmica com gelo e transportados ao Laboratório de Doenças Transmissíveis da UFCG/CSTR/ Patos-PB. No laboratório essas amostras foram distribuídas em meio de cultura EMJH com antibiótico após maceração utilizando seringas descartáveis para sucção e maceração do conteúdo, após a semeadura os tubos foram incubados à temperatura de 30°C e repicados para o meio Fletcher com leituras semanais em microscópio óptico de campo escuro, estes foram mantidos por um período de doze semanas para o meio Fletcher e oito dias para o EMJH, com o objetivo de verificar a presença de microorganismos com morfologia semelhante à *Leptospira* spp.

Soros Sanguíneos

As amostras de sangue foram coletadas no momento da sangria dos animais, utilizando tubos de 8 ml. Em seguida estas amostras foram identificadas e acondicionadas em caixa térmica, conduzidas ao Laboratório de Doenças Transmissíveis do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, campus de Patos-PB, onde foram centrifugadas à 3000 rpm durante dez minutos, feito o dessoreamento, foram congeladas a 20° C negativos. Em outro momento estas amostras foram submetidas ao teste de soroaglutinação microscópica (SAM) para o diagnóstico da leptospirose.

Meio de cultura Fletcher

Esse meio foi utilizado nas técnicas de isolamento e manutenção da bateria de antígenos, para a preparação de 500 ml, pesa-se 1,35g de substrato de Fletcher em um balão volumétrico, ao qual foram adicionados 500 ml de água destilada. Logo em seguida o meio foi autoclavado a 120°C por 30 minutos e enriquecido com 10% de soro normal estéril de coelho, previamente inativado a temperatura de 56°C em banho-maria por 1 hora.

Após a adição do soro de coelho, o meio foi submetido a uma nova inativação a 56°C por 1 hora. Em seguida, adicionou-se ao meio 2,5 ml do antimicrobiano 5-flúor-uracil ou ácido nalidixico. A distribuição do meio foi feita em tubos de ensaio de vidro de 16 X 150 mm com tampa rosqueável, em volume de 5 a 10 ml por tubo.

Meio de Ellinhausen, Mccullough, Jhonson e Harris (EMJH)

Esse meio foi utilizado nas técnicas de isolamento e no crescimento dos antígenos empregados na prova de soroprecipitação microscópica para o diagnóstico de leptospirose conforme as recomendações do fabricante (DIFCO). Pesou-se em um balão volumétrico de 1 litro, 1,15g de substrato de EMJH, 0,15g de peptona e 0,1g de extrato de carne e adiciona-se água destilada até a marca de 500 ml homogeneizando-o com movimentos circulares. Em seguida o meio foi autoclavado a 120°C por 30 minutos e enriquecido com 10% de soro normal estéril de coelho previamente inativado a 56°C em banho Maria por 1 hora (TURNER,1970).

Acrescentou-se ao meio 1 ml de piruvato de sódio, 1 ml de cloreto de sódio, 1 ml de cloreto de magnésio, 2,5 ml de L-Asparagina e 2,5 ml do antimicrobiano 5-flúor-uracil. Logo após foi autoclavado a 120°C por 30 minutos e em seguida distribuído da mesma forma descrita para o meio de Fletcher. Os tubos foram continuamente submetidos aos controles de esterilidade e crescimento (TURNER, 1970).

Diluyente

O diluyente que foi utilizado para a técnica de soroprecipitação microscópica foi a solução salina tamponada de Sorensen estéril (SANTA ROSA, 1970).

Leituras Macro e Microscópica

Leitura Macroscópica

Foram realizadas leituras macroscópicas, através da qual observamos se havia presença de contaminantes nos tubos semeados ou formações de anéis de turvação que indicam o crescimento de leptospirosas.

Leitura Microscópica

Essa leitura foi realizada com auxílio de microscópio com condensador de campo escuro, inicialmente as amostras foram acompanhadas e levadas para a capela estéril. Tomando-se os devidos cuidados assépticos, retiramos com o auxílio de uma alça de platina previamente flambada, uma gota de cada amostra sendo esta colocada na lâmina. A seguir a lâmina foi levada para ser examinada, percorrendo-se todo o campo da gota a procura de evidências de leptospirosas, para tal utilizamos as objetivas de 10X, 20X, e 40X.

As amostras só foram desprezadas após completarem 12 semanas sem que houvesse crescimento de leptospirosas, ou quando se verificou a presença de contaminantes.

Técnicas da Soroprecipitação Microscópica

O diagnóstico da leptospirose foi realizado pela técnica de soroprecipitação microscópica (GALTON et al., 1965; COLE et al., 1983), com uma coleção de antígenos vivos que incluiu 24 sorovares: Australis, Brastilava, Autumnalis, Celedoni, Castellonis, Bataviae, Canicola, Cynopter, Javanica, Patoc, Grippytyphosa, Hedmadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjobovis, Wolffi, Shermani, Tarrasovi, Ballum, Serjoe, Djasiman e Butembo. Os

sorovares foram utilizados com cinco a oito dias de cultivo no meio de EMJH, modificado e enriquecido com soro de coelho, asparigina, cloreto de cálcio e magnésio (TURNER, 1970;SANTAROSA,1970).Os soros foram triados na diluição 1:100 e os que apresentaram aglutinação maior igual a 50% foram titulados.

RESULTADO E DISCUSSÃO

No total foram amostradas 78 fêmeas, destas treze apresentaram anticorpos anti-*Leptospira* spp. na prova de soroaglutinação microscópica (SAM), revelando uma frequência de 16,8 % e títulos variando de 100 a 400 (Tabela 1). Nas reações sorológicas foram encontrados os sorovares, Autumnalis (5.1 %), Javanica (3.8 %), Patoc (3.8 %) Hardjobovis (2.5%) e Australis (1.6%).

Tabela 1. Sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentes e respectivos títulos em ovinos deslanados submetido ao abate no Matadouro Público de Patos-PB, no período de agosto de 2012 a fevereiro de 2015.

Sorovares	Títulos						Total (%)
	100	200	400	800	1600	3200	
Autumnalis	4	-	-	-	-	-	4 (5.1)
Javanica	3	-	-	-	-	-	3 (3.8)
Patoc	1	-	2	-	-	-	3 (3.8)
Hardjobovis	1	1					2(2.5)
Australis		1					1(1.6)
Total (%)	9 (11.8)	2 (2.5)	2 (2.5)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	13 (16.8)

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 variam de 3,5 á 100% no Brasil (COSTA et al., 2015; FARIAS et al., 2013; MARTINS et al., 2012; HIGINO et al., 2014; ALVES et al., 2012; AZEVEDO et al., 2004; HERMANN et al., 2004).

Demonstrando que fatores como a diferença climática, manejo sanitário, presença de reservatórios podem influenciar a permanência de leptospiros 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 dados publicados pela Aesa e Ipa 2014 a região semiárida vem sofrendo com o fenômeno da seca ficando com os índices pluviométricos bem abaixo do volume esperado, o que influencia diretamente na frequência de animais reativos para leptospirose, porém este não deve ser considerado como único fator na disseminação da enfermidade sendo importante associar outros fatores como, o tipo de manejo adotado pela propriedade, presença de áreas irrigadas, criações consorciadas e a susceptibilidade entre as raças como destaca Costa et al.(2014) em estudo desenvolvido com ovinos na região do semiárido paraibano.

O sorovar Autumnalis mais frequente neste estudo também foi encontrado com mais frequente por Alves et al. (2012); Higino et al. (2010); Costa et al.(2015) em estudos desenvolvidos com ovinos

no semiárido e cariri paraibano. Este sorovar tem como principais reservatórios os roedores (Faine et al. 1999) sendo considerados veiculadores para os ovinos. Outra hipótese é que este sorovar esteja adaptado aos caprinos e ovinos onde estes animais estejam atuando como reservatórios e favorecendo a contaminação entre espécies principalmente na região nordeste em que se tem o hábito da criação consorciada. Reforçando o risco de transmissão deste sorovar para os seres humanos e para outras espécies, este fato se fundamenta na afirmação de Saravanan et al. (2000), que isolou o sorovar *Autumnalis* de um paciente com leptospirose confirmada clinicamente, na área suburbana de Madras. É fundamental também resaltar a importância da produção de novas vacinas contra a leptospirose e a necessidade de inclusão de novos sorovares, visando à elaboração de vacinas mais efetivas e de imunidade mais duradoura uma vez que as comerciais abrangem uma quantidade mínima de sorovares.

O sorovar Javanica também encontrado nas reações aglutinantes desta pesquisa destaca o risco de contaminação dos ovinos através do contato com os animais silvestres, uma vez que este sorovar esta frequente em estudos sorológicos realizados nestas espécies (JÚNIOR et al., 2006). 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.

A presença de reações aglutinantes para o sorovar Patoc também foi encontrada em outras pesquisas realizadas na região (ALCINDO et al., 2010; HIGINO et al., 2010; SILVA et al., 2012; SANTOS et al., 2012). Embora este sorovar não cause a enfermidade, Delgado (2010) destaca a importância epidemiológica deste sorovar, pois apesar de raro, já foi isolado em casos clínicos em outras espécies animais (OMS, 2008), podendo também apresentar reações cruzadas com outros sorovares patogênicos, o que ressalva a possibilidade de infecção por sorovares patogênicos de *Leptospira* spp. nos animais testados.

Os sorovares Hardjobovis e Australis também encontrados neste estudo são sempre frequentes nos inquéritos sorológicos realizados com ovinos Herrmann et al. (2004); Lilenbaum et al (2009); Alves et al.(2012). Costa et al.(2015) encontrou sorovar Hardjobovis como mais frequente pesquisando em ovinos no semiárido paraibano, sendo importante destacar a possível adaptabilidade desta espécie a este sorovar e a possibilidade destes animais estarem atuando como reservatórios e fontes de transmissão para outras espécies.

Com relação ao isolamento de *Leptospira* spp. do total amostrado dezoito amostras apresentaram crescimento de microorganismo com morfologia semelhante a *Leptospira* (Tabela 2). No Brasil, são poucos os relatos de isolamento de leptospiros e seu papel na etiologia da leptospirose. Na Paraíba Higinio et al. (2010) isolaram *Leptospira* spp do trato reprodutivo de ovinos abatidos sem,

contudo, realização de tipificação dos isolados, estes fatos reforçam a necessidade da condução de estudos visando o isolamento do agente na região e a investigação de sua patogenicidade.

Tabela 2. Amostras positivas para o isolamento de *leptospira* spp. a partir do trato geniturinário de ovelhas abatidas no matadouro público de Patos-PB, com seus respectivos sorovares e títulos, entre o período de agosto de 2012 a julho 2015.

Amostras	Isolamento (sítios de localização estudados)						Soroglutinação microscópica	Sorovares Reagentes	Títulos de anticorpos
	TR*	TU*	O*	U*	B*	Urina			
1	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2	-	-	-	-	-	+	-	-	-
3	-	-	-	-	+	+	-	-	-
4	-	-	-	+	X	X	+	Australis	200
5	+	-	-	+	X	X	-	-	-
6	+	-	-	+	X	X	-	-	-
7	+	-	-	+	X	X	-	-	-
8	+	+	-	+	X	X	-	-	-
9	+	+	-	-	X	X	-	-	-
10	+	+	-	-	X	X	-	-	-
11	+	+	+	+	X	X	+	hardjovis	100
12	+	+	+	-	X	X	-	-	-
13	+	+	+	-	X	X	-	-	-
14	+	+	+	-	X	X	-	-	-
15	+	-	+	-	X	X	-	-	-
16	+	-	-	+	X	X	-	-	-
17	+	-	-	-	X	X	-	-	-
18	-	-	-	+	X	X	-	-	-
19	-	-	-	-	-	+	-	-	-

Positivas (+); Negativos (-) X = Sem Amostras.

*TR= Tecido Renal; TU= Tuba Uterina; O = Ovário; U= Útero; B = Bexiga.

Apesar de alguns títulos baixos na prova de soroglutinação microscópica não quer dizer que os animais não possam estar infectados e ou a bactéria não possa ser isolada, tanto Higino (2010) trabalhando com ovinos e Yasuda; Santa Rosa (1981) trabalhando com cães conseguiram isolar a *Leptospira* spp. com animais negativos no teste SAM.

Os ovinos reatores não apresentavam 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). Azevedo et al. (2004) relataram isolamento de leptospiros dos rins de ovelhas sem sinais clínicos de leptospirose na região Nordeste do Brasil, no entanto, as espécies não foram identificadas.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados, conclui-se que a infecção por *leptospiras* esta presente na região semiárida paraibana. 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.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Titula Clebert José Alves pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa e pelos ensinamentos, ao CNPq pela concepção da bolsa.

REFERÊNCIAS

Aesa. 2014. Monitoramento Pluviométrico. Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba (AESA). Disponível em <<http://site2.aesa.pb.gov.br/aesa/monitoramentoPluviometria.do?metodo=listarAnosChuva15sAnuais>> Acesso 03 nov. 2015.

ALCINDO, J. F. **Caracterização epidemiológica da leptospirose em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba**. Estado da Paraíba, Brasil. 2010. 36f. Monografia (para obtenção de grau em Médico Veterinário) – Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB.

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.

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.

Azevedo S.S., Alves C.J., Andrade J.S.L., Batista C.S.A., Clementino I.J. & Santos F.A. 2004. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Rev. Bras. Ciênc. Vet. 11(3):167-170.

BARROS, N.N.; SIMPLICIO, A.A.; CAVALCANTE, A.C.R.; BOMFIM, M.A.D. Influencia da raça Santa Inês sobre as características de carcaça de cordeiros da raça deslanadas. In: V CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA - ANAIS, Recife, 2003.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/ppm2010.pdf> >.Acessado em: fev. 2015.

CARVALHO, R. B. Potencialidades dos Mercados para os produtos derivados de caprinos e ovinos. Disponível em: <<http://www.capritec.com.br/art040521.htm>>. Acesso em 5 de fev de 2015.

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

COSTA. D, F; SILVA. A ,F;FARIAS. A, E; BRASIL. A, L; SANTOS. F, A; GUILHERME. R,F; AZEVEDO. S, S; ALVES. C, J. Serological study of the infection by *Leptospira* spp. in sheep and goats slaughtered in the State of Paraíba, semiarid of Northeastern Brazil. Semina: Ciências Agrárias. **Capa** > v. 36, n. 4 (2015).

DELGADO, P.M. **Detecção sorológica da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em peixes-bois (*Trichechus inunguis*) de dois centros de preservação da Amazônia brasileira.**2010. 67f.Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011

ESCÓCIO C.; GENOVEZ M.E.; CASTRO V.; PIATTI R.M.; GABRIEL F.H.L.; CHIEBAO D.P.; AZEVEDO S.S.; VIEIRA S.R. & CHIBA M. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP., Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo. 77(3):371-379. 2010.

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

FARIAS, A.E.M; HIGINO, S.S.S; AZEVEDO, S.S.; COSTA, D.F; SANTOS, F.A; CORREIA, E.L.B; SANTOS, C.S.A.B.S; ALVES, C.J. Epidemiological Evaluation of Reproductive Infectious Agents in Sheep in the Brazilian Semiarid. World Journal of veterinary science, v 1.p 8-12, 2013.

FERNANDES, C. E. Papel do ovino nacadeia epidemiológica da leptospirose pela *Leptospira* spp. sorovar Hardjo: fatores de risco que envolvem a infecção e transmissão entre ovinos e bovinos. Dissertação (para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) - Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. Estado de São Paulo, Brasil. 2009.

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 Buiatrics Congress, Nice –France, October 15-19, 2006.

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.

HIGINO, S.S.S., Azevedo S.S., Alves C.J., Figueiredo S.M., Silva M.L.C.R., Batista C.S.A. Frequência de Leptospirose em ovinos abatidos no Município de Patos, Paraíba. Arquivo Instituto Biológico, São Paulo, v.77, n.3, p.525-527, jul./set., 2010.

Higino S.S.S. & Azevedo S.S. 2014. Leptospirose em pequenos ruminantes: situação epidemiológica atual no Brasil. Arq. Inst. Biol. 81(1):86-94.

Ipa. 2014. Sessão de Índices Pluviométricos. Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). Disponível em <http://www.ipa.br/indice_pluv.php> Acesso 03 fev. 2015.

JUNIOR, M.F.S; Lobato, F.C.F; Moreira, E.C; Oliveira, R.R; Leite, G.G; Freitas, T.F; Assis, R.A. Presença de anticorpos da classe Ig M DE *Leptospira* Interrogans em animais silvestres no estado do Tocantins, Brasil. Revista da sociedade brasileira de medicina tropical, v39(3), p.292-294, 2006.

LILENBAUM, W.; VARGES R.; MEDEIROS L.; CORDEIRO A. G.; CAVALCANTI A.; SOUZA G. N. & RICHTZENHAIN L.; VASCONCELLOS S. A.. Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil, Research in Veterinary Science, 84:4–17. 2009.

Martins G., Penna B., Hamond C., Leite R.C., Silva A., Ferreira A., Brandão F., Oliveira F. & Lilenbaum W. 2012. Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. Trop. Anim. Health Prod. 44(4):773-777.

MEDEIROS, J. X.; SANO, E. E.; RIBEIRO, J. B. L. Cenário mercadológico da ovinocultura. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINO CULTURA, 4., 2005, Lavras. p 2-5.

NATARAJASEENIVASAN, K. and RATNAM, S., 1997. Cheiron 26: 80-83.

NOGUEIRA FILHO, A. Ações de fomento do banco do Nordeste e potencialidades da caprino-ovinocultura. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2. 2003. João Pessoa-PB. Anais. SANTOS, E.S.; SOUZA, W.H. (Eds.). João Pessoa-PB: EMEPA. 2003. p. 43-55.

OMS. Leptospirosis humana: guia para El diagnóstico, vigilância y control. **Organización Mundial de la Salud**, Rio de Janeiro, 127p., 2008.

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

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

SARAVANAN.R; RAJENDRAN.P; THYAGARAJAR.S,P; SMYTHE.L,D; NORRIS.M,S; SYMONDES.M,L; DONT.M,F. **Leptospira autumnalis isolada de um caso humano de Avadi, Índia e predominância do sorotipo em populações de ratos e bandicoot locais. Ann Trop Med Parasitol. Julho 2000; 94 (5): 503-6**

SILVA, R. C.; COSTA, V. M.; SHIMABUKURO, F. H.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; MENOZZI, B. D.; LANGONI, H. Frequency of *Leptospira* spp. in sheep from Brazilian slaughterhouses and its association with epidemiological variables. **Pesq. Vet. Bras.** v.32, n.3, p.194-198, 2012.

TURNER, L.H. Leptospirosis III. Maintenance, isolation and demonstration of leptospires. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* V.64, p.623-646, 1970.

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.

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.