

Frequência de aglutininas anti-*Leptospira* sp. em ovinos da microrregião de São João do Rio do Peixe, estado da Paraíba, Brasil

Frequency of anti-*Leptospira* sp. in sheep from the São João do Rio do Peixe microregion, Paraíba state, Brazil

Frecuencia de anti-*Leptospira* sp. en ovejas de la microrregión de São João do Rio do Peixe, estado de Paraíba, Brasil

Recebido: 03/04/2020 | Revisado: 04/04/2020 | Aceito: 15/04/2020 | Publicado: 15/04/2020

Rafael Dantas Lacerda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4129-0852>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: raphaell_lacerda@hotmail.com

Robério Gomes de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8617-5068>

Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Brasil

E-mail: roberio_igt@hotmail.com

José Emanuel de Souza Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1317-0856>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: emanuel_sales1995@hotmail.com

Joedson Pires Cavalcante

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8537-026X>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: joedsonmvpres@hotmail.com

Raimundo Alves de Oliveira Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8457-2457>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: raimundojr68@hotmail.com

Ruthyanna Camila Medeiros da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1296-3106>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: rjcamilasilva@hotmail.com

Willian Bonne Monteiro dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9599-5423>

Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, Brasil

E-mail: williamjrrodrigues2@gmail.com

Severino Silvano dos Santos Higino

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1784-7481>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: higinosss@gmail.com

Resumo

A leptospirose é uma doença de caráter infeccioso, que afeta tanto animais domésticos, quanto silvestres, além de ser uma importante zoonose. Na ovinocultura é responsável principalmente por causar problemas na esfera reprodutiva, como aborto, nascimento de crias fracas e prematuras, além de queda na produção. A espécie ovina não é refratária à doença, e os ovinos infectados podem permanecer no rebanho como amplificadores da infecção. Com base na deficiência de estudos sobre a presença da bactéria nos animais da região, o presente trabalho objetivou verificar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* sp. em ovinos na microrregião de São João do Rio do Peixe, estado da Paraíba, Brasil. Foram coletadas amostras de sangue de 50 animais, sendo o experimento conduzido entre os meses de dezembro de 2017 a fevereiro de 2018. O diagnóstico da leptospirose foi determinado pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM), utilizando-se uma coleção de 24 variantes sorológicas. A frequência encontrada foi de 2% dos animais, todas as reações ocorreram para o sorogrupo Pomona, que é mantida normalmente pela espécie suína. Esta transmissão provavelmente deu-se devido ao contato entre as espécies. Os resultados encontrados demonstram a necessidade da implementação de medidas preventivas, como por exemplo, evitar o contato com suínos e suas excretas, monitoramento sorológico dos rebanhos, limpeza e desinfecção das instalações e utilização de equipamentos de proteção individual, principalmente para as pessoas que trabalham em contato direto com esta espécie.

Palavras-chave: Epidemiologia; Ovinocultura; SAM; Zoonose.

Abstract

Leptospirosis is an infectious disease that affects both domestic and wild animals, in addition to being an important zoonosis. In sheep farming it is mainly responsible for causing problems in the reproductive sphere, such as abortion, birth of weak and premature offspring,

in addition to a drop in production. The sheep species is not refractory to the disease, and infected sheep can remain in the herd as amplifiers of the infection. Based on the lack of studies on the presence of the bacteria in the animals of the region, the present study aimed to verify the presence of anti-*Leptospira* sp. in sheep in the microregion of São João do Rio do Peixe, Paraíba state, Brazil. Blood samples were collected from 50 animals, and the experiment was conducted between December 2017 and February 2018. The diagnosis of leptospirosis was determined by the microagglutination test (MAT) technique, using a collection of 24 serological variants. The frequency found was 2% of the animals, all reactions occurred for the serogroup Pomona, which is normally maintained by the swine species. This transmission probably occurred due to the contact between species. The results found demonstrate the need to implement preventive measures, such as, for example, avoiding contact with pigs and their excreta, serological monitoring of herds, cleaning and disinfection of facilities and the use of personal protective equipment, especially for people working in direct contact with this species.

Keywords: Epidemiology; Ovinoculture; SAM; Zoonosis.

Resumen

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa que afecta tanto a animales domésticos como salvajes, además de ser una zoonosis importante. En la cría de ovejas es el principal responsable de causar problemas en la esfera reproductiva, como el aborto, el nacimiento de crías débiles y prematuras, además de una caída en la producción. La especie de oveja no es refractaria a la enfermedad, y las ovejas infectadas pueden permanecer en el rebaño como amplificadores de la infección. Basado en la falta de estudios sobre la presencia de la bacteria en los animales de la región, el presente estudio tuvo como objetivo verificar la presencia de anti-*Leptospira* sp. en ovejas en la microrregión de São João do Rio do Peixe, estado de Paraíba, Brasil. Se recogieron muestras de sangre de 50 animales, y el experimento se realizó entre diciembre de 2017 y febrero de 2018. El diagnóstico de leptospirosis se determinó mediante la técnica de aglutinación microscópica en suero (AMS), utilizando una colección de 24 variantes serológicas. La frecuencia encontrada fue del 2% de los animales, todas las reacciones ocurrieron para el serogrupo Pomona, que normalmente es mantenido por la especie porcina. Esta transmisión probablemente ocurrió debido al contacto entre especies. Los resultados encontrados demuestran la necesidad de implementar medidas preventivas, como, por ejemplo, evitar el contacto con los cerdos y sus excretas, el monitoreo serológico de los rebaños, la limpieza y desinfección de las instalaciones y el uso de equipos de

protección personal, especialmente para las personas que trabajan en contacto directo con esta especie.

Palabras clave: Epidemiologia; Ovinocultura; SAM; Zoonosis.

1. Introdução

O Brasil conta com um rebanho de aproximadamente 18.433.810 ovinos, dos quais a região Nordeste possui cerca de 63% (11.613.300) desse total (IBGE, 2017). Sendo uma importante fonte de renda para à região Nordeste, por ser uma alternativa econômica para produtores rurais das mais diversas regiões do país (Da Hora et al., 2013). Isto se deu devido à espécie apresentar um elevado grau de rusticidade e adaptação ao clima, sem contar na vantagem em relação ao baixo consumo de alimento e ao elevado potencial reprodutivo.

A criação dos ovinos na microrregião de São João do Rio do Peixe, estado da Paraíba é do tipo semiextensiva e familiar, onde os animais pastejam durante o período de abundância de alimento e no período de maior escassez são suplementados com alimentação volumosa ou concentrados no cocho ou piquete. Podendo ser silagem ou ramagem de plantas arbustivas ou arbóreas. No entanto, muitos proprietários são leigos e não recebem nenhuma orientação de como realizar o controle zootécnico e sanitário, assim como orientação sobre instalações, manejo e principalmente de como prevenir algumas patologias.

A ovinocultura é uma atividade desenvolvida por muitos criadores na região, perfazendo um rebanho atual de aproximadamente 3.890 cabeças (IBGE, 2017). Apesar desse potencial, ainda existe deficiência de práticas sanitárias ou manejo inadequado, as enfermidades infecciosas tornam-se um dos principais fatores na queda de produtividade (Martins; Castiñeiras, et al., 2009). Pois dentre estas, a leptospirose tem significativo destaque, por ser uma zoonose de ocorrência global. Por se apresentar de forma disseminada em todo o mundo, estudos afirmam que ela está diretamente ligada a perdas na pecuária, principalmente associada aos distúrbios de caráter reprodutivo nos animais de produção. Como por exemplo, abortamentos, nascimento de crias fracas e prematuras, além de queda na produção (Ellis, 2015).

A doença é causada por bactérias do gênero *Leptospira*, que pode acometer animais domésticos, silvestres e o homem. A infecção ocorre pelo contato direto ou indireto do hospedeiro com o agente causador da doença. Nos demais mamíferos entre eles a espécie humana, pode ocorrer à contaminação durante o manejo dos animais de forma direta ou devido à manipulação com secreções ou água contaminada, ocorrendo assim à transmissão

indireta. Isto se faz possível, pois alguns animais podem apresentar sintomas inespecíficos ou até mesmo não apresentarem sintomatologia, facilitando assim a transmissão. Com isto, se faz necessário o controle epidemiológico, diagnóstico e tratamento dos acometidos pelo patógeno.

A espécie ovina não é refratária à doença, podendo os animais infectados, permanecerem no rebanho como amplificadores da infecção. Devido a isto, o estudo sobre esta patologia é de grande importância, para que se tenha o conhecimento da casuística da doença, assim como a identificação dos sorogrupos circulantes na região.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi determinar a frequência de aglutininas anti-*Leptospira* sp. em ovinos, de pequenas propriedades na Microrregião de São João do Rio do Peixe, estado da Paraíba, Brasil.

2. Material e Métodos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa/CSTR/UFCG sob o protocolo CEP n°001-2017. A pesquisa caracteriza-se como um estudo observacional transversal (Thrusfield, 2007) de natureza quali-quantitativa (Pereira et al., 2018).

O estudo foi realizado em três propriedades de criação familiar do município de São João do Rio do Peixe, o qual está incluído no Semiárido brasileiro, localizado na Mesorregião do Sertão paraibano e dentro dessa na microrregião de São João do Rio do Peixe, entre os meses de dezembro de 2017 a março de 2018.

Foram coletadas amostras de sangue de 50 ovinos sem distinção de idade ou raça, não vacinados, sendo 13 machos e 37 fêmeas.

A colheita de amostras foi realizada posterior à contenção dos animais e o sangue foi coletado por punção da veia jugular utilizando agulha 40x16, sendo depositado diretamente em tubos de ensaio com capacidade para 10 mL, sem anticoagulante e devidamente identificados.

As amostras foram transportadas em caixa isotérmica com gelo e enviadas para o Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) no Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande (CSTR / UFCG) para realização do processamento.

2.1 Diagnóstico laboratorial

Após a coagulação do sangue, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos e os soros obtidos foram acondicionados em microtubos de 1,5mL (ependorf®) (Figura 2) e refrigerados a -20°C .

Para o diagnóstico foi utilizado o teste de soroaglutinação microscópica (SAM), prova de referência pela Organização Mundial da Saúde (OIE, 2018) de acordo com Galton et al. (1965). Foram utilizados como antígenos, 22 sorovares patogênicos e 2 saprófitos: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Andamana, Patoc e Sentot (Faine et al., 1999) mantidos em culturas em meio líquido de EMJH, 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 foi 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).

Cada amostra de soro foi diluída a 1:50 em solução salina tamponada de Sorensen (pH 7,4); 50 μL do soro diluído serão colocados em microplaca de poliestireno de fundo chato com 96 poços, e acrescentados de 50 μL do antígeno, obtendo-se diluição inicial 1:100. Cada amostra sorológica foi colocada frente à bateria antigênica com 24 sorovares. As microplacas serão incubadas em estufa bacteriológica a 28°C de duas a três horas. Soros reagentes na triagem foram 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 Sorensen (pH 7,4) e acrescentados de 50 μL do antígeno detectado como positivo na triagem, seguindo-se o procedimento anterior. As leituras foram realizadas em microscópio óptico com condensador de campo escuro seco, com lente objetiva 10x/0,20 e ocular 10 (100X), observando-se a formação de aglutinações. Na triagem, os soros na diluição de 1:100 que revelarem 50% ou mais leptospiras aglutinadas foram titulados frente aos respectivos antígenos. O título final foi à recíproca da maior diluição (≥ 100) que apresentar pelo menos 50% de leptospiras aglutinadas (Faine et al., 1999).

3. Resultados e Discussão

A ocorrência de animais soropositivos identificada neste estudo foi semelhante à observada por Schimidt et al., (2002), em ovinos no Rio Grande do Sul, por Azevedo et al., (2004), no estado do Rio Grande do Norte e por Amorim et al., (2016), na região centro-oeste do estado de São Paulo, que relataram frequências de 3,4%, 3,5% e 3%, respectivamente. Resultados superiores foram obtidos por Herrmann; Lage; Moreira (2004), na região sul do país; Alcino (2010), no estado da Paraíba; Higino et al., (2010), no matadouro público de Patos, PB; Aguiar et al., (2010), no município de Monte Negro, RO; Costa (2013), no município de Espírito Santos, RJ; Rizzo et al., (2014), no estado de São Paulo, Silva (2014), em Garanhuns, PE e Machado et al., (2016), no município de Recife, PE; que observaram, respectivamente, 34,26%, 5,41%, 7,5%, 33,3%, 78,26%, 22,8%, 5,19% e 19,5% de soropositividade.

De acordo com Alves et al., (2000), essas variações de resultados podem estar associadas a diversidade de fatores que influenciam a ocorrência da leptospirose, principalmente a respeito a topografia; região; temperatura; umidade; pluviosidade; reservatórios selvagens e domésticos e a outros fatores ambientais.

Alguns trabalhos evidenciaram a raça como fator de risco para leptospirose em pequenos ruminantes, em que foi observada maior susceptibilidade à infecção entre animais de raça pura do que em animais mestiços (Costa et al., 2018, Costa 2015, Silva et al., 2012, Santos et al., 2012).

À rusticidade desenvolvida pelos pequenos ruminantes da região estudada, pode ter contribuído para a baixa sororreatividade encontrada, conferindo a estes uma maior resistência a infecção. Dito isto, a seca não deve ser considerada como o principal fator responsável pela baixa sororreatividade encontrada no presente estudo. No semiárido do Nordeste do Brasil, mais de 90% do total do plantel correspondem os ovinos de raças mestiças (Cezar et al., 2004), possibilitando assim aos animais da região, uma maior resistência ao agente.

Para Azevedo et al., (2004), no estado do Rio Grande do Norte (Semiárido nordestino), chama atenção para o fato de ocorrer registros das leptospirosas sobreviverem fora dos hospedeiros independente das condições climáticas e de luminosidade adversas no ambiente. Segundo Torten (1979), embora exista a tendência de se relacionar altas precipitações com a ocorrência da doença, esta condição não é necessária para a manutenção

do agente e sua transmissão, mesmo em zonas áridas, bastando para tanto a introdução do portador.

Observa-se na Tabela 1 que dos 50 animais examinados pelo teste de soroglutinação (SAM), 1/50 foi positivo, resultando uma frequência de 2%.

Tabela 1- Distribuição de títulos de aglutininas anti-*Leptospira* sp. em ovinos criados na microrregião de São João do Rio do Peixe, estado da Paraíba, Brasil, positivos para o sorogrupo Pomona.

N amostral	Títulos			Positivos (%)	
	100	200	400		
Total (%)	50 (100%)	-	1	-	1 (2%)

Fonte: Arquivo pessoal

Neste estudo, a reação sorológica 1/1 (100%) ocorreu para o sorogrupo Pomona apresentando título 200. Segundo Silva et al., (2017), a espécie suína é seu mais importante reservatório. Portanto a ocorrência da *L. Pomona* encontrada neste estudo pode ser explicada pelo possível contato dos ovinos com suínos (Figueiredo et al., 2013; Lima, 1996). Embora a propriedade onde foi coletado sangue do animal sororeagente, não possuía criações de suínos, sabe-se que alguns desses animais foram adquiridos de outras propriedades, das quais não se buscou informação, de onde podem ter se originado esse contato.

Agunloye (2002) realizou um estudo onde se testou 575 pequenos ruminantes, entre ovinos e caprinos na Nigéria. Do total de animais examinados, 17,7% foram positivos para *Leptospira* sp. pelo método soroglutinação microscópica (SAM), sendo 23,5% ovinos e 13,1% caprinos. O sorogrupo predominante no estudo foi o Pomona, nas duas espécies. Neste caso, os animais tinham histórico de contato com a espécie suína.

Cabe destacar que, quase todos os animais utilizados neste experimento, exceto as matrizes, foram destinados ao consumo, reforçando a problemática em saúde pública, o que pode por em risco todos os envolvidos na cadeia produtiva da atividade, desde os criadores, magarefes, Médicos Veterinários até o consumidor final.

4. Conclusão

Os resultados encontrados neste estudo mostram indício da ocorrência de leptospirose em ovinos criados de forma semiextensiva na região estudada. Conclui-se que além da influência climática e ambiental, a adaptabilidade desses animais pode estar diretamente relacionada a baixa prevalência encontrada no presente trabalho. Também se fazem necessárias a implantação de medidas de controle, como por exemplo, evitar o contato com suínos e suas excretas, além da necessidade do monitoramento sorológico dos rebanhos com a utilização de um menor ponto de corte, uma vez que a espécie ovina apresenta resistência ao agente refletindo-se em baixos títulos séricos.

Referências

- Aguiar, D. M., Cavalcante, G. T., Vasconcellos, S. A., Souza, G. O., Labruna, M. B., Camargo, L. M. A.; Gennari, S. M.(2010). Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em ovinos do município de Monte Negro, estado de Rondônia. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77(3): 529-532.
- Agunloye, C. A. (2002). Leptospiral agglutinating antibodies in sheep and goats in South-west Nigeria. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 57(1): 28-30.
- Alves, C.J., Andrade, J.S.L., Vasconcellos, S.A., Morais, Z.M., Azevedo, S. S.; Santos, F.A. (2000). Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em cães no município de Patos – PB, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 7(2), 17-21.
- Amorim, R. M.; Nascimento, E. M.; Santarosa, B. P.; Dantas, G. N.; Ferreira, D. O. L.; Gonçalves, R. C.; Ullmann, L. S.; Langoni, H. (2016). Soroprevalência da leptospirose em ovinos da região Centro-Oeste do estado de São Paulo. *Veterinária e Zootecnia*, 23(2), 297-305.
- 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. *Revista Brasileira Ciência Veterinária*, v.11, n.3, p.167- 170. Disponível em: <<https://periodicos.uff.br/rbcv/article/view/7236>>. Acesso em: 08 abr. 2020.

Cezar, M. F.; Souza, B. B.; Souza, W. H.; Filho, E. C. P.; Tavares, G. P.; Medeiros, G. X. (2004). Avaliação de parâmetros fisiológicos de ovinos Dorper, Santa Inês e seus mestiços perante condições climáticas do trópico Semiárido nordestino. *Ciência e Agrotecnologia*, 28(3), 614 – 634.

Costa, P. C. (2013). Soroprevalência para *Leptospira* spp. em rebanhos caprinos e ovinos no Estado do Espírito Santo, relacionado com o sistema de manejo e sinais reprodutivos. 68 f. *Dissertação* (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.

Costa, D. F. (2015). Estudo sorológico e molecular da infecção por *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes no semiárido nordestino, Brasil. 2015. 66 f. *Dissertação* (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos.

Costa, D. F. et al. (2018). Susceptibility among breeds of sheep experimentally infected with *Leptospira interrogans* Pomona serogroup. *Microbial Pathogenesis*, 122, 79-83.

Da Hora, P. C.; De Freitas, A. A. F.; Plutarco, F. F. Ipiranga, A. S. R. (2013). O efeito potencial da transferência de conhecimento de processos biotecnológicos na cadeia produtiva da caprinovinocultura. *Organizações Rurais e Agroindustriais*, Lavras, MG, 15(1), 117-136.

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

Faine, S.; Adler, B.; Bolin, C.; Perolat, P. (1999). *Leptospira and leptospirosis*. 2nd ed. Melbourne: *Medical Science*, 272.

Figueiredo, Í. L.; Higino, S. S. S.; Alves, C. J.; Del Fava, C.; Carretero, M. E.; Azevedo, S. S. (2013). Interrelação entre frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e exames histopatológicos (Hematoxilina-eosina e Warthin-Starry) em suínos abatidos no semiárido paraibano. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 80(1), 27-34.

Galton, M. M., Sulzer, C. R., Santa Rosa, C. A.; Fields, M. J. (1965). Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Applied Microbiology*. São Paulo, 13(1), 81-85.

Herrmann, G. P.; LAGE, A. P.; Moreira, E. C. (2004). Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, 34(2), 443-448.

Higino, S. S. S.; Azevedo, S. S.; Alves, C. J.; Figueiredo, S. M.; Silva, M. L. C. R.; Batista, C.S.A. (2010). Frequência de leptospirose em ovinos abatidos no município de Patos, Paraíba. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 77(3), 525-527.

IBGE. Análise da PPM 2016: evolução dos rebanhos ovinos e caprinos entre 2007 e 2016. *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*, BRASIL. 2017. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/165838/1/CNPC-2017-Evolucao-do.pdf>> Acesso em: 07 jun. 2020.

Lima, P. C. R. (1996). Diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: exames laboratoriais em fêmeas suínas descartadas em frigoríficos e em reprodutores de granjas com e sem problemas de reprodução, durante o período de um ano. *Arquivos Faculdade de Veterinária*. UFRGS. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v31n7/a03v31n7.pdf>>. Acesso em: 07 jun. 2020.

Machado, A. C.; Oliveira, J. M. B. Júnior, J. L. S.; Assis, N. A.; Brandespim, D. F.; Mathias, L. A.; Mota, R. A.; Júnior, J. W. P. (2016). Epidemiologic analysis of *Leptospira* spp. infection among sheep in Pernambuco state, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, 83, 1-7.

Martins, F. S. V.; Castiñeiras, T. M. P. P. (2009). Leptospirose. Centro de informação em saúde para viajantes. Disponível em: <<http://www.cives.ufrj.br/informacao/leptospirose/lep-iv.html>>. Acesso em: 07 jun. 2020.

OIE. Leptospirosis. manual de testes de diagnóstico e vacinas para animais terrestres. (2018). World Organization for Animal Health. Paris. Acesso em 06 de abril, em <http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/> >.

Pereira, A.S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1. Acesso em: 04 Abril 2020.

Rizzo, H.; Gregory, L.; Beraldi, F.; Castro, V.; Morais, Z. M.; Vasconcellos, S. A. (2014). Soropositividade para leptospirose e desempenho reprodutivo de ovinos de criatórios localizados no estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, Rio de Janeiro, RJ, 36(3), 244-250.

Santos, J. P.; Lima-Ribeiro, A. M.; Oliveira, P. R.; Santos, M. P.; Ferreira, A. Jr.; Medeiros, A. A.; Tavares, T. C. (2012). Seroprevalence and risk factors for Leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 101-106.

Silva, R. C.; Costa, V. M.; Shimabukuro, F. H.; Richini-Pereira, V. B.; Menozzi, B. D.; Langoni, H. (2012). Frequency of *Leptospira* spp. in sheep from Brazilian slaughterhouses and its association with epidemiological variables. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(3), 194-198.

Silva, G. M. (2014). Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-Hantavirus em grupos ocupacionais do município de Garanhuns no estado de Pernambuco. *Dissertação* (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Silva, J. D.; Melo, D. H. M.; Correia, É. L. B.; Alves, J. R. A.; Costa, D. F.; Higino, S. S. S.; Azevedo, S. S.; Alves, C. J. (2017). Epidemiological characterization and risk factors associated with *Leptospira* infection in dogs from rural settlements in the semi-arid region of Northeast Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 38(4), 2531-2541.

Torten, M. Leptospirosis. IN: Steele, J. H.; Stoenner, H.; Kaplan, W. (Ed.). (1979). Handbook series in zoonosis. Seccion A: Bacterial, rickettsial and micotic diseases. CRC Press: *Boca Raton*, 363-421.

Thrusfield, M. (2007). Veterinary Epidemiology. 3rd ed. *Blackwell Science*, Oxford.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Rafael Dantas Lacerda – 30 %
Robério Gomes de Souza – 10 %
José Emanuel de Souza Sales – 09 %
Joedson Pires Cavalcante – 09 %
Raimundo Alves de Oliveira Júnior – 09 %
Ruthyanna Camila Medeiros da Silva – 09 %
Willian Bonne Monteiro dos Santos – 09 %
Severino Silvano dos Santos Higino – 15 %