



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Laís Ferrari dos Santos

**ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA LEPTOSPIROSE EM
MAMÍFEROS DOMÉSTICOS E SILVESTRES NA
MESORREGIÃO DO SÃO FRANCISCO PERNAMBUCANO**

Petrolina – PE
2016

LAÍS FERRARI DOS SANTOS

**ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA LEPTOSPIROSE EM
MAMÍFEROS DOMÉSTICOS E SILVESTRES NA
MESORREGIÃO DO SÃO FRANCISCO PERNAMBUCANO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, Campus Ciências Agrárias, como requisito parcial para obtenção do título Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Claudio Horta

Petrolina, PE

2016

	Santos, Laís Ferrari
S237e	Estudo soroepidemiológico da Leptospirose em mamíferos domésticos e silvestres na Mesorregião do São Francisco Pernambucano / Laís Ferrari Santos. --Petrolina, 2015. 82 f.: il.; 29 cm.
	Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Ciências Agrárias, Petrolina, 2016.
	Orientador: Prof. Dr. Mauricio Claudio Horta
	Referências.
	1. <i>Leptospira</i> . 2. Soroaglutinação microscópica. 3. Semiárido. 4. Silvestres I. Título. II. Universidade Federal do Vale do São Francisco.
	CDD614.55

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca SIBI/UNIVASF
Bibliotecário (a): Maria Betânia de Santana da Silva – CRB4-1747.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

FOLHA DE APROVAÇÃO

Lais Ferrari dos Santos

**ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA LEPTOSPIROSE EM MAMÍFEROS
DOMÉSTICOS E SILVESTRES NA MESORREGIÃO DO SÃO FRANCISCO
PERNAMBUCANO**

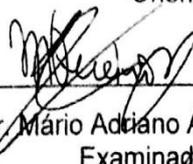
Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Ciência
Animal, pela Universidade Federal do Vale do
São Francisco .

Aprovado em: 29 de Setembro de 2016

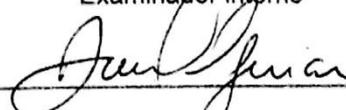
Banca examinadora



Prof. Dr. Mauricio Claudio Horta, UNIVASF
Orientador



Prof. Dr. Mário Adriano Ávila Queiroz, UNIVASF
Examinador interno



Prof. Dr. Daniel Moura de Aguiar, UFMT
Examinador externo

No fundo, alguma coisa me diz que vai dar tudo certo. Que os caminhos são tortos, mas a chegada é certa. Que há coisas bonitas esperando lá na frente, se a gente acredita. E eu acredito, vivo de acreditar. E acredito, que o que importa mesmo, não são as pedras que encontramos pelo caminho, mas sim, as flores que carrego comigo, dentro do meu coração.

Monalisa Macêdo

Dedico esse trabalho aos meus pais, Ademilton Alves dos Santos e Heloísa Helena Ferrari dos Santos, os quais tenho amor imensurável. Vocês que sempre apoiaram cada escolha tomada por mim, tudo o que sou hoje devo a vocês dois.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus primeiramente por ter me dado o dom da vida, sei que sem Ele a vida não teria sentido, não teria chegado até aqui, és quem me dá Fé e esperança para acreditar que sempre haverá um amanhã melhor, é quem me ajuda a caminhar com passos firmes nessa longa estrada. Ele sempre me ouve, acalma o meu coração quando encontra-se muito apertado e cheio de dúvidas, angústias e feridas. Sei que sabes o melhor para mim, e confio em ti de todo meu coração.

Aos meus pais Heloísa Helena Ferrari dos Santos e Ademilton Alves dos Santos, por serem essas pessoas maravilhosas que eu amo infinitamente, que com toda simplicidade cuidaram de mim, batalharam para me proporcionar um estudo de qualidade, e que sem dúvida alguma esse foi o melhor presente que poderiam me dar, sou eternamente grata por tudo que fizeram e fazem por mim.

Às minhas irmãs Ana Cristina e Juliana, obrigada por acreditarem em mim e por me apoiarem em cada escolha.

Agradeço aos meus tios Ana Maria e Osvaldo Matutino, que de alguma forma me ajudaram, quando precisei ir para São Paulo, finalizar as atividades do mestrado. Ao meu padrinho Francimar Ferrari, pessoa a qual sempre tento me espelhar, por toda sua competência e profissionalismo.

Às minhas queridas amigas Thamize, Monize, Monnaize, Laura e Terezinha, sem dúvida alguma vocês foram muito importantes nessa etapa da minha vida, pessoas que me apoiaram, me ouviram, torceram e que me deram força quando precisei. Em especial agradeço a Thamize, a advogada mais linda que conheço, amiga que sempre busquei ouvir os conselhos, pois sem dúvida sei que foi pensando no meu bem, e que com certeza serviram para o meu crescimento, muito obrigada amiga por me ajudar, sei que você é umas das amigas que mais torce pela minha felicidade, pelo meu sucesso, uma amiga muito presente em tudo. Obrigada.

Às minhas psicólogas Vattuzi e Mariana, obrigada por sempre estarem comigo, por mais que estejam distantes, tenho certeza que nunca deixaremos essa amizade acabar, sempre uma vibrando a felicidade e o sucesso da outra, adoro como vocês simplificam os problemas e a forma como encaram a vida, na naturalidade.

Ao professor e amigo João Alves, a quem tenho um enorme carinho, obrigada por todos os conselhos, incentivos, por se mostrar preocupado comigo, e principalmente pela sua amizade.

Ao meu orientador Prof. Dr. Mauricio Claudio Horta, obrigada por ter me dado essa oportunidade de trabalhar no mestrado contigo, por ter sido tão receptivo quando o procurei. Obrigada por todos os ensinamentos e oportunidades que me proporcionou. Sem dúvida, aprendi bastante e que tudo de certa forma contribuiu para meu crescimento.

Ao grupo PSDEC, Isabel, Mariana, Ivo, Josenilton e Naylla vocês foram nota 10, fico feliz em ver que conseguimos lidar com as dificuldades, como estresse, o cansaço, a sede, com muita superação e força de vontade.

Ao grupo do “Núcleo de estudos em Zoonoses do Vale do São Francisco” NEZOON, onde aprendi muito. A ajuda de cada integrante foi fundamental, sem vocês nada disso seria possível. Meu muito obrigada a Anne, Glauber, Elaine, Isabel, Ivo, Josenilton, Mariana, Naylla, Ana Maria, Andreina, Dália e Tássia.

Ao Prof. Dr. Marcos Bryan, e todos do Laboratório de Zoonoses Bacterianas, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), em especial a Gisele, Antônio e Nicolás, pessoas maravilhosas que me ensinaram muito.

Ao Professor Sérgio Santos de Azevedo da Universidade Federal de Campina Grande, pela elaboração da estatística do presente trabalho.

Ao Cemafauna, que ajudaram na identificação dos animais silvestres.

À Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), pela oportunidade da realização de mais uma etapa, ao programa de pós-graduação em Ciência Animal, aos professores, e a Rosinha pessoa incrível, amorosa e sempre muito receptiva.

À FACEPE pela concessão da bolsa (IBPG – 0309 – 5.05/14).

RESUMO

A Leptospirose é uma zoonose de grande importância no Brasil. Essa enfermidade provoca graves problemas reprodutivos nos animais de produção, e consequentemente gera grandes perdas econômicas para os produtores rurais. O presente trabalho objetivou realizar um estudo epidemiológico da Leptospirose nos municípios de Lagoa Grande e Petrolina, Estado de Pernambuco, situados na Mesorregião do São Francisco Pernambucano. No presente trabalho, foi realizada captura de animais silvestres e nas imediações do local, a colheita de sangue de animais domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos). A determinação da presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e dos sorovares mais predominantes em animais silvestres e domésticos foi realizada pela utilização da soroaglutinação microscópica (SAM). Foram utilizadas informações relevantes reconhecidamente de risco para Leptospirose, como hábitos de caça, presença de ratos, existência de áreas alagadiças acessíveis, problemas reprodutivos (abortos), destino de fetos abortados e placenta, contato com lixo, entre outros, para determinação dos possíveis fatores de risco para a Leptospirose no sertão Pernambucano. Dos 76 mamíferos silvestres capturados, foram identificados 38 roedores, pertencentes às espécies *Thrichomys apereoides* (30), *Wiedomys pyrrhorhinus* (3), *Galea spixii* (3) e *Calomys expulsus* (2), e dentre os 37 marsupiais foram identificadas as espécies *Gracilinanus agilis* (1), *Didelphis albiventris* (27) e *Monodelphis domestica* (9), e o carnívoro (1) era da espécie *Cerdocyon thous*, foi realizada a sorologia de 69 animais, pois 7 amostras coletadas foram insuficientes para realização do exame (< 100µL), no qual 8,69% (6/69) dos animais foram sororreagentes, sendo que todos eram da espécie *Didelphis albiventris*, com títulos variando de 400 a 1600. Quanto aos mamíferos domésticos, foi obtida uma soropositividade total de 11,22% (42/374), 5,47% (20/365), 9,25% (10/108) e 6,66% (2/30), para caprinos, ovinos, cães e gatos respectivamente, com títulos variando de 100 a 400 para caprinos, 100 a 800 para ovinos, 100 a 200 para cães e título de 100 para gatos. Os sorovares mais prevalentes para os caprinos, foram Icterohamerrhagiae 43,58%, Sentot 15,38% e Autumnalis 12,82%, para os ovinos foram Icterohamerrhagiae 36,84% (7/19), Castellonis 15,78% (3/19) e Wolffi 10,52% (2/19), para os cães foram Australis 33,3%, Butembo 22,2% e Patoc 22,2% e para os gatos Andamana 50% e Patoc 50%. Os resultados do presente estudo confirmaram, de forma inédita, a circulação da *Leptospira interrogans* nos mamíferos silvestres e domésticos, assim como também, a variedade de sorovares na região.

Palavras-chave: *Leptospira*. Soroaglutinação microscópica. Semiárido. Silvestres.

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonosis of great importance in Brazil. This disease causes severe reproductive problems in these livestock production and, therefore, generates great economic losses for farmers. This study aimed to carry out an epidemiological study of Leptospirosis in the municipalities of *Lagoa Grande* and *Petrolina*, Pernambuco State, located in the *Mesorregião do São Francisco Pernambucano*. The present study was conducted to capture wild animals and site vicinity, also domestic animals blood collection (goats, sheep, dogs and cats). The determination of the presence of anti-*Leptospira* spp. antibodies and the most prevalent serovars in wild and domestic animals was performed using the microscopic agglutination test (MAT). Relevant information were used as risk factors for Leptospirosis, such as hunting habits, presence of rats, the existence of accessible wetlands, reproductive problems (miscarriages), destination of aborted fetuses and placenta, contact with garbage, among others, to determine the possible risk factors for leptospirosis in Pernambuco hinterland. Of the 76 captured wild mammals, 38 rodents were identified belonging to the species *Thrichomys apereroides* (30), *Wiedomys pyrrhorhinus* (3), *Galea spixii* (3) and *Calomys expulsus* (2), and among the 37 marsupials were identified: *Gracilinanus agilis* (1), *Didelphis albiventris* (27) and *Monodelphis domestica* (9). Only a carnivore was collected: It was a *Cerdocyon thous*. It was performed the serology of 69 animals, seven samples were insufficient for performing the test (<100 ul), 8.69% (6/69) of the animals were seropositive, all were of the species *Didelphis albiventris*, with titles ranging from 400 to 1600. As for domestic mammals, was obtained an overall seropositivity of 11.22% (42/374), 5.47% (20/365), 9.25% (10/108) and 6.66% (2/30) to sheep, goats, cats and dogs, respectively, with titers ranging from 100 to 400 for goats, sheep for 100 to 800, 100 to 200 for dogs and for cats title 100 where the most prevalent serotypes for goats were Icterohamerrhagiae 43.58%, 15.38% Sentot and the Autumnalis 12.82%, for sheep were Icterohamerrhagiae 36.84% (7/19), Castellonis 15.78% (3/19) and Wolffi 10.52% (2/19) for dogs were Australis 33.3%, Butembo 22.2% and Patoc 22.2%, for cats Andamana 50% and Patoc 50%. Confirming an unprecedented way the circulation of *Leptospira interrogans* in wild and domestic mammals, as well as the variety of serotypes in the region.

KeyWords: *Leptospira*. Microscopic agglutination test. Semiarid. Wild.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Localização dos municípios de Lagoa Grande e Petrolina, Estado de Pernambuco. 35
- FIGURA 2 - Georreferenciamento das propriedades selecionadas para coleta dos animais domésticos em Lagoa Grande, PE. 37
- FIGURA 3 - Georreferenciamento das propriedades selecionadas para coleta dos animais domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos) em Petrolina, PE. 38
- FIGURA 4 - Georreferenciamento das áreas ambientais de captura dos mamíferos silvestres em Lagoa Grande e Petrolina, PE 39
- FIGURA 5 - Ilustração das aglutinações formadas nas titulações de 100 à 12.800. A - Título 100; B - Título 200; C - Título 400; D - Título 800; E - Título 1.600; F - Título 3.200; G - Título 6.400; H - Título 12.800. 45
- FIGURA 6 - Ilustração dos mamíferos silvestres capturados. Roedores: A - *Thrichomys apereoides*; B - *Calomys expulsus*; C - *Wiedomys pyrrhorhinus*; D - *Galea spixii*. Marsupiais: E - *Didelphis albiventris*; F - *Monodelphis domestica*; G - *Gracilinanus agilis orhinus*. Carnívoro: H - *Cerdocyon thous*. 50
- FIGURA 7 - Localização das áreas onde houve animais sororreagentes para Leptospirose em Lagoa Grande, PE. 53
- FIGURA 8 - Localização das áreas onde houve animais sororreagentes para Leptospirose em Petrolina, PE. 54

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Prevalência de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> e sorovares mais observados em animais de acordo com os estados brasileiros.	26
TABELA 2 - Sorogrupos e Variantes sorológicas empregadas como antígenos na reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM) realizada sob a forma microtécnica, segundo o código de identificação do laboratório.	43
TABELA 3 - Número de silvestres capturados nas áreas ambientais dos municípios de Lagoa Grande e Petrolina, Pernambuco.	48
TABELA 4 - Total de animais silvestres capturados, separados por espécie, município, datas e estações do ano.	49
TABELA 5 - A quantificação dos animais silvestres capturados e suas respectivas ordens e espécies.	49
TABELA 6 - Percentual de caprinos, ovinos, cães e gatos sororreagentes em Lagoa Grande e Petrolina, com títulos acima de 100.	52
TABELA 7 - Análise univariada, segundo as variáveis estudadas nos mamíferos silvestres amostrados.	56
TABELA 8 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em caprinos do sertão pernambucano.	57
TABELA 9 - Fatores de risco para anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em caprinos do sertão pernambucano, determinados por regressão logística múltipla.	58
TABELA 10 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em ovinos do sertão pernambucano.	59
TABELA 11 - Fatores de risco para anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em ovinos do sertão pernambucano, determinados por regressão logística múltipla.	60
TABELA 12 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em cães do sertão pernambucano.	61
TABELA 13 - Fatores de risco para anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em cães do sertão pernambucano, determinados por regressão logística múltipla.	61

TABELA 14 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de 62
risco para anticorpos anti-*Leptospira* em cães do sertão pernambucano.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SAM Soroaglutinação Microscópica

IM Intramuscular

IV Intravenoso

VO Via oral

SID Uma vez ao dia

BID Duas vezes ao dia

TID Três vezes ao dia

LISTA DE SÍMBOLOS

mg	Miligrama
Kg	Quilograma
U	Unidade
hab	Habitantes
Km	Kilometro
mm	Milímetro
rpm	Rotação por minuto
mL	Mililitro
µL	Microlitro
%	Porcentagem
p	Prevalência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	Etiologia	19
2.2	Epidemiologia	20
2.2.1	Cadeia de Transmissibilidade	23
2.2.2.1	Hospedeiros de manutenção ou Reservatórios	23
2.2.2.2	Modo de transmissão	27
2.3	Sinais clínicos	28
2.4	Diagnóstico	29
2.5	Tratamento	31
2.6	Controle e profilaxia	31
3	OBJETIVOS	34
3.1	Geral	34
3.2	Específicos	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Aspectos éticos do projeto	35
4.2	Áreas de estudo	35
4.3	Captura de mamíferos silvestres	40
4.4	Seleção dos mamíferos domésticos	41
4.5	Colheita de material biológico	41
4.5.1	Animais silvestres	41
4.5.2	Animais domésticos	41
4.6	Técnicas laboratoriais	42
4.6.1	Reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM)	42
4.6.1.1	Antígenos	42
4.6.1.2	Triagem	44
4.6.1.3	Titulação	44
4.6.1.4	Leitura e interpretação	44

4.7	Georreferenciamento	46
4.8	Questionário	46
4.9	Análise estatística	46
5	RESULTADOS	48
5.1	Mamíferos silvestres capturados	48
5.2	Mamíferos domésticos selecionados	51
5.3	Soroaglutinação Microscópica (SAM)	51
5.3.1	Animais silvestres	51
5.3.2	Animais domésticos	52
5.3.2.1	Caprinos	55
5.3.2.2	Ovinos	55
5.3.2.3	Cães	55
5.3.2.4	Gatos	56
5.4	Análise estatística das variáveis	56
5.4.1	Animais silvestres	56
5.4.2	Animais domésticos	56
5.4.2.1	Caprinos	56
5.4.2.2	Ovinos	58
5.4.2.3	Cães	60
5.4.2.4	Gatos	62
6	DISCUSSÃO	63
7	CONCLUSÕES	71
	REFERÊNCIAS	72
	APÊNDICE A - Questionário aplicado aos proprietários de cães e gatos.	79
	APÊNDICE B - Questionário aplicado aos proprietários dos rebanhos de caprinos e ovinos nas propriedades estudadas.	81

1 INTRODUÇÃO

A Leptospirose foi descrita pela primeira vez por Weil, no ano de 1886, em pacientes que apresentavam hemorragia, icterícia e nefrite, e Stimson foi o primeiro a visualizar *Leptospira* spp. em um corte de tecido renal no ano de 1907, porém somente em 1915 o agente foi cultivado, onde foi denominado por “*Spirocheta icterohaemorrhagiae*”. No Brasil Bentes, Aragão e McDowell, fizeram as primeiras publicações no ano de 1917. Durante muitos anos o rato foi considerado como único hospedeiro, contudo, um tempo depois a doença foi associada também a animais silvestres e domésticos (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009).

Leptospira spp., são bactérias finas e helicoidais (ADLER e MOCTEZUMA, 2010). Distinguidas de acordo com os sorovares ou sorotipos, com base em suas características antigênicas, onde os sorogrupos são formados por dois ou mais sorovares (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009).

A Leptospirose é uma zoonose de distribuição cosmopolita, a qual está disseminada em todos os continentes com exceção da Antártida (ADLER e MOCTEZUMA, 2010). Encontra-se presente em ambientes urbanos e no meio rural, em climas temperados e tropicais. O principal reservatório dessa enfermidade é o rato, no qual se apresenta como uma doença crônica assintomática, havendo colonização das *Leptospira* spp. nos túbulos renais, promovendo a excreção dessas bactérias através da urina. Acomete animais domésticos e silvestres, os quais também são considerados como hospedeiros de manutenção da doença. Em caprinos, ovinos, bovinos e suínos essas bactérias podem causar problemas reprodutivos (PICARDEAU, 2013).

Animais infectados que contaminam água, solo, alimentos com a urina, corrimentos uterinos e fetos abortados são considerados como fontes de infecção, sendo que a urina é a principal forma de contágio, visto que os mesmos podem excretar essas bactérias por longos períodos, mesmo estando clinicamente normais. Os animais silvestres também podem ser considerados como uma importante fonte de infecção para os animais domésticos. A porta de entrada para as bactérias ocorre por abrasões na pele ou mucosas, podendo ocorrer também infecções transplacentárias, mesmo que raramente (RADOSTITS et al., 2002).

Essa enfermidade acarreta em grandes perdas econômicas na atividade pecuária, uma vez que está muito relacionada com infecções fetais, gerando abortos, natimortalidade e nascimento de neonatos fracos (RADOSTITS et al., 2002). No nordeste, a produção dos pequenos ruminantes se caracteriza como uma atividade de grande importância econômica, social e cultural e promove o desenvolvimento do local (COSTA et al., 2008).

Nos cães os sorotipos mais comuns são Canicola e Icterohaemorrhagiae, provocando um quadro clínico de insuficiência renal aguda, podendo apresentar também vômitos ou fezes com coloração sanguinolenta, hemorragias e icterícia (LEFEBVRE, 2003). As manifestações clínicas no homem vão desde infecção inaparente até a forma ictero-hemorrágica, muito conhecida como “doença de Weil” (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009).

Segundo Higino et al. (2013), a Leptospirose é uma enfermidade prevalente no semiárido nordestino brasileiro, especificamente no Município de Monteiro, Estado da Paraíba, que possui um clima Tropical semiárido, com chuvas de verão. O período chuvoso ocorre de novembro à abril, e rebanhos de caprinos leiteiros nesse período, que possuem contato com ratos, apresentam prevalência maior, sendo um fator preocupante, pois a caprinocultura leiteira está crescendo no Brasil, principalmente no sertão nordestino. Portanto é de fundamental relevância incluir um programa de controle de roedores, com o intuito de reduzir a transmissão das *Leptospira* spp., diminuindo assim problemas reprodutivos nos caprinos.

A diferença de resultados obtidos nos estudos de prevalência da Leptospirose em caprinos pode estar relacionada a vários fatores que influenciam na ocorrência da infecção, como manejo que é utilizado, as condições climáticas e ambientais, os sorovares existentes na região, as espécies animais de contato e as oportunidades de infecção direta ou indireta. Dessa forma, devem ser implantadas medidas de controle e prevenção, para promover redução da infecção e consequentemente as perdas econômicas (HIGINO et al., 2012).

A Leptospirose encontra-se distribuída nas regiões do semiárido nordestino, e a realização de pesquisas para um melhor conhecimento a respeito da prevalência dessa infecção na população de animais (caprinos, ovinos, cães, gatos e animais silvestres) e os respectivos fatores de risco são fundamentais, para que sejam realizadas intervenções coerentes com a realidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiologia

A Leptospirose é causada pela espiroqueta do gênero *Leptospira*, pertencente à família *Leptospiraceae* (OIE, 2014). As quais eram classificadas apenas em duas espécies: *Leptospira biflexa* (não patogênica) e *Leptospira interrogans* (patogênica) (GOLDMAN e BENNETT, 2001). Visto que há o conhecimento de 14 espécies patogênicas (BRASIL, 2014), como *L. bogpetersenii*, *L. fainei*, *L. interrogans sensu stricto*, *L. meyeri*, *L. inadai*, *L. santarosai*, *L. guchii*, *L. weilii*, e *L. kirschneri*, onde esses microrganismos são classificados em 23 sorogrupos (QUINN et al., 2005). Possuindo mais de 250 sorovares (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

As sorovariedades que apresentam antígenos semelhantes, pertencem ao mesmo sorogrupo e essas bactérias sorologicamente idênticas, podem pertencer a espécies distintas (QUINN et al., 2005). Mesmo que uma espécie animal possa albergar diversos sorovares, cada sorotipo tem um hospedeiro preferencial. Sendo que no Brasil, os sorovares que estão relacionados com os casos mais graves da doença, são Icterohaemorrhagiae e Copenhageni (BRASIL, 2014).

Leptospira interrogans são bactérias gram-negativas, aeróbicas obrigatórias, pertencentes à ordem das *Spirochaetales* e que apresentam crescimento lento com tempo de geração em torno de 3 a 15 horas (ABGUEGUEN, 2014). Possui a forma helicoidal extremamente fina, flexíveis e móveis (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009), com tamanho aproximado de 0,1 a 0,2 μm de diâmetro e 6 a 12 μm de comprimento (NELSON e COUTO, 2010). Podem apresentar crescimento em vários meios de cultivo enriquecidos com soro de coelho (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012), ou soro albumina bovina (MURRAY et al., 2004). São delgados e espiralados, possuindo gancho em uma ou ambas as extremidades. Essas bactérias se deslocam através de flagelos periplasmáticos, e utilizam alcoóis e ácidos graxos como fonte de energia e carbono (MURRAY et al., 2004).

2.2 Epidemiologia

A Leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial, predominantemente na região tropical (RODRIGUEZ-VIDIGAL et al., 2014). É considerado um problema de saúde pública no mundo, devido sua alta incidência e letalidade e por suceder, principalmente, em populações urbanas que possuem uma renda baixa, que vivem em localidades com altas infestações de roedores, péssimas condições sanitárias e moradia precária (BRASIL, 2014a).

A infecção é subnotificada e transmitida dos animais ao homem. *Leptospira interrogans* é capaz de sobreviver por vários meses nos túbulos contornados do rim de animais assintomáticos (GOLDMAN e BENNETT, 2001). Geralmente as infecções apresentam-se de forma branda, sendo diagnosticada muitas vezes erroneamente como uma doença viral, portanto é uma doença subestimada (MURRAY et al., 2004).

Os dados epidemiológicos de casos humano e animal são insuficientes, existindo poucas informações sobre os estirpes circulantes, sendo um informe epidemiológico importante, principalmente para o desenvolvimento de novas vacinas (PICARDEAU, 2013). Devendo ser feita a notificação dos casos suspeitos isolados e dos surtos, o mais rápido possível, para o desenvolvimento das ações de vigilância epidemiológica (BRASIL, 2014). É uma doença “emergente”, visto que o contato do homem com os animais tem aumentado, assim como a introdução do mesmo no habitat dos animais silvestres (GUERRA, 2013).

A prevalência da Leptospirose é variável nas diversas localidades, devido a fatores que influenciam na ocorrência da infecção, como a região, topografia, umidade, temperatura, precipitação pluviométrica, reservatórios de animais domésticos, reservatórios de animais silvestres (gambás, raposas, roedores) e diversos outros fatores ambientais (ALVES et al., 2000). Segundo Lilenbaum et al., (2008), essa infecção é mais prevalente na região tropical, estando muito associada baixa assistência veterinária, ao clima, como também o tempo de pastejo dos animais.

Os casos clínicos são diagnosticados em maior quantidade no verão e no início do outono, com aumento de número de casos nos anos mais chuvosos. Nos países e em suas respectivas regiões, há uma variação quanto aos sorovares mais prevalentes (NELSON e COUTO, 2010).

Levantamentos sorológicos da Leptospirose canina em alguns países da África, como Costa do Marfim, Sudão e Gabão, demonstraram prevalente níveis de prevalência, mostrando-se endêmica para animais domésticos, e de grande preocupação para todas as espécies, inclusive o homem que compartilha do mesmo ambiente. De acordo com a diversidade de sorovares que foram detectados, há indício de uma ampla variedade de espécies animais reservatórios (ROQUEPLO et al., 2014).

Os surtos de epidemias nos países em desenvolvimento são associadas a inundações na estação chuvosa (GOLDMAN e BENNETT, 2001). No Brasil a incidência mostra-se mais elevada no período de janeiro a abril (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009), visto que a Leptospirose é endêmica, e nos períodos chuvosos torna-se epidêmica, principalmente nos maiores centros urbanos, devido a uma maior quantidade populacional de baixa renda em condições inadequadas de saneamento e uma elevada aglomeração de roedores infectados (BRASIL, 2012), sendo que o sorotipo mais prevalente no país, é o Icterohaemorrhagiae (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009).

No Estado de São Paulo, devido ao seu crescimento desordenado, muitos bairros apresentam problemas no saneamento básico, e condições ecológicas propícias para aumentar a população de roedores, que são os grandes portadores da Leptospirose, tornando o homem, o cão e outros animais domésticos susceptíveis de infecção e propagação desse microrganismo (YASUDA; SANTA ROSA; YANAGUITA, 1980).

A Leptospirose é uma doença endêmica em São Paulo. Um estudo realizado entre os anos de 1969 e 1997, registrou 9.335 casos da doença no homem, devido ao estado ser de clima tropical. Percebendo-se a importância do desenvolvimento de programas de vigilância, para que seja possível obter uma melhor compreensão da epidemiologia, facilitando o desenvolvimento e implementação de medidas de controle com eficácia (ROMERO; BERNARDO; YASUDA, 2003). Os sorovares mais observados no Estado de São Paulo são, Copenhageni, Canicola e Castellonis (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009).

Em estudo realizado no Zoológico municipal de Bauru, São Paulo, diante dos resultados obtidos de positividade dos mamíferos silvestres, foi possível perceber a necessidade de monitoramento sorológico contínuo e de aderir práticas de controle

da doença, para que não ocorra a disseminação desses microrganismos (LENHARO; SANTIAGO; LUCHEIS, 2012).

Em estudo epidemiológico da Leptospirose bovina e humana, realizado em propriedades de agricultura familiar na Amazônia Oriental Brasileira, município de Uruará/PA, a prevalência de Anticorpos-antileptospira em bovinos foi de 97% por propriedade. Foi relatado pelos proprietários, problemas de fertilidade (71,6%) e casos de aborto (65,7%), sendo que nenhum rebanho recebeu vacina contra a infecção, e apenas um proprietário tinha o conhecimento quanto a existência da vacina. A prevalência em humanos foi de 32,8% por núcleo familiar, sendo relatado a probabilidade do envolvimento dos animais silvestres na transmissão da infecção para o homem, devido ao diagnóstico do sorotipo Grippotyphosa (HOMEM et al., 2001).

Na cidade de Salvador, Bahia, foi desenvolvido um estudo nas imediações das residências, com captura de *Rattus norvegicus* (rato marrom), onde grande maioria apresentou-se infectados com *Leptospira interrogans*, sorovar Copenhageni, mesmo sorotipo isolado em pacientes humanos nos hospitais, notando-se dessa forma que esse roedor é o principal responsável pela alta contaminação do ambiente domiciliar, sendo uma das causas de transmissão durante os surtos epidêmicos (FARIA et al., 2008). Segundo Silva et al., (2003), a Leptospirose é subestimada em crianças de Salvador, Bahia, pois é semelhante a um resfriado comum, onde apresentam coriza, tosse e dores musculares.

Em um estudo realizado em Campina Grande, Estado da Paraíba, foi possível perceber que a população canina está exposta a vários sorovares de *Leptospira* spp., onde animais com idade superior a um ano, com origem em áreas de enchentes e sem raça definida, apresentam uma maior probabilidade de risco de infecção (BATISTA et al., 2005). No município de Patos-PB, a doença foi mais prevalente em cães sem raça definida e que possuíam contato com caprinos e/ou ovinos, estando expostos a vários sorovares, sendo que o mais relatado foi o Autumnalis, o qual é muito frequente na sorologia de pequenos ruminantes (AZEVEDO et al., 2011). Segundo estudo realizado por Alves et al., (2000), os maiores índices de cães sororreagentes em Patos-PB, são provenientes dos bairros periféricos, podendo estar associado aos problemas de infra-estrutura, como a coleta de lixo irregular, as falhas no saneamento básico, nível de instrução baixo e a falta de controle dos cães de rua.

Em Pernambuco a Leptospirose é muito prevalente, havendo muitos casos notificados. No período de 2001 a 2009, foram registrados 2.333 casos confirmados de Leptospirose, com 303 óbitos e letalidade de 13%. Além disso, essa infecção está relacionada a infraestrutura precária e a baixa condição socioeconômica da população (VASCONCELOS et al., 2012).

2.2.1 Cadeia de Transmissibilidade

2.2.2.1 Hospedeiros de manutenção ou reservatórios

Enquanto o homem é um hospedeiro acidental, os animais são hospedeiros essenciais para continuidade dos focos de infecção (BRASIL, 2002).

Algumas sorovariedades apresentam limitações quanto a distribuição geográfica, ademais, muitas variantes sorológicas encontram-se associadas a uma espécie específica de hospedeiro, o qual é designado como hospedeiro de manutenção e a infecção manifesta-se de forma moderada e o mesmo excreta *Leptospira* spp. na urina por tempo prolongado, sendo uma das principais fontes de contaminação do ambiente e conseqüentemente de transmissão para outras espécies animais, que são os hospedeiros incidentais, que possuem baixa suscetibilidade à infecção e que desenvolvem a doença de forma grave, não sendo transmissores eficientes para outros animais (QUINN et al., 2005). Os hospedeiros de manutenção são considerados como “reservatórios”, pois encontram-se adaptados a determinados sorovares (RADOSTITS et al., 2002).

Os portadores mais comuns são os roedores e em seguida os carnívoros silvestres, sendo que todos os mamíferos devem ser incluídos como possíveis hospedeiros desse agente (LEFERVRE, 2003).

As principais fontes de infecção para os seres humanos são os ratos de telhado (*Rattus Rattus*), ratos de esgoto (*Rattus norvegicus*) e os camundongos (*Mus Musculus*) (MAGALHÃES et al., 2006). O *Rattus norvegicus*, é o principal portador do sorovar Icterohaemorrhagiae, o qual é um dos mais patogênicos para os seres humanos. Também os suínos, equinos, bovinos e ovinos são considerados como reservatórios da Leptospirose, sendo potenciais transmissores para outras espécies animais, inclusive o homem (BRASIL, 2014). O cão tem grande importância

na transmissibilidade da leptospira para o homem, por possuir uma maior relação com os seres humanos, pois tem a capacidade de manter *Leptospira* spp. em seus rins por um longo período, podendo eliminar essas bactérias na urina sem manifestar nenhum sinal clínico, ou até mesmo após uma melhora clínica (MAGALHÃES et al., 2006; BENITEZ et al., 2010).

Segundo Jorge et al., (2012), o *Didelphis albiventris* (marsupial), é um hospedeiro reservatório da *Leptospira borgpetersenii*, sorotipo Castellonis, identificado em isolado de amostras de urina. A inclusão desse novo estirpe na Soroaglutinação Microscópica (SAM), resultou em um aumento significativo na detecção do anticorpo contra o gente, principalmente os cães, que apresentaram um aumento na frequência de anticorpo do soro ao exame de aglutinação e que possuem contato com essa espécie de animal silvestre nas áreas sub-urbanas. Em pesquisa realizada por Hidalgo e Sulzer, (1984), foram detectados seis novos sorovares em animais silvestres no Peru, isolados de gambás (*Didelphis marsupialis* e *Philander opossum*), denominados Huallaga, Luis, Machiguenga, Rioja, Rupa Rupa e Tingomaria.

Segundo Aguiar et al., (2010) a prevalência da enfermidade é mais elevada em cães do sexo masculino, com idade superior a 12 meses, pois os mesmos tiveram um tempo maior de exposição ao microrganismo, como também os cães que são alimentados com ração a granel têm uma probabilidade maior de se infectarem quando comparados aos que consomem uma dieta caseira, provavelmente devido ao armazenamento inadequado da ração.

Tuemmers et al., (2013), investigaram a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* de cães capturados nas rua de Temuco, Chile, o estudo apresentou prevalência de 21,3%, a partir de *Kit* comercial de ELISA. Em Buenos Aires, Argentina foi realizada uma pesquisa epidemiológica com cães domiciliados, e a prevalência foi de 57%, e os sorovares mais detectados foram: Canicola e Pyrogenes (RUBEL et al., 1997). Segundo Renaud et al., (2013), em uma pesquisa realizada na França, por meio de sorologia em cães, foi possível observar anticorpos contra os sorotipos Australis e Grippotyphosa.

Essa zoonose em gatos tem apresentado sorologia positiva em alguns estudos, com uma prevalência de até 35% em diferentes países, conseqüentemente a mesma não pode ser subestimada nessa espécie, e o sorogrupo sejroe, deve ser incluído nos testes sorológicos caso haja suspeita clínica de Leptospirose

(BEAUDU-LANGE e LANGE, 2014). Essa espécie geralmente apresenta a forma subclínica da doença, liberando o microrganismo no ambiente por períodos variáveis (NELSON e COUTO, 2010). Em um levantamento sorológico, comparando-se gatos saudáveis e com insuficiência renal, a soropositividade foi de 7,2% e 14,9%, respectivamente, onde os sorovares mais observados foram Pomona e Bratislava. Foi realizado também exame de PCR da urina de todos os felinos em estudo, e detectado uma positividade de 1,6% para os gatos saudáveis e 5,3% para os que se apresentavam com insuficiência renal, sugerindo que os gatos são potenciais transmissores da leptospira (RODRIGUEZ et al., 2014). Em um Hospital Veterinário em Quebec, no Canadá, foi realizado um inquérito sorológico da Leptospirose em gatos, onde houve 25% (10/40) de positividade, e o sorovar Bratislava foi observado em todos os animais sororreagentes (LAPOINTE; PLAMONDON; DUNN, 2013).

Segundo Topazio et al., (2015), a prevalência da Leptospirose em rebanhos de caprinos, em Santa Catarina foi de 35,47%, estando relacionado com o contato direto com ovinos e suplementação dos animais com concentrado.

Em pesquisas realizadas no município de Petrolina, pela Embrapa Semiárido nos caprinos do rebanho do Campo Experimental da Caatinga, obteve-se uma positividade de 15,67% (21/134) (LANDIM et al., 2012), sendo que a região apresenta um clima Tropical semiárido, com chuvas de verão, com início em novembro e término em abril (BELTRÃO et al., 2005). Em um estudo desenvolvido em Monteiro, Estado da Paraíba, dos 110 rebanhos de caprinos leiteiros examinados 48 apresentaram pelo menos um animal sororreagente (HIGINO et al., 2013), essa região possui as mesmas características do município de Petrolina, PE (BELTRÃO et al., 2005). Em uma outra pesquisa realizada em bovinos em Garanhuns, foi observado 47,63% de positividade para um ou mais sorovares de *Leptospira* spp., apresentando-se como uma enfermidade generalizada (OLIVEIRA et al., 2001), e essa localidade apresenta um clima quente e úmido, com regime chuvoso nos períodos de Outono e Inverno (FILHO et al., 2008).

Alguns trabalhos desenvolvidos no Brasil, que relatam a prevalência, e os sorotipos mais observados nas respectivas localidades e podendo ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1 - Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* e sorovares mais observados em animais de acordo com os estados brasileiros.

Espécie	Estado	Prevalência	Sorotipos	Referência
Silvestres	SP	19,5%	Copenhageni Pomona Castellonis	Corrêa et al. 2004
Silvestres	SP	83,3%	Pyrogenes Pomona Autumnalis	Lenharo; Santiago; Lucheis, 2012
Silvestres	MG	9,82%	Canicola IcterohaemorrhagiaeAndamana	Esteves et al., 2005
Roedores	SP	96%	Bratislava Cynopteri Butembo	Lenharo; Santiago; Lucheis, 2012
Cães	SP	21,56%	CanicolaIcterohaemorrhagiae Grippothyphosa	Yasuda; Santa rosa; Yanaguita, 1980
Cães	SP	15%	Copenhageni Canicola Hardjo	Mascoli et al., 2002
Cães	MG	13,1%	Canicola Ballum Pyrogenes	Magalhães et al., 2006
Cães	PB	20%	AutumnalisGrippothyphosa Butembo	Alves et al., 2000
Cães	PB	8,95%	Autumnalis Bratislava Australis	Alves et al., 2004
Cães	PB	21,4%	Autumnalis Copenhageni Canicola	Batista et al., 2005
Cães	SC	10,5%	Pyrogenes CanicolaCopenhageni Icterohaemorrhagiae	Blazius et al., 2005
Cães	RO	27,3%	Autumnalis Pyrogenes Canicola	Aguiar et al., 2007
Caprinos	RN	14,5%	Autumnalis AustralisIcterohaemorrhagiae	Araújo Neto et al., 2010
Ovinos	PB	5,41%	Autumnalis Andamana Sentot	Alves et al., 2012

2.2.2.2 Modo de transmissão

O homem pode se infectar diretamente ou indiretamente pelo contato com a urina de animais contaminados. A eliminação das *Leptospira* spp. na urina dos animais infectados pode durar longos períodos (meses/anos) ou até mesmo por toda a vida, porém depende da espécie animal e da variante sorológica envolvida (BRASIL, 2014a).

Os seres humanos se infectam pelo contato com solo, água e tecidos contaminados com urina de animais reservatórios, que invadem por pequenos abrasões na pele ou através das membranas mucosas e quando ingerido, penetra pelo trato digestório superior (TOROTORA; FUNKE; CASE, 2012). As leptospiras podem penetrar a pele íntegra, quando imersa em água contaminada por um tempo prolongado (BRASIL, 2012). Ocasionalmente a mordedura do rato pode infectar o homem (BRITO; DIAMANTE; LOMAR, 2009). Tendo sido relatada também a via transplacentária (NELSON e COUTO, 2010).

As leptospiras excretadas através da urina podem sobreviver por longos períodos no solo e água de superfície, na dependência da umidade, pH e da matéria orgânica. Visto que a transmissão da doença está extremamente relacionada a fatores de riscos ambientais (ESCÓCIO et al., 2010).

As bactérias excretadas na urina conseguem permanecer no ambiente por um período de até 6 meses, onde a temperatura ideal para o seu crescimento é de 28 à 32°C. Ressaltando que a urina alcalina, é capaz de excretar maiores quantidades de bactérias, quando comparado com a urina ácida, como a dos cães (GOLDMAN e BENNETT, 2001).

Cães errantes apresentam várias possibilidades de se infectarem, como pelo contato com a urina de animais infectados (bovinos, roedores sinantrópicos e silvestres) ou pelo contato com o ambiente contaminado (BENITEZ et al., 2010).

Os felinos domésticos são portadores crônicos e podem transmitir ao homem através da eliminação das *Leptospira* spp. na urina (BEAUDU-LANGE e LANGE, 2014).

2.3 Sinais clínicos

Os ovinos e caprinos geralmente são assintomáticos, mas a doença pode apresentar-se nas fêmeas gestantes com quadro clínico de aborto e icterícia hemorrágica (LEON-VIZCAINO; MENDOZA; GARRIDO, 1987). As cabras podem apresentar falhas reprodutivas, como abortamento, reabsorção embrionária e óbitos neonatais (MARTINS et al., 2012). Infecção causada pelo sorovar Hardjo em ovinos pode levar a um quadro clínico de agalactia, e outras sorovarietades, como Icterohaemorrhagiae, Pomona e Grippytyphosa podem causar doença grave em cordeiros, apresentando hemoglobinúria, anorexia e pirexia (QUINN et al., 2005).

As variantes sorológicas que mais acometem os cães e gatos são as Icterohaemorrhagiae e Canicola, onde nos caninos o sorovar Icterohaemorrhagiae provoca uma doença hemorrágica aguda ou falência hepática e renal subagudas e o Canicola nos filhotes pode causar uma infecção renal severa. Os canídeos domésticos também podem ser acometidos por outros sorovares, como Pomona, Grippytyphosa e Bratislava, que estão muito associados à ocorrência de aborto e infertilidade (QUINN et al., 2005). Cães com infecção subaguda podem apresentar depressão, febre, doença renal, doença hepática e síndrome hemorrágica, podendo ocorrer insuficiência renal anúrica ou oligúrica. Variando de acordo com o sorovar infectante. É possível ainda o desenvolvimento de um quadro de nefrite intersticial crônica ou hepatite crônica ativa. Os sinais clínicos mais frequentes são perda de peso, polidipsia, poliúria, ascite e sinais de encefalopatia hepática secundária à insuficiência renal (NELSON e COUTO, 2010).

Os dados clínicos da Leptospirose felina são escassos, porém segundo Beaudu-Lange e Lange, (2014), os gatos podem apresentar insuficiência renal crônica, descompensação cardíaca (taquicardia e sopro sistólico) e alteração dos linfonodos (poplíteo e inguinal).

No homem, a sintomatologia geralmente é apresentada após um período de incubação de 1 a 2 semanas, e inicialmente o quadro clínico é semelhante a uma gripe, com febre e mialgias (MURRAY et al., 2004). Pode ser observado também cefaléia, tosse, calafrios, hepatomegalia, esplenomegalia, dor torácica, dor à palpação abdominal difusa, hipersensibilidade muscular, rigidez da nuca, e/ou prostração. Alguns pacientes, embora mais raramente, podem apresentar icterícia, hemorragia, insuficiência renal, e/ou disfunção neurológica. Em mulheres gestantes,

pode ser manifestado o aborto espontâneo e crianças nascidas com a doença podem apresentar anomalias congênitas (GOLDMAN e BENNETT, 2001).

A insuficiência renal é a causa mais comum de morte em humanos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Alguns pacientes podem relatar também problemas no sistema respiratório, aumentando dessa forma o risco de óbito (PAPA e KOTROTSIOU, 2015). A ocorrência de hemorragia pulmonar está muito relacionada com receptores imunológicos e moléculas de adesão vascular, sendo que esse quadro clínico tem sido cada vez mais relatado nos últimos anos, não havendo nenhum tratamento para esta sintomatologia (BERNARDI et al., 2012).

Em uma pesquisa, investigaram o quadro clínico da Leptospirose em 15 homens adultos, com idade entre 60 à 78 anos, onde todos apresentaram febre, oligúria, sufusão conjuntival e hepatoesplenomegalia. Sendo também observado em alguns pacientes, icterícia, náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal, hipotensão, diátese hemorrágica, mialgia, epistaxe, hematúria, melena, envolvimento do pâncreas, doenças cardíacas (miocardite) e pulmonares (insuficiência respiratória e edema pulmonar) (GANCHEVA, 2013).

2.4 Diagnóstico

Diagnosticar a Leptospirose é de extrema importância para que seja possível realizar um tratamento eficaz e controlar surtos da doença. Consequentemente é necessário a realização de testes rápidos, que tenham uma boa precisão (PICARDEAU et al., 2014). Segundo Shah (2012), os testes rápidos que realizam a detecção de IgM e IgG, possuem uma especificidade baixa, podendo apresentar reação cruzada com outras doenças. Os exames mais realizados são: sorologia, teste de aglutinação, ensaio imunoenzimático (ELISA) e os testes rápidos (MUSSO e SCOLA, 2013).

Em estudos realizados na Malásia, utilizando *kits* da Leptorapide e VISITECT-Lepto, com soros na fase aguda da infecção, os dois testes apresentaram uma sensibilidade inferior a 35%, portanto ambos apresentam um diagnóstico limitado. Porém a VISITECT-Lepto apresentou-se com taxas mais elevadas quanto à especificidade. Provavelmente os antígenos utilizados nos kits não possuem uma reatividade ampla contra os anticorpos produzidos contra as estirpes da *Leptospira*

circulante na Malásia. Por conseguinte é fundamental o desenvolvimento de testes mais sensíveis que possam facilitar decisões clínicas imediatas (CHANG et al., 2014).

O teste de ELISA-IgM, é uma técnica específica e sensível, que possibilita detectar antígenos na primeira semana de infecção. Entretanto o exame deve ser realizado a partir do 7º dia do surgimento dos primeiros sintomas da doença (BRASIL, 2012).

A Soroaglutinação Microscópica (SAM), que mede o grau de aglutinação das *Leptospira* spp. por anticorpos aglutinantes no soro, e que pode distinguir variados sorovares, é considerado “padrão ouro” para a detecção da enfermidade (PICARDEAU et al., 2014; BRASIL, 2012). O teste avalia a capacidade de aglutinação das leptospirosas vivas, sendo fundamental o uso de um grande número de antígenos, pois o exame é realizado contra sorotipos distintos (MURRAY et al., 2004). É usado na identificação de anticorpos específicos, e para classificação dos sorovares isolados. Porém existe uma certa dificuldade em distinguir a doença recente ou antiga, pois os anticorpos surgem na primeira semana da infecção, atingem títulos máximos na terceira ou quarta semana e decaem, podendo permanecer por períodos que variam de meses a anos (BRASIL, 2012). Um resultado positivo corresponde a um aumento de quatro vezes no título de anticorpos, após 15 dias e o ponto de corte utilizado é na titulação de 1:100 (BHARTI et al., 2003).

A detecção direta das leptospirosas por microscopia de campo escuro não é um diagnóstico confiável e o isolamento dessas bactérias pode demorar meses para se obter um resultado satisfatório (MUSSO e SCOLA, 2013).

A reação em cadeia de polimerase (PCR) pode ser realizada na fase precoce da doença, sendo um teste confirmatório (MUSSO e SCOLA, 2013).

A combinação de testes como Soroaglutinação Microscópica (SAM), reação em cadeia de polimerase (PCR) da urina de animais sororreagentes, para a detecção direta do DNA dessas bactérias, é de extrema importância para reconhecimento dos animais portadores, assim como a realização de um melhor controle da leptospirose (LILENBAUM et al., 2009). A associação da PCR e SAM é importante, pois o teste de aglutinação é “padrão ouro”, e porque a reação de cadeia de polimerase pode muitas vezes detectar a doença recente (HUGONNARD, 2012).

2.5 Tratamento

A eficácia de muitos antibióticos que combatem a Leptospirose é limitada, porém em uma pesquisa realizada em hamsteres infectados com leptospira e que receberam tratamentos diversificados, como cloridrato de cefepima, ertapinem e norfloxacin foi possível perceber uma melhora, onde apresentaram uma diminuição de *Leptospira* spp. nos órgãos avaliados (fígado, rim, pulmão, coração, baço) e redução de lesão tecidual (ZHANG et al., 2014).

Os cães devem ser tratados com ampicilina (22mg/kg, IV – TID) ou com penicilina G (25.000 a 40.000u/kg, IM ou IV – BID). As penicilinas, como a amoxicilina, devem ser administradas por um período de duas semanas. A doxiciclina (2,5 a 5,0mg/kg, VO – BID) também pode ser administrada por duas semanas, após terapia inicial com penicilina, com intuito de promover a eliminação da fase de portador renal (NELSON e COUTO, 2010).

O tratamento em gatos pode ser realizado com doxiciclina (16mg/kg- SID), onde é possível obter uma melhora no estado geral do animal (BEAUDU-LANGE e LANGE, 2014).

Em caprinos pode ser feita a administração de estreptomicina em dose única de (25mg/kg) (MARTINS et al., 2012).

No homem pode ser feito a administração de doxicilina, ampicilina ou amoxicilina por via oral, nos casos mais brandos. Em contrapartida em pacientes com infecções mais graves, deve ser adotado um protocolo de antibióticoterapia com penicilina ou ampicilina por via endovenosa (MURRAY et al., 2004). Podendo ser administrado também doxiciclina ou tetraciclina, e para pessoas alérgicas a penicilina, pode ser feito o uso de cloranfenicol ou ceftriaxona (BRASIL, 2014).

2.6 Controle e Profilaxia

A educação e conscientização das comunidades rurais e urbanas sobre a Leptospirose e sua prevenção, através do controle dos roedores e adequado armazenamento do lixo são de extrema importância para diminuir os riscos de infecção (ALLWOOD et al., 2014; BATISTA et al., 2005). É de extrema necessidade o desenvolvimento de programas de controle de roedores, que visam eliminar esses

animais de forma direta, através de métodos químicos e mecânicos, por meio de raticidas e ratoeiras respectivamente (desratização) e modificação das características ambientais, com eliminação de fatores que propiciam o acesso desses animais a abrigo, água e alimento (anti-ratização). A educação em saúde, alertando a população sobre a distribuição da doença, suas formas de transmissão, as manifestações clínicas e as diversas medidas de prevenção, como limpeza e desinfecção com solução de hipoclorito de sódio das áreas contaminadas nos domicílios, armazenamento apropriado dos alimentos, destino adequado do lixo, e várias outras formas de prevenção também podem ser adotadas (ARAÚJO NETO et al., 2010; BRASIL, 2014). Porém tem sido difícil conseguir implementar as medidas de saneamento, principalmente nos países em desenvolvimento (BHARTI et al., 2003).

A realização de estudos sobre o isolamento do agente etiológico é extremamente importante para um melhor e mais aprofundado conhecimento da transmissibilidade da infecção entre animais silvestres, domésticos e o homem, para que assim, seja possível aplicar medidas específicas de controle, visto que as práticas de higienização das fazendas é uma das medidas mais eficazes para se obter o controle dessa infecção (SILVA et al., 2014).

No Brasil não existe vacina contra a Leptospirose disponível para uso no homem. A vacinação dos animais não impede a infecção, apenas evita que os mesmos adoeçam (BRASIL, 2012). Conseqüentemente é de fundamental importância identificar os sorovares que acometem os animais em cada região, para que seja possível produzir vacinas com eficácia e que estimule resposta imune prolongada nos hospedeiros, reduzindo a infecção em ovinos, por conseguinte evitando a ocorrência da doença nos rebanhos próximos e transmissão para os seres humanos (SALABERRY et al., 2011). Além disso, é necessário o isolamento e identificação das soroviedades locais para comprovar os achados da sorologia, para que seja possível a inclusão de novos sorovares nas bacterinas (MAGALHÃES et al., 2007). Segundo Melo et al. (2010), a melhor forma para controlar a infecção, é realizar a vacinação contendo os sorovares mais prevalentes da região.

A aplicação da vacina comercial inativada (Laptoven 10) que contém os sorovares bataviae, canicola, copenhageni, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae, pomona, pyrogenes, tarassovi e wolffi, com dose de reforço após 60 dias, aliada a um programa de medidas ambientais, que consiste no

controle de roedores e impedimento de acesso dos caprinos a áreas alagadiças, diminui drasticamente a incidência da Leptospirose no rebanho, melhorando os índices reprodutivos dos pequenos ruminantes (MARTINS et al, 2012).

Em estudo realizado com cães, foi provado que a vacina (Nobivac® L4) contendo cepas contra os sorogrupos Canicola, Icterohaemorrhagiae, Australis e Grippityphosa, possuem a capacidade de proporcionar após 12 meses, redução da doença, assim como da excreção desse microrganismo na urina e ocorrência de infecção renal (KLAASEN et al., 2014). Segundo Favero et al., (2002), o sorovar Copenhageni é o que mais tem sido isolado em cães no Brasil, portanto é de extrema importância sua inclusão nas bacterinas, que são usualmente produzidas com Canicola e Icterohaemorrhagiae.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Realizar um estudo epidemiológico da Leptospirose em mamíferos domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos) e silvestres (roedores, marsupiais e carnívoro) na Mesorregião do São Francisco Pernambucano.

3.2 Específicos

- Determinar a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em mamíferos domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos) e animais silvestres (roedores, marsupiais e carnívoro) pelo teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM);

- Caracterizar os sorovares da *Leptospira* spp. prevalentes na Mesorregião do São Francisco Pernambucano;

- Elaborar mapas Georreferenciados, sobre a ocorrência da infecção por *Leptospira interrogans* nos mamíferos domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos) e silvestres (roedores, marsupiais e carnívoro);

- Identificar fatores de risco para a Leptospirose na região em estudo.

4 MATERIAL E MÉTODOS

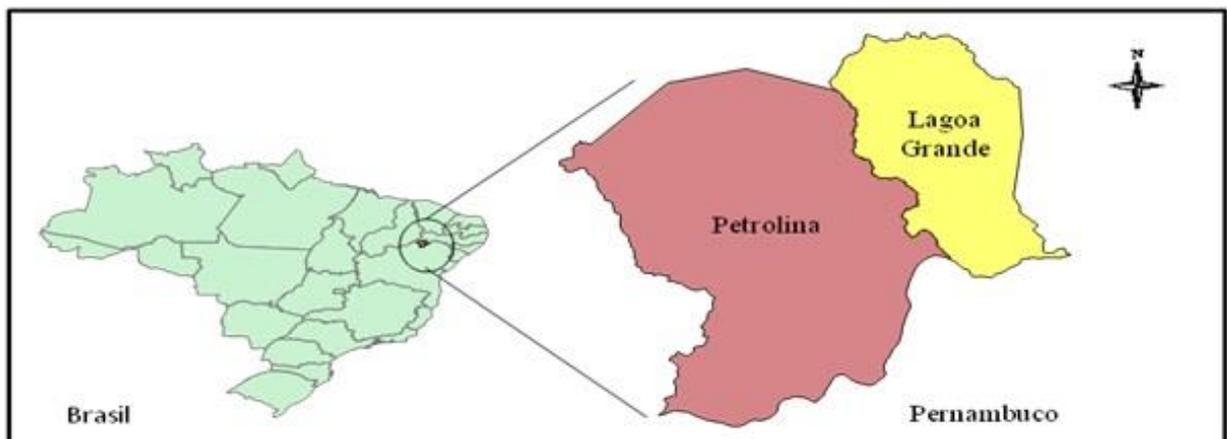
4.1 Aspectos éticos do projeto

O projeto com protocolo de nº 0026/140415 foi aprovado pelo Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas da Universidade Federal do Vale do São Francisco, com experimentação animal.

4.2 Áreas de estudo

O experimento foi desenvolvido nos municípios de Lagoa Grande e Petrolina, Estado de Pernambuco (Figura 1).

Figura 1 - Localização dos municípios de Lagoa Grande e Petrolina, Estado de Pernambuco. (Fonte: autor)



As localidades em estudo apresentam clima Tropical Semiárido, com chuvas de verão (entre novembro e abril), com precipitação média anual de 431,8 mm (BELTRÃO et al, 2005). A média do índice pluviométrico para Lagoa Grande, PE nos anos de 2014 e 2015 foi de 17,475 mm (com maiores índices nos meses de fevereiro, março e novembro) e 29,25 mm (concentrando-se nos meses de fevereiro, março, abril e dezembro) respectivamente. Para o município de Petrolina, PE a média do índice pluviométrico para o ano de 2014 foi de 43,225 mm com maiores precipitações nos meses de março, abril, novembro e dezembro e em 2015 foi de 16,26 mm, ocorrendo principalmente nos meses de fevereiro, março e abril (IPA, 2016).

O município de Lagoa grande está localizado no Sudoeste do Estado de Pernambuco, com 8°59'49,2" de longitude e 40°16'19,2" de latitude (BELTRÃO et al, 2005). Dispõe de um bioma Caatinga, uma área territorial de 1.848,928 km²; com 22.760 habitantes e densidade demográfica de 12,31 hab/km², e irrigado pelo Rio São Francisco (IBGE). Os ambientes de captura de animais silvestres foram escolhidos de forma a explorar ao máximo, áreas divergentes com caatinga arbustiva, caatinga arbórea e rochas, como: Nas proximidades do açude, após o açude (estrada) e em um riacho da Fazenda Tanque do Ferro (Área Militar de Treinamento da Caatinga) e na Fazenda Pajeú (Figura 4). As coletas de sangue dos animais domésticos foram realizadas em 21 propriedades, as quais se localizavam próximas às áreas de captura dos mamíferos silvestres: Fazenda Tanque do Ferro, Sítio Irará (Montanha), Sítio Irará I, Sítio Irará II, Sítio Irará III, Sítio Irará IV, Sítio Sucena, Fazenda Pau Ferro I, Fazenda Pau Ferro II, Fazenda Pau Ferro III, Fazenda Pajeú, Sítio São José, Sítio Recanto I, Sítio Recanto II, Sítio Cururupu, Rocinha, Fazenda Santana, Sítio Cacimba Nova I, Sítio Cacimba Nova II, Fazenda Jacú e Sítio Traíra (Figura 2).

Petrolina localiza-se a 9°23'55" de latitude e 40°30'03" de longitude (CNPMP, 2014). Apresenta uma extensa área territorial, com 4.561,872 km²; população humana de 293.962 habitantes e densidade demográfica de 64,44 hab/km² (IBGE). As capturas dos animais silvestres foram realizadas em 4 localidades distintas: Batalhão 72 BIM, Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco, Povoado do Capim (nas adjacências do Sítio Ouricuri) e em Pedrinhas (nas adjacências da Fazenda Boa Esperança) (Figura 2 e Figura 5). Sendo que as coletas dos animais domésticos foram executadas nas proximidades dos locais de apreensão dos mamíferos silvestres, em 17 propriedades, como: na Univasf, Sítio Ouricuri I, Sítio Ouricuri II, Fazenda Caixa d'água, Porto da Ilha, Fazenda Pedra, Sítio Pé da Serra, Sítio Jatobá, Sítio Capim, Sítio N2, Recanto do Chalé, Fazenda Boa Esperança, Batalhão 72 BIM, Sítio Caiçara I, Sítio Caiçara II, Serra da Caixa e Sítio Maria da Paz (Figura 3).

Os pontos escolhidos para a realização das coletas foi feito de acordo com a observação de cada área, para que fosse possível explorar a diversidade do bioma caatinga, e em virtude dos dois municípios não apresentarem opções para captura em pontos afastados geograficamente, as apreensões ficaram concentradas em uma única localidade, porém sempre buscando pontos dispersos.

Figura 2 - Georreferenciamento das propriedades selecionadas para coleta dos animais domésticos em Lagoa Grande, PE. (Fonte: autor)

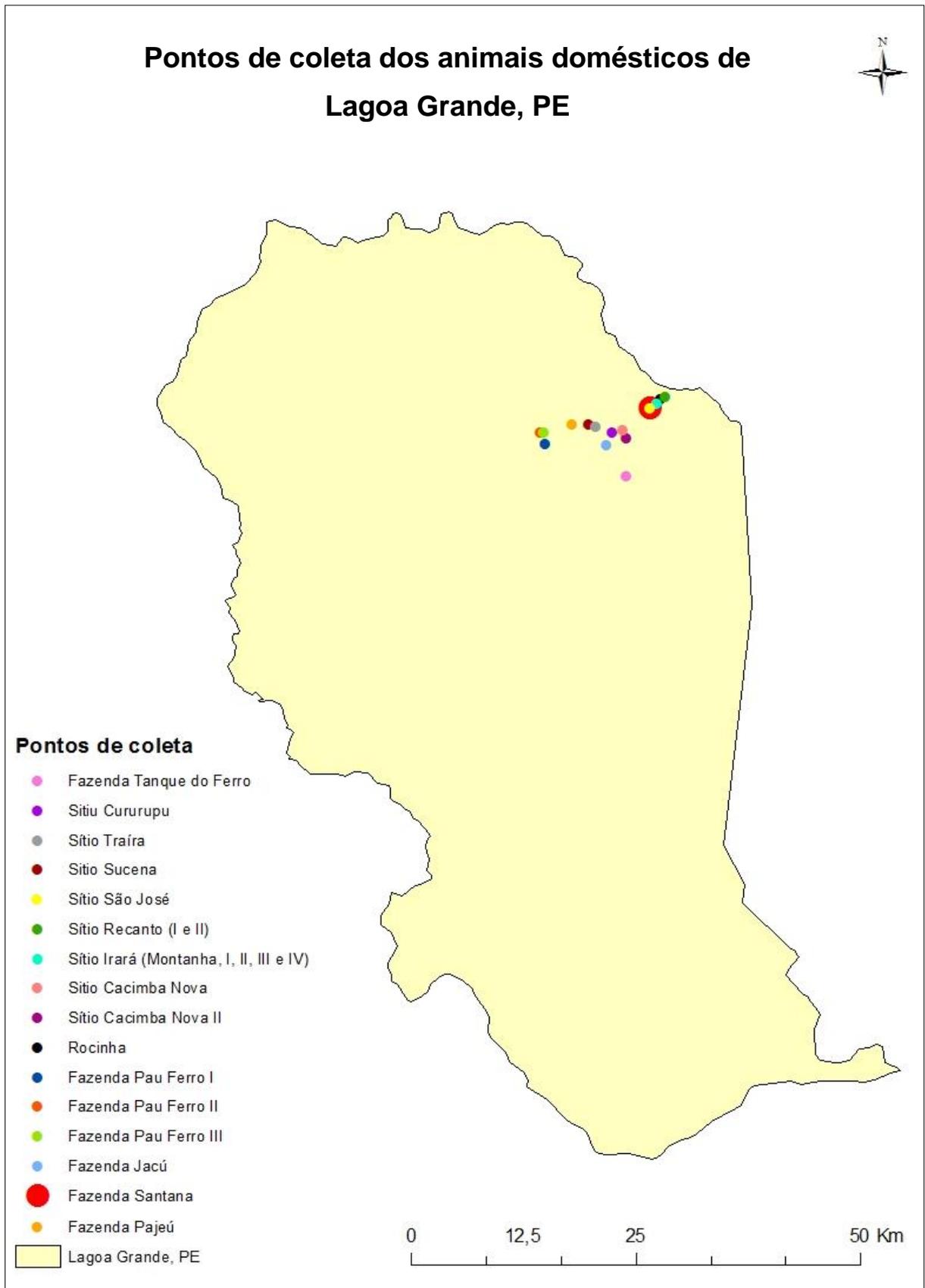


Figura 3 - Georreferenciamento das propriedades selecionadas para coleta dos animais domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos) em Petrolina, PE. (Fonte: autor)

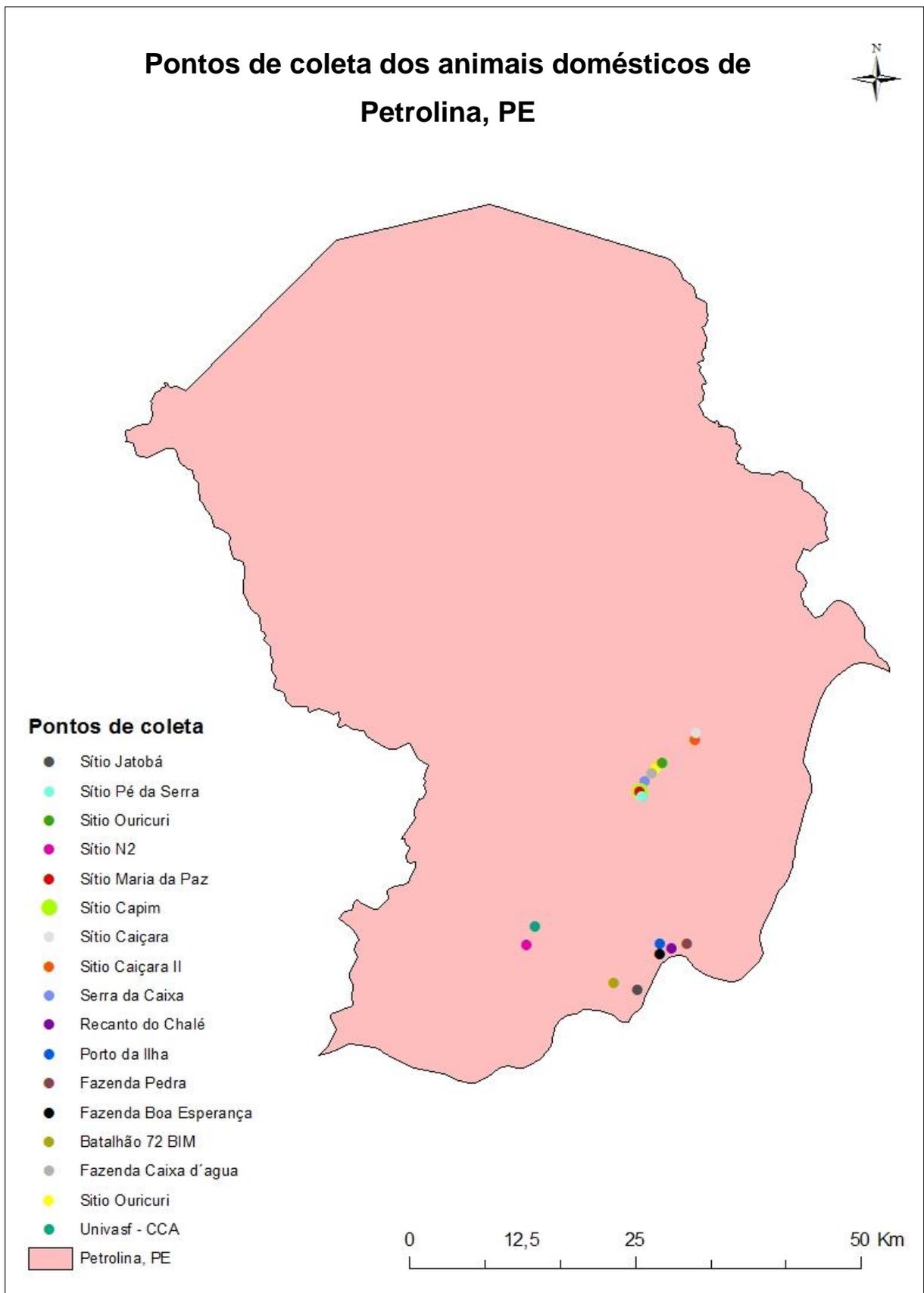
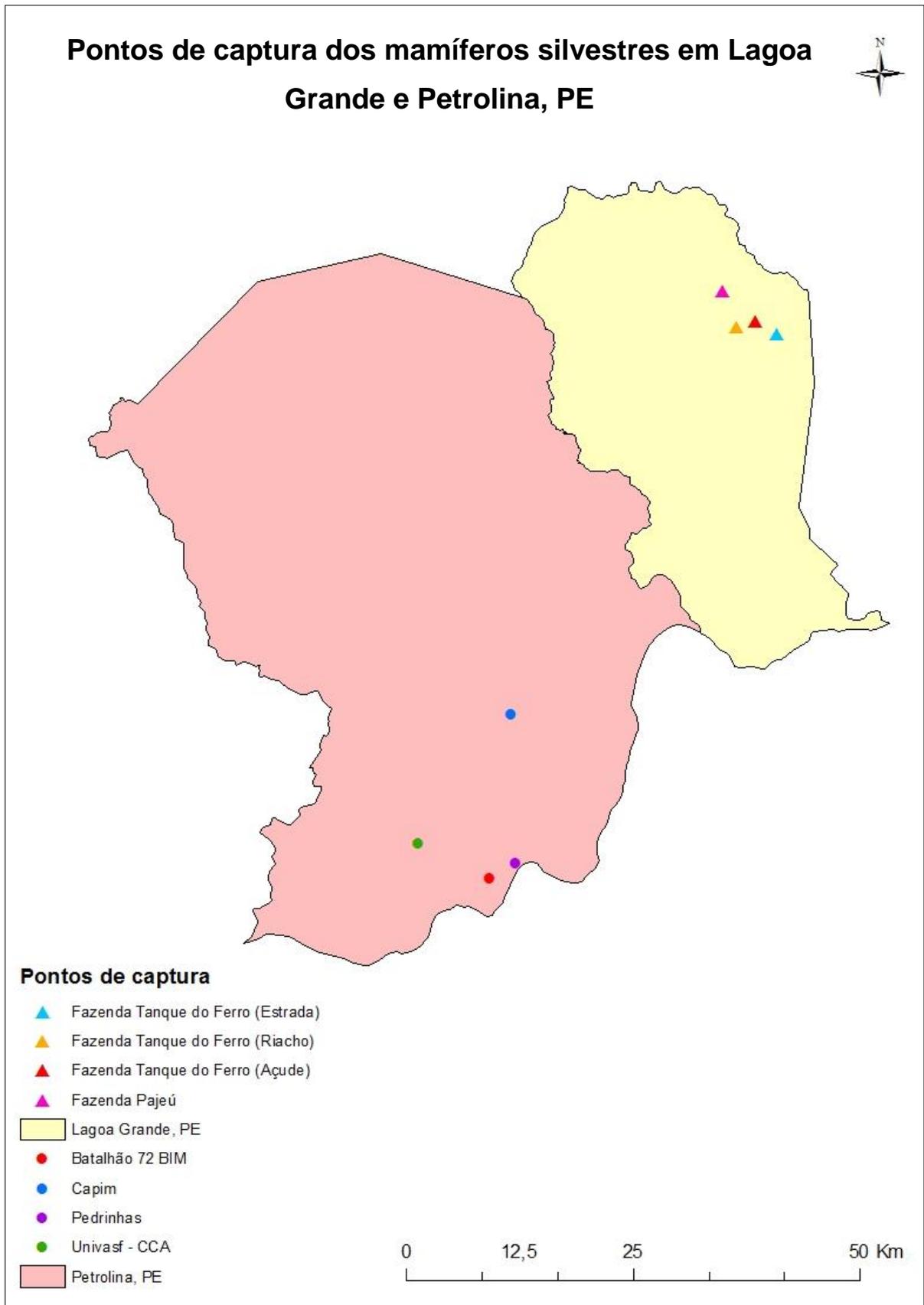


Figura 4 - Georreferenciamento das áreas ambientais de captura dos mamíferos silvestres em Lagoa Grande e Petrolina, PE. (Fonte: autor)



4.3 Captura de mamíferos silvestres

Foram realizadas quatro visitas, uma em cada estação do ano, com duração de 4 noites consecutivas à zona rural dos municípios de Lagoa Grande e Petrolina, Estado de Pernambuco, totalizando em 8 visitas e 32 noites, sendo que em cada local foi feita a visita em apenas um único período durante o estudo. Os locais escolhidos para a captura eram caracterizados por serem de mata fechada, portanto dispendo de sombra para proteger as armadilhas do sol e de possíveis chuvas.

Para a captura dos animais silvestres, foram utilizadas um total de 92 armadilhas de contenção física, do tipo “Tomahawk” (36), “Sherman” grande (28) e “Sherman” pequena (28), nas respectivas dimensões, 45 x 16 x 16 cm, 43 x 12,5 x 14,5 cm e 30x8x9 cm, sendo que as mesmas foram numeradas, identificadas, e distribuídas de forma intercalada e aleatória em vários pontos, onde os quais foram demarcados com fita zebreada para melhor identificação das armadilhas, sendo que as mesmas foram posicionadas linearmente, com distância de aproximadamente 10 metros, e iscadas com material a base de: farinha de milho, amendoim, sardinha enlatada, banana e abacaxi. No primeiro dia, as armadilhas foram montadas e distribuídas no final da tarde para se fazer a captura dos animais durante a noite e nas manhãs seguintes, foram vistoriadas, havendo a apreensão de animais, as armadilhas eram levadas para um ponto de apoio, para realização da colheita de material biológico, e as que não tivessem animais ou fosse feita recaptura, efetuava-se apenas a troca de iscas velhas por frescas.

O esforço e o sucesso de captura foram calculados de acordo com as respectivas fórmulas $EC=NA \times ND$ e $SC= NC/EC \times 100$, onde EC=esforço de captura; NA= número de armadilhas utilizadas; ND= número de dias de captura; SC= sucesso de captura; NC= número de capturas (SANTANA, 2006).

A identificação dos animais capturados foi efetuada de acordo com Bonvicino; Oliveira; D'Andrea (2008) e Brasil (2002).

4.4 Seleção dos mamíferos domésticos

As coletas dos caprinos, ovinos, cães e gatos, foram realizadas no período compreendido entre 31 de Agosto de 2014 à 6 de Maio de 2015, em propriedades adjacentes aos locais das apreensões dos animais silvestres, onde foram selecionadas um total de 38 propriedades.

4.5 Colheita de material biológico

4.5.1 Animais silvestres

Para a colheita de material biológico dos mamíferos silvestres, inicialmente foi realizado o procedimento de contenção física com auxílio de puçá e luvas, para que fosse executada a pesagem dos animais, em seguida foi feita a contenção química com aplicação intramuscular do anestésico cloridrato de quetamina (Dopalen®) na dose de 10mg/kg de peso corpóreo, e após a sedação foi realizada a colheita de sangue por venopunção intra-cardíaca em roedores e pequenos marsupiais, intra-caudal em marsupiais maiores e cefálica em carnívoro, com uso de seringas descartáveis de 3 mL e agulhas hipodérmicas (20x5,5mm), as amostras então foram colocadas em tubos sem anticoagulante. Após os procedimentos de colheita de sangue, os animais eram marcados, através de tricotomia dorsal dos pêlos, para que fosse possível evitar recapturas. Após completa recuperação da sedação anestésica, os animais foram soltos no mesmo local da captura. Os mamíferos silvestres foram fotografados com suas respectivas identificações, e as informações foram anotadas em fichas informativas, quanto à coordenada geográfica, espécie, sexo, peso, quantidade de anestésico utilizada e outras observações consideradas relevantes para o estudo.

4.5.2 Animais domésticos

As amostras de sangue dos caprinos e ovinos foram obtidas por venopunção da veia jugular, com agulhas 25 x 0,8 mm a vácuo, acopladas em tubos sem anticoagulante. O material biológico de cães e gatos foi colhido por punção da veia

cefálica, radial e/ou jugular com agulhas 25x0,7mm hipodérmicas acopladas a seringas descartáveis, sendo as amostras colocadas em tubos com anticoagulante.

4.6 Técnicas laboratoriais

As amostras de sangue foram centrifugadas a 3.600rpm, por 10 minutos, para uma melhor separação do soro e do plasma, acondicionados em microtubos de 1,5 mL, identificados e armazenados a uma temperatura de -20°C para posterior diagnóstico sorológico.

4.6.1 Reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM)

As amostras dos animais domésticos e silvestres foram avaliadas através da Soroaglutinação Microscópica (SAM), teste de referência pela Organização Mundial da Saúde - OMS, sendo realizada a mensuração das aglutininas em todas as amostras sorológicas, no Laboratório de Zoonoses Bacterianas, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), da Universidade de São Paulo (USP). Foram considerados soros positivos aqueles que apresentaram aglutinação na diluição igual ou superior a 1:100.

4.6.1.1 Antígenos

Foram utilizadas culturas vivas de *Leptospira* spp., um total de 24 sorovares, apresentados na Tabela 2. As culturas dessa bactéria foram acondicionadas em meio líquido de EMJH modificado (ALVES, 1996) suplementado com enriquecimento de *Leptospira* EMJH. O meio de cultivo (10mL) foi inserido em tubos de ensaio e as culturas foram incubadas a 28°C em estufa bacteriológica. Com posterior análise dos meios no dia seguinte, para verificar possibilidades de contaminação. Não havendo contágio dos meios de cultivo, os mesmos eram utilizados para a cultura dos sorovares (repique de 1mL do sorovar em 10 mL do meio). As culturas que se apresentavam turvas ao serem agitadas, eram consideradas apropriadas para uso na rotina do teste sorológico e as que apresentavam floculações e não possuíam a turvação, eram consideradas contaminadas e descartadas.

Tabela 2 - Sorogrupos e Variantes sorológicas empregadas como antígenos na reação de Soroaglutinação Microscópica (SAM) realizada sob a forma microtécnica, segundo o código de identificação do laboratório.

Código	Gênero	Sorogrupo	Variante Sorológica
1A	<i>Leptospira</i>	Australis	Australis
1B	<i>Leptospira</i>	Australis	Bratislava
2A	<i>Leptospira</i>	Autumnalis	Autumnalis
2B	<i>Leptospira</i>	Autumnalis	Butembo
3	<i>Leptospira</i>	Ballum	Castellonis
4A	<i>Leptospira</i>	Bataviae	Bataviae
5	<i>Leptospira</i>	Canicola	Canicola
6	<i>Leptospira</i>	Celledoni	Whitcombi
7	<i>Leptospira</i>	Cynopteri	Cynopteri
8	<i>Leptospira</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa
9	<i>Leptospira</i>	Hebdomadis	Hebdomadis
10A	<i>Leptospira</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
10B	<i>Leptospira</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
11	<i>Leptospira</i>	Javanica	Javanica
12	<i>Leptospira</i>	Panama	Panama
13A	<i>Leptospira</i>	Pomona	Pomona
14	<i>Leptospira</i>	Pyrogenes	Pyrogenes
15A	<i>Leptospira</i>	Sejroe	Hardjo (hardjoprajitno)
15B	<i>Leptospira</i>	Sejroe	Wolffi
16	<i>Leptospira</i>	Shermani	Shermani
17	<i>Leptospira</i>	Tarassovi	Tarassovi
18	<i>Leptospira</i>	Andamana	Andamana
20	<i>Leptospira</i>	Seramanga	Patoc
St	<i>Leptospira</i>	Djasiman	Sentot

4.6.1.2 Triagem

Cada amostra (soro) foi diluída em tubos de ensaio previamente identificados, na proporção de 1:50, onde em cada tubo colocou-se 0,1mL da respectiva amostra de soro, acrescentando-se 4,9 mL de solução salina tamponada de Sorensen. Os sorovares primeiramente foram analisados quanto ao seu aspecto, sendo que os tubos de cultivo agitados e que formavam turvação eram considerados os melhores para serem usados no teste sorológico, então após análise das *Lepstopira* spp., os antígenos foram diluídos na proporção de 1:1. Destas diluições sorológica e antigênica, foram retirados 50µL de cada amostra diluída e distribuídos em 24 poços de uma microplaca, e adicionado 50µL de cada antígeno correspondente para atingir uma nova diluição de 1:100. Essas microplacas ficaram em incubadas por 2 horas a temperatura ambiente, para que houvesse a reação antígeno-anticorpo e consequente formação de aglutininas.

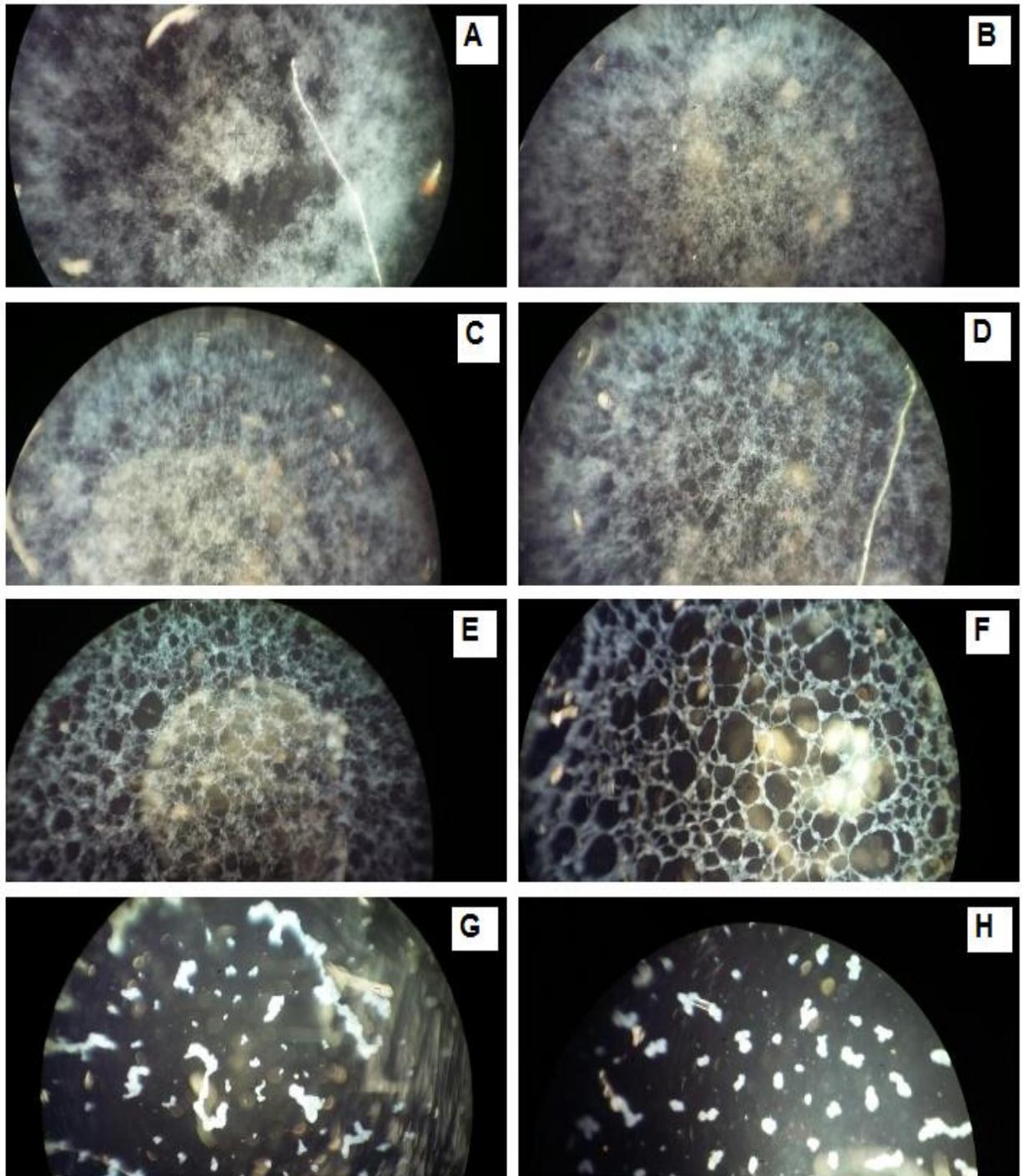
4.6.1.3 Titulação

Os soros positivos na triagem foram testados para os respectivos sorovares reagentes, para determinar a titulação final de aglutininas anti-*Leptospiras*, onde foram efetuadas diluições seriadas em escala geométrica de razão dois em solução salina tamponada de Sorensen. Para isso, foi acrescentado 50µL de solução de Sorensen nos poços da microplaca e 50µL de soro, com auxílio de pipeta multicanal foi feita a retirada de 50µL de cada poço, com a finalidade de avaliar a aglutinação formada nas titulações de 1:200, 1:400, 1:800, 1:1.600, 1:3.200, 1:6.400 e 1:12.800, em seguida adicionou-se 50µL dos sorovares reagentes na triagem. Essas microplacas foram incubadas por 2 horas a temperatura ambiente, para que houvesse a reação antígeno-anticorpo e consequente formação de aglutininas.

4.6.1.4 Leitura e interpretação

As leituras foram executadas em microscópio óptico JenaZeiss, com lente objetiva de 10x/0,20 e ocular 10 (100x), e condensador de campo escuro seco para identificar a formação de aglutinações, nas titulações de 100, 200, 400, 800, 1.600, 3.200, 6.400 e 12.800 (Figura 5).

Figura 5 - Ilustração das aglutinações formadas nas titulações de 100 à 12.800. A - Título 100; B - Título 200; C - Título 400; D - Título 800; E - Título 1.600; F - Título 3.200; G - Título 6.400; H - Título 12.800. (Fonte: autor)



4.7 Georreferenciamento

Os locais de captura dos mamíferos silvestres e domésticos foram georreferenciados por meio de um aparelho de GPS para posterior confecção de mapas através do programa ArcGIS 10.1, apontando a distribuição dos animais sororreagentes.

4.8 Questionário

Foi preenchido um questionário epidemiológico, com variáveis para os monogástricos (cães e gatos), como idade, sexo, mucosas, alteração de linfonodos, dieta, local que o animal vive, contato com outros animais, contato com mata/caatinga, contato com lixo, hábito de caça de roedores, coleção de águas próximas, contato com água parada, vacinação, vermifugação, perda de peso, anorexia e a frequência de atendimento de um Veterinário (APÊNDICE A).

Para ruminantes (caprinos e ovinos), as variáveis idade, sexo, raça, tipo de terreno, quantidade de animais, quantidade por categoria (jovens e adultos), dieta (local de armazenamento e se cães e gatos tem acesso), fonte de água, se tem bebedouro e comedouro (qual o tipo de cada um respectivamente e a frequência de limpeza), origem dos animais, e uso de quarentena, tipo de criação (confinada, semi-confinada, extensiva), tipo de piso (cimento, terra, grama e ripado), frequência de limpeza da instalação, contato com cão, contato com gato, contato com rato, coleção de água próxima ou dentro da propriedade, perda de peso, redução da produção, problemas reprodutivos, abortamentos (frequência, destino de fetos abortados e placenta), principais causas de morte no rebanho, destino dos animais mortos, utilização de piquete de parição, uso de inseminação artificial, aluguel do seu pasto, animais pastejam em outro pasto, assistência veterinária (frequência), troca de reprodutores e contato com animais silvestres (quais) (APÊNDICE B).

4.9 Análise estatística

A análise dos fatores de risco foi executada em duas etapas: análise univariada e multivariada. Na análise univariada, as variáveis que apresentaram

valor de significância de 20% ($p \leq 0,2$), pelo teste do qui-quadrado ou teste exato de Fish foram selecionados para a análise multivariada. Foi utilizado a regressão logística, e o nível de significância na análise múltipla foi de 5% ($p \leq 0,05$) (HOSMER e LEMESHOW, 1989). Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa SPSS versão 20.

5 RESULTADOS

5.1 Mamíferos silvestres capturados

O esforço total de captura foi 2.944 armadilhas/noite, onde foi realizada a captura de 76 mamíferos silvestres, sendo o sucesso de captura de 2,58%. As localidades com maior quantidade de animais capturados foram encontradas em Petrolina, como: povoado do Capim e Pedrinhas (Tabela 3).

Tabela 3 - Número de silvestres capturados nas áreas ambientais dos municípios de Lagoa Grande e Petrolina, Pernambuco.

Municípios	Locais	Nº de silvestres capturados
Lagoa Grande	Fazenda Tanque do Ferro (Açude)	4
	Fazenda Tanque do Ferro (Riacho)	7
	Fazenda Pajeú	5
	Fazenda Tanque do Ferro (Estrada)	0
Petrolina	Capim	14
	Pedrinhas	25
	Univasf - CCA	10
	Batalhão 72 BIM	11

Foram capturados 38 roedores, 37 marsupiais e 1 carnívoro, em Lagoa Grande e Petrolina (Tabela 4), pertencentes a 3 ordens e 8 espécies (Tabela 5). Dentre os roedores, foram identificadas as espécies *Thrichomys apereroides*, *Wiedomys pyrrhorhinus*, *Galea spixii* e *Calomys expulsus*, os marsupiais capturados, pertenciamas espécies *Gracilinanus agilis*, *Didelphis albiventris* e *Monodelphis domestica* e o carnívoro apreendido era da espécie *Cerdocyon thous* (Figura 6).

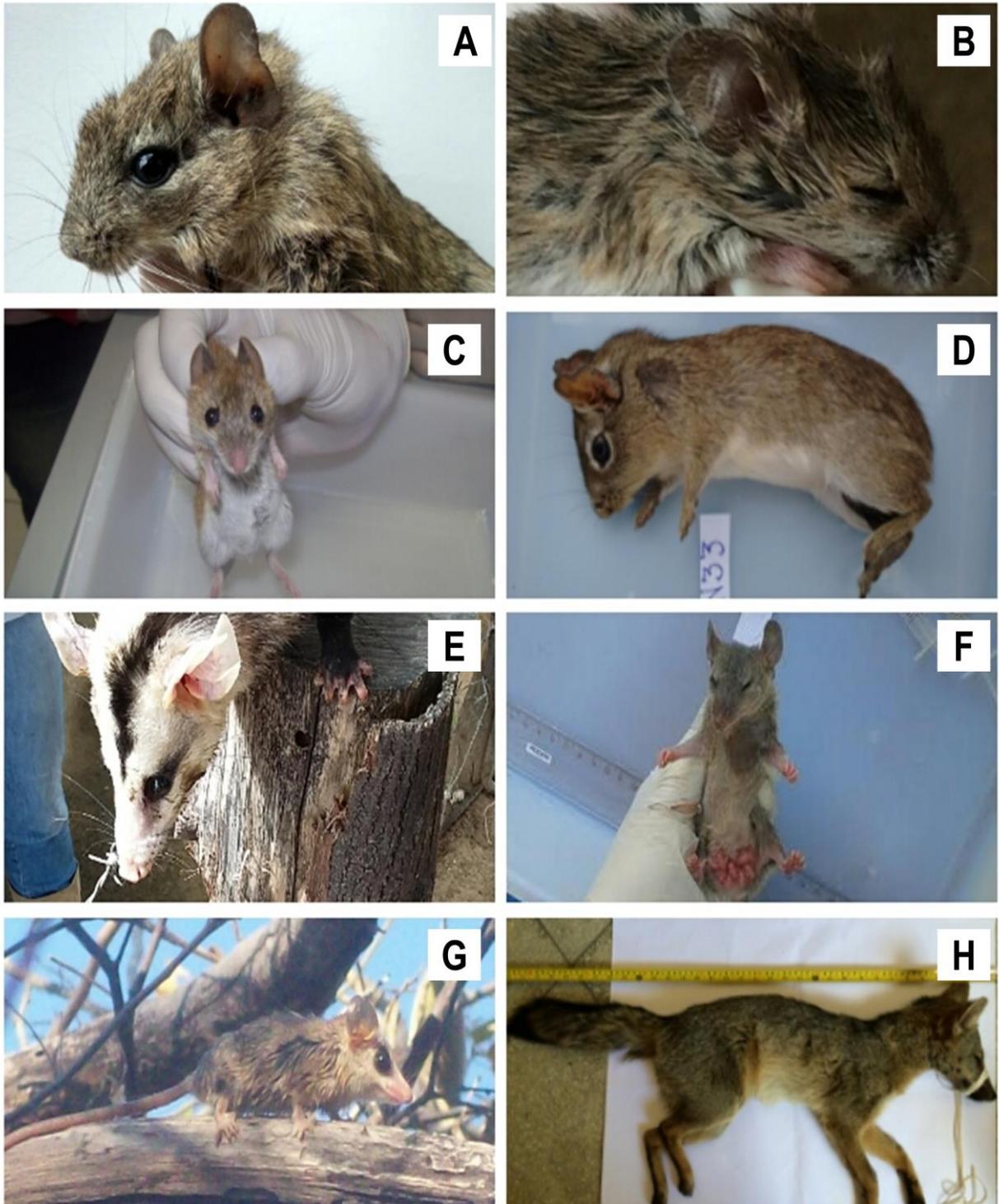
Tabela 4 - Total de animais silvestres capturados, separados por espécie, município, datas e estações do ano.

Municípios	Datas	Estações do ano	Nº de roedores	Nº de Marsupiais	Nº de carnívoros
Lagoa Grande	30/08 à 03/09/2014	Inverno	3	1	0
	29/11 à 03/12/2014	Primavera	6	0	1
	14/01 à 17/01/2015	Verão	1	4	0
	23/04 à 27/04/2015	Outono	0	0	0
	04/09 à 08/09/2014	Inverno	10	1	0
Petrolina	30/10 à 03/11/2014	Primavera	8	2	0
	09/01 à 13/01/2015	Verão	9	5	0
	30/04 à 04/05/2015	Outono	1	24	0
	Total		38	37	1

Tabela 5 - A quantificação dos animais silvestres capturados e suas respectivas ordens e espécies.

Ordem	Espécies	Nº de exemplares
Rodentia (n=38)	<i>Galea spixii</i>	3
	<i>Thrichomys apereroides</i>	30
	<i>Wiedomys pyrrhorhinus</i>	3
	<i>Calomys expulsus</i>	2
Marsupialia (n=37)	<i>Gracilinanus agilis</i>	1
	<i>Didelphis albiventris</i>	27
	<i>Monodelphis domestica</i>	9
Carnívora (n=1)	<i>Cerdocyon thous</i>	1
Total		76

Figura 6 - Ilustração dos mamíferos silvestres capturados. Roedores: A - *Thrichomys apereroides*; B - *Calomys expulsus*; C - *Wiedomys pyrrhorhinus*; D - *Galea spixii*. Marsupiais: E - *Didelphis albiventris*; F - *Monodelphis domestica*; G - *Gracilinanus agilis orhinus*. Carnívoro: H - *Cerdocyon thous*. (Fonte: autor)



5.2 Mamíferos domésticos selecionados

Foram coletados um total de 69,51% (260/374) de fêmeas e 30,48% (114/374) de machos da espécie caprina. Com relação a faixa etária, 16,57% (62/374) encontrava-se com menos de um ano, 79,67% (298/374) com idade entre um a quatro anos e 4,81% (18/374), com mais de quatro anos. Desses animais avaliados, 84,22% (315/374), não possuíam raça definida, 3,47% (13/374), pertenciam à raça Anglo Nubiana, 9,09% (34/374) Canindé e 3,20% (12/374) Saanem. Para a espécie ovina, foram coletados 71,5% (261/365) de fêmeas e 28,49% (104/365) de machos. Em relação a faixa etária, 15,61% (57/365) encontrava-se com menos de um ano, 81,64% (298/365) com idade entre um a quatro anos e 2,46% (9/365) com mais de quatro anos. Dos quais, 98,35% (359/365) não tinham raça definida e 1,64% (6/365) eram da raça Santa Inês.

Todos os cães avaliados não possuíam raça definida. A relação entre machos e fêmeas dos cães foi de 28,7% (31/108) e 71,29% (77/108) respectivamente. 26,85% (29/108) apresentavam-se com idade entre seis meses e um ano, 36,11% (39/108) entre um a três anos e 36,11% (39/108) com mais de três anos. Quanto aos gatos analisados, 63,33% (19/30) não possuíam raça definida e 20% (6/30) eram da raça Siamesa. 36,66% (11/30) eram fêmeas e 63,33% (19/30), eram machos. Quanto a idade desses animais, 23,33% (7/30) tinham entre seis meses e um ano, 30% (9/30) entre um a três anos e 26,66% (8/30) mais de três anos.

5.3 Soroaglutinação Microscópica (SAM)

5.3.1 Animais silvestres

Das 76 amostras colhidas, só foi possível realizar a sorologia de 69 mamíferos silvestres, pois 7 amostras encontravam-se com quantidade de soro insuficiente (<100µL). Obtendo-se então uma porcentagem de 8,69% (6/69) de animais sororreagentes para *Leptospira interrogans*, onde todos reagiram para sorovar Panama e um gambá reagiu também para o sorotipo Australis. Os anticorpos anti-*Leptospira* foram detectados apenas em marsupiais, da espécie *Didelphis albiventris*, representando 22,22% (6/27) de positividade para essa espécie, sendo

que todos se localizavam em Pedrinhas, no município de Petrolina, Pernambuco (Figura 8). Os títulos verificados variaram de 400 a 1600.

5.3.2 Animais domésticos

A soroprevalência para Leptospirose em caprinos, ovinos e gatos foi maior no município de Lagoa Grande, e a positividade em cães foi mais elevada em Petrolina. Sendo que a prevalência total de caprinos, ovinos, cães e gatos sororreagentes foi de 11,22%, 5,47%, 9,25% e 6,66% respectivamente, considerando animais positivos com títulos acima de 100 (Tabela 6).

Tabela 6 - Percentual de caprinos, ovinos, cães e gatos sororreagentes em Lagoa Grande e Petrolina, com títulos acima de 100.

Espécie	Lagoa Grande	Petrolina	Total
<i>Capra hircus</i>	14% (28/ 200)	8,04% (14/ 174)	11,22%(42/ 374)
<i>Ovis aires</i>	5,91% (11/186)	5,02% (9/179)	5,47% (20/ 365)
<i>Canis lupus familiares</i>	7,54% (4/ 53)	10,9% (6/ 55)	9,25% (10/108)
<i>Felis catus</i>	28,57% (2/ 7)	0% (0/ 23)	6,66% (2/ 30)

As localidades que apresentaram animais positivos em Lagoa Grande foram: Fazenda Tanque do Ferro (caprino e ovino), Sítio Cururupu (cão), Sítio Sucena (caprino e ovino), Sítio São José (gato), Sítio Irará - Montanha, I, II, III e IV (caprino, ovino, cão e gato), Fazenda Pau Ferro I e II (caprino e ovino) e Fazenda Pajeú (Figura 7). Em Petrolina, as propriedades com animais positivos foram: Sítio Ouricuri (caprino e ovino), Sítio Ouricuri II (cão), Sítio Caiçara (cão), Fazenda Caixa d'água (caprino e ovino) e Univasf - CCA (caprino, ovino e cão). (Figura 8).

Figura 7 - Localização das áreas onde houve animais sororreagentes para Leptospirose em Lagoa Grande, PE. (Fonte: autor)

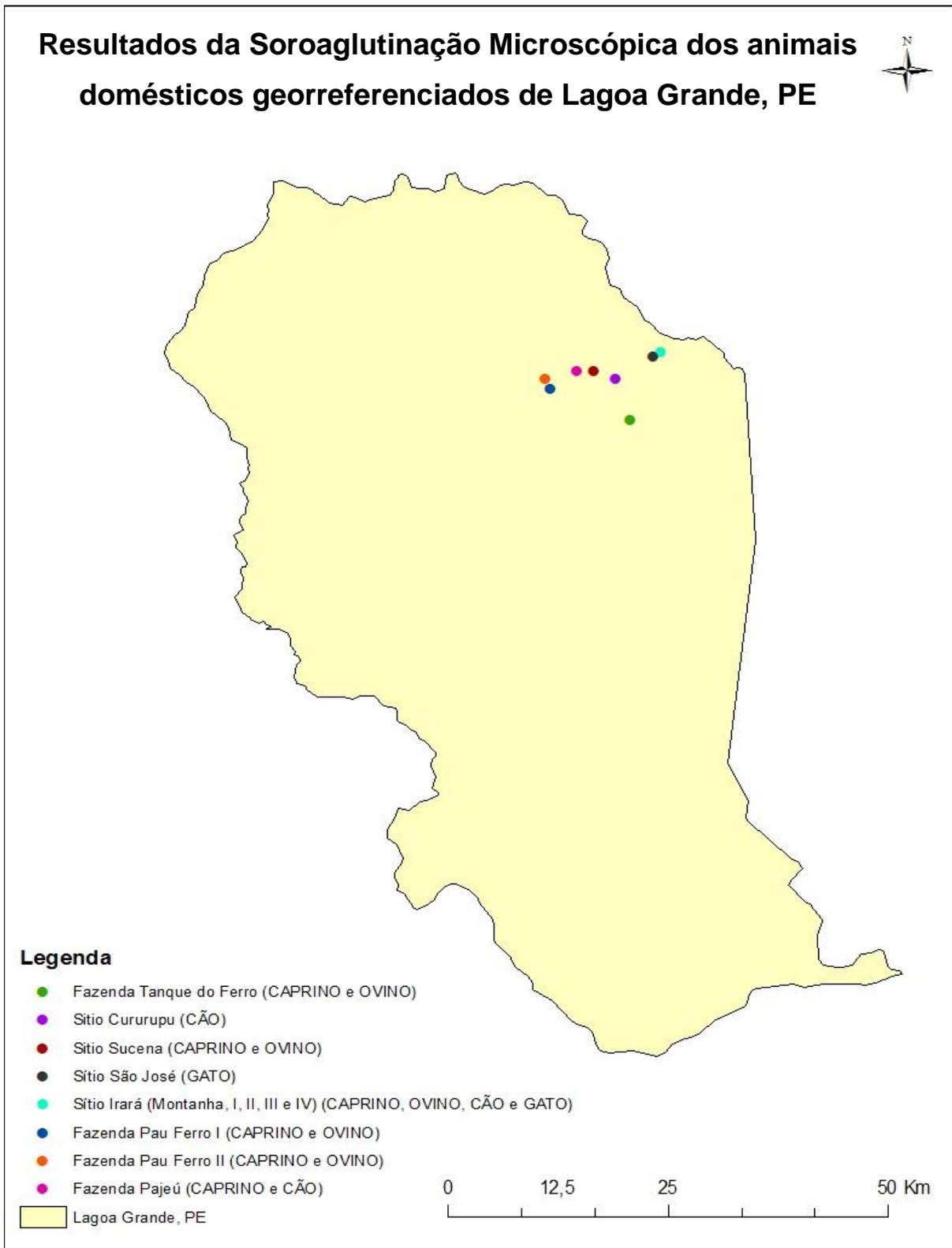
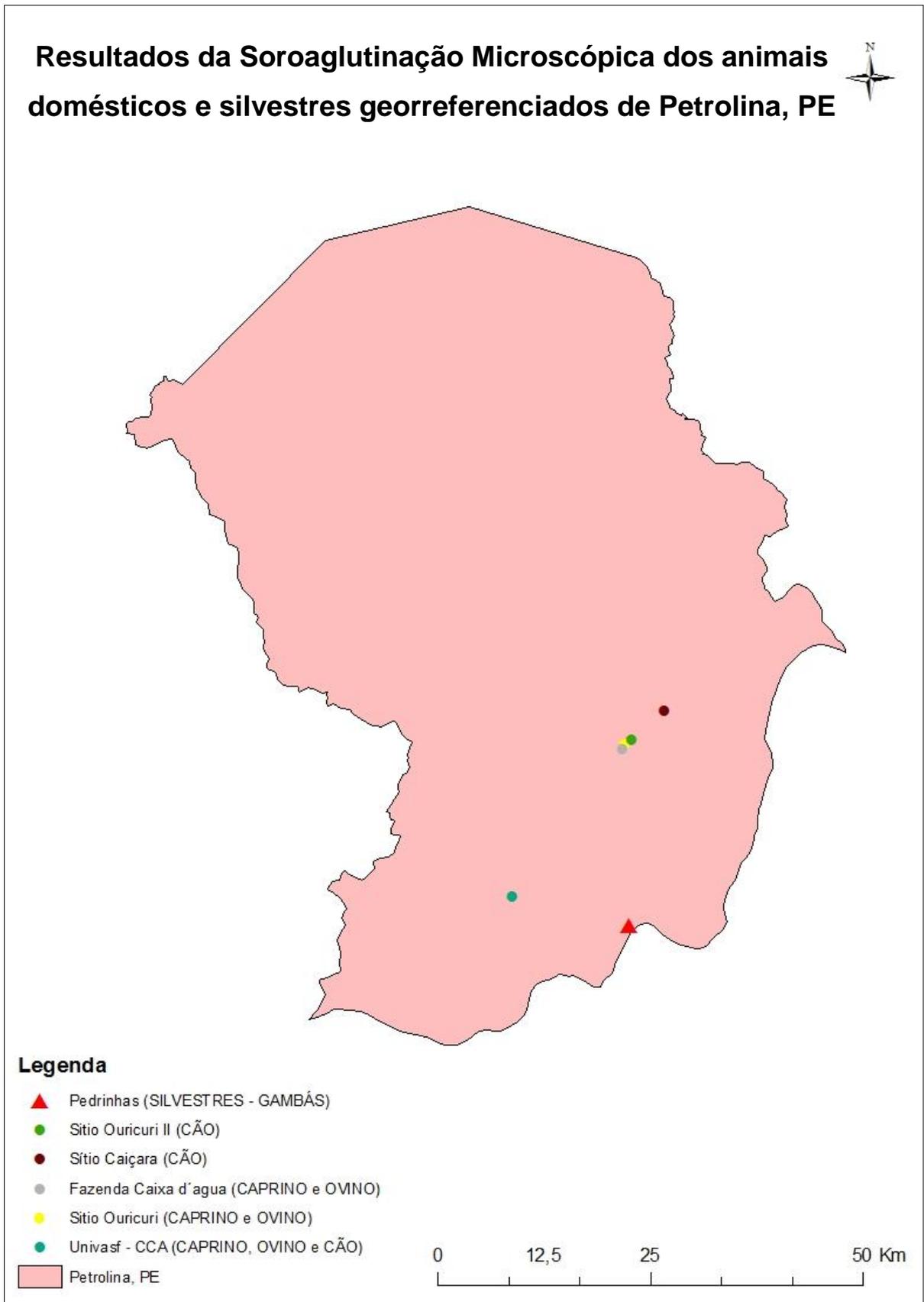


Figura 8 - Localização das áreas onde houve animais sororreagentes para Leptospirose em Petrolina, PE. (Fonte: autor)



5.3.2.1 Caprinos

Das 374 amostras de caprinos, 42 animais foram sororreagentes, com frequência de 11,22%. Onde os sorovares apontados como os mais prevalentes foram o Icterohamerrhagiae 45% (18/40), o Sentot 15% (6/40) e Autumnalis 12,5% (5/40). Foram também observados os seguintes sorovares: Pomona, Butembo, Pyrogenes, Shermani, Andamana, Patoc e Castellonis. Com variação dos títulos de 100 à 400. As amostras que apresentaram títulos iguais para mais de um sorovar (coaglutinação sorológica), foram eliminadas da contagem dos sorovares mais prevalentes, sendo consideradas apenas reativos ao sorogrupo ou a Leptospirose.

5.3.2.2 Ovinos

Das 365 amostras de ovinos, 20 animais foram sororreagentes, com frequência de 5,47%. Onde os sorovares mais prevalentes foram Icterohamerrhagiae 36,84% (7/19), Castellonis 15,78% (3/19) e Wolffi 10,52% (2/19). Foram também observados os sorovares Patoc, Autumnalis, Hardjo, Andamana, Pyrogenes e Pomona. Com títulos variando de 100 à 800. As amostras que apresentaram títulos semelhantes para mais de um sorovar, foram eliminadas da contagem dos sorovares mais prevalentes, sendo consideradas apenas reativos ao sorogrupo ou a Leptospirose.

5.3.2.3 Cães

Das 108 amostras de cães, 10 foram sororreagentes, com frequência de 9,25%. Onde os sorovares mais prevalentes foram Australis 33,3%, Butembo 22,2% e Patoc 22,2%. Foram também observados os sorovares Pyrogenes, Andamana, Butembo, Grippotyphosa e Icterohamerrhagiae. Com títulos variando de 100 à 200. As amostras que apresentaram títulos semelhante para mais de um sorovar, foram eliminada da contagem dos sorovares mais prevalentes, sendo consideradas apenas reativos ao sorogrupo ou a Leptospirose.

5.3.2.4 Gatos

Das 30 amostras de gatos, duas foram sororreagentes, com porcentagem de 6,66%, sendo observados os sorovares Andamana(50%) e Patoc (50%), com títulos de 100.

5.4 Análise estatística das variáveis

5.4.1 Animais silvestres

Não foi possível fazer a regressão logística (análise multivariada), pois o número de reatores foi pequeno. A variável “Ordem” foi associada com Marsupialis, pois apresentam maior frequência de positivos (Tabela 7).

Tabela 7 - Análise univariada, segundo as variáveis estudadas nos mamíferos silvestres amostrados.

Variável	Categoria	Nº. total de animais	Nº. de positivos (%)	p
Ordem	Carnivora/rodentia	36	0 (0)	0,010
	Marsupialis	34	6 (17,6)	
Sexo	Macho	35	5 (14,3)	0,198
	Fêmea	35	1 (2,9)	
Município de origem	Lagoa Grande	13	0 (0)	0,585
	Petrolina	57	6 (10,5)	

p= Prevalência

5.4.2 Animais domésticos

5.4.2.1 Caprinos

Os fatores de risco selecionados na análise univariada ($p \leq 0,2$), foram: idade dos animais (> três anos), município de origem (Lagoa Grande), tamanho do rebanho (> de 100), realização de quarentena, tipo de piso (ripado), limpeza do ambiente (mensal/anual), tipo de terreno (acidentado) e contato com animais silvestres (Tabela 8). Porém na regressão logística ($p \leq 0,05$), (análise multivariada), as variáveis significativas foram quanto a idade e tamanho do rebanho (Tabela 9).

Tabela 8 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para anticorpos anti-*Leptospira* em caprinos do sertão pernambucano.

Variável	Categoria	Nº. total de animais	Nº. de positivos (%)	p
Raça	CRD	59	5 (8,5)	0,613
	SRD	315	37 (11,7)	
Idade	6 meses – 1 ano	104	3 (2,9)	0,001*
	1 – 3 anos	213	26 (12,2)	
	> 3 anos	57	13 (22,8)	
Sexo	Macho	114	11 (9,6)	0,643
	Fêmea	260	31 (11,9)	
Município de origem	Lagoa Grande	200	28 (14)	0,098*
	Petrolina	174	14 (8)	
Tipo de terreno	Acidentado	235	32 (13,6)	0,083*
	Plano	139	10 (7,2)	
Tamanho do rebanho	< 100 animais	232	18 (7,8)	0,011*
	> 100 animais	142	24 (16,9)	
Sistema de criação	Extensivo	71	9 (12,7)	0,736
	Semi-intensivo	244	28 (11,5)	
	Intensivo	59	5 (8,5)	
Mucosa	Hipocorada	80	8 (10)	0,847
	Normocorada	294	34 (11,6)	
Quarentena	Não	268	24 (9)	0,007*
	Sim	35	9 (25,7)	
Tipo de piso	Cimento	46	2 (4,3)	0,129*
	Ripado	13	3 (23,1)	
	Terra	315	37 (11,7)	
Limpeza do ambiente	Diária	90	3 (3,3)	0,024*
	Semanal/quinzenal	96	13 (13,5)	
	Mensal/anual	118	26 (13,8)	
Contato com cão	Não	131	18 (13,7)	0,338
	Sim	243	24 (9,9)	
Contato com gato	Não	258	31 (12)	0,589
	Sim	116	11 (9,5)	
Contato com ratos	Não	103	11 (10,7)	0,980
	Sim	271	31 (11,4)	

Coleção de água próxima	Não	101	9 (8,9)	0,497
	Sim	273	33 (12,1)	
Assistência veterinária	Não	197	23 (11,7)	0,902
	Sim	177	19 (10,7)	
Contato com silvestres	Não	26	5 (19,2)	0,193*
	Sim	348	37 (10,6)	

*Variáveis selecionadas para regressão logística múltipla ($p \leq 0,2$)

Tabela 9 - Fatores de risco para anticorpos anti-*Leptospiraem* caprinos do sertão pernambucano, determinados por regressão logística múltipla.

Fator de risco	Coefficiente de regressão	Erro padrão	OR	IC 95%	p
Tamanho do rebanho > 100 animais	1,913	0,689	6,8	1,8 – 26,1	0,005
Idade > 3 anos	1,631	0,713	5,1	1,3 – 20,8	0,023

OR=Oddsratio, IC= Intervalo de confiança

5.4.2.2 Ovinos

Os fatores de risco selecionados na análise univariada ($p \leq 0,2$) foram: idade dos animais (> três anos), tipo de terreno, tipo de piso (cimento), tamanho do rebanho (> de 100), limpeza do ambiente (diária/semanal), que não possuía coleção de águas nas proximidades das propriedades e rebanhos que tinham assistência veterinária (Tabela 10). Porém na regressão logística ($p \leq 0,05$) (análise multivariada), as variáveis significativas foram quanto ao tamanho do rebanho e tipo de piso (Tabela 11).

Tabela 10 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para anticorpos anti-*Leptospira* em ovinos do sertão pernambucano.

Variável	Categoria	Nº. total de animais	No. de positivos (%)	p
Raça	CRD	6	1 (16,7)	0,289
	SRD	359	19 (5,3)	
Idade	6 meses – 1 ano	116	1 (0,9)	0,008*
	1 – 3 anos	179	11 (6,1)	
	> 3 anos	70	8 (11,4)	
Sexo	Macho	104	5 (4,8)	0,919
	Fêmea	261	15 (5,7)	
Município de origem	Lagoa Grande	186	11 (5,9)	0,887
	Petrolina	179	9 (5)	
Tipo de terreno	Acidentado	134	11 (8,2)	0,132*
	Plano	231	9 (3,9)	
Tamanho do rebanho	< 100 animais	252	10 (4)	0,100*
	> 100 animais	113	10 (8,8)	
Sistema de criação	Extensivo	47	3 (6,4)	0,732
	Semi-intens./intens.	318	17 (5,3)	
Mucosa	Hipocorada	6	0 (0)	1,000
	Normocorada	359	20 (5,6)	
Quarentena	Não	223	13 (5,8)	1,000
	Sim	81	5 (6,2)	
Tipo de piso	Cimento	36	7 (19,4)	0,002*
	Ripado/terra	329	13 (4)	
Limpeza do ambiente	Diária/semanal	74	9 (12,2)	0,059*
	Quinzenal	32	2 (6,2)	
	Mensal/2-4 meses	209	9 (4,3)	
Contato com cão	Não	137	10 (7,3)	0,344
	Sim	228	10 (4,4)	
Contato com gato	Não	273	17 (6,2)	0,414
	Sim	92	3 (3,3)	
Contato com ratos	Não	152	10 (6,6)	0,585
	Sim	213	10 (4,7)	
Coleção de água próxima	Não	86	8 (9,3)	0,100*
	Sim	279	12 (4,3)	

Assistência veterinária	Não	192	6 (3,1)	0,064*
	Sim	173	14 (8,1)	
Contato com silvestres	Não	147	9 (6,1)	1,000
	Sim	177	11 (6,2)	

*Variáveis selecionadas para regressão logística múltipla ($p \leq 0,2$)

Tabela 11 - Fatores de risco para anticorpos anti-*Leptospira* em ovinos do sertão pernambucano, determinados por regressão logística múltipla.

Fator de risco	Coefficiente de regressão	Erro padrão	OR	IC 95%	p
Tamanho do rebanho > 100 animais	1,663	0,670	5,3	1,4 – 19,6	< 0,001
Piso do tipo cimento	2,574	0,719	13,1	3,2 – 53,7	< 0,001

OR=Oddsratio, IC= Intervalo de confiança

5.4.2.3 Cães

Os fatores de risco selecionados na análise univariada ($p \leq 0,2$) foram: não ter contato com outros animais, não ter contato com caatinga, não ter contato com lixo, possuir coleção de águas nas proximidades das propriedades para a análise de regressão (Tabela 12). Porém na regressão logística ($p \leq 0,05$) (análise multivariada), a variável significativa foi quanto a presença de coleção de água nas proximidades (Tabela 13).

Tabela 12 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para anticorpos anti-*Leptospira* em cães do sertão pernambucano.

Variável	Categoria	Nº. total de animais	Nº. de positivos (%)	p
Idade	6 meses – 1 ano	30	1 (3,3)	0,389
	1 – 3 anos	39	5 (12,8)	
	> 3 anos	39	4 (10,3)	
Sexo	Macho	77	7 (9,1)	1,000
	Fêmea	31	3 (9,7)	
Município de origem	Lagoa Grande	53	4 (7,5)	0,742
	Petrolina	55	6 (10,9)	
Dieta	Comida caseira	61	7 (11,5)	0,740
	Mista (ração+caseira)	36	3 (8,3)	
Contato com outros animais	Não	11	3 (27,3)	0,086*
	Sim	85	7 (8,2)	
Contato com mata/caatinga	Não	14	3 (21,4)	0,155*
	Sim	83	7 (8,4)	
Contato com lixo	Não	64	9 (14,1)	0,157*
	Sim	32	1 (3,1)	
Hábito de caçar roedores	Não	77	9 (11,7)	0,681
	Sim	19	1 (5,3)	
Coleção de água próxima	Não	59	4 (6,8)	0,183*
	Sim	38	6 (15,8)	
Contato com água parada	Não	62	5 (8,1)	0,488
	Sim	35	5 (14,3)	
Animal vai ao veterinário	Não	83	8 (9,6)	0,634
	Sim	14	2 (14,3)	

*Variáveis selecionadas para regressão logística múltipla ($p \leq 0,2$)

Tabela 13 - Fatores de risco para anticorpos anti-*Leptospira* em cães do sertão pernambucano, determinados por regressão logística múltipla.

Fator de risco	Coefficiente de regressão	Erro padrão	OR	IC 95%	p
Coleção de água próxima	2,241	1,105	9,4	1,1 – 81,9	< 0,043

OR=Oddsratio, IC= Intervalo de confiança

5.4.2.4 Gatos

Nenhum fator de risco foi selecionado na análise univariada ($p \leq 0,2$) (Tabela 14). Então não foi possível realizar a regressão logística (análise multivariada), pois o n foi pequeno. Como Petrolina não apresentou animais positivos, a variável associada foi “município de origem”, com Lagoa Grande apresentando maior frequência de positivos.

Tabela 14 - Distribuição das variáveis analisadas como possíveis fatores de risco para anticorpos anti-*Leptospira* em cães do sertão pernambucano.

Variável	Categoria	Nº. total de animais	Nº. de positivos (%)	P
Raça	CRD	6	0 (0)	1,000
	SRD	25	2 (8)	
Idade	6 meses – 1 ano	7	0 (0)	0,685
	1 – 3 anos	10	1 (10)	
	> 3 anos	10	1 (10)	
Sexo	Macho	19	1 (5,3)	1,000
	Fêmea	12	1 (8,3)	
Município de origem	Lagoa Grande	7	2 (28,6)	0,045
	Petrolina	24	0 (0)	
Dieta	Comida caseira	22	2 (9,1)	1,000
	Mista(ração+caseira)	3	0 (0)	
Contato com outros animais	Não	1	0 (0)	1,000
	Sim	24	2 (8,3)	
Contato com mata/caatinga	Não	1	0 (0)	1,000
	Sim	24	2 (8,3)	
Contato com lixo	Não	9	2 (22,2)	0,120
	Sim	16	0 (0)	
Hábito de caçar roedores	Não	17	0 (0)	0,093
	Sim	8	2 (25)	
Coleção de água próxima	Não	7	1 (14,3)	0,490
	Sim	18	1 (5,6)	
Contato com água parada	Não	12	1 (8,3)	1,000
	Sim	13	1 (7,7)	
Animal vai ao veterinário	Não	23	2 (8,7)	1,000
	Sim	2	0 (0)	

p= Prevalência

6 DISCUSSÃO

As localidades de pesquisa, Lagoa Grande e Petrolina, Estado de Pernambuco, foram escolhidas devido à escassos estudos a respeito da Leptospirose nas respectivas regiões do semiárido. Para observar a ocorrência dessa enfermidade nas diversas espécies de mamíferos silvestres, assim como nos animais domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos). Bem como também conhecer os dados levantados enriquecem os conhecimentos desta infecção entre as espécies em estudo que compõem o bioma caatinga. O agente etiológico encontra-se presente em algumas regiões do nordeste, como em Campina Grande e Patos, na Paraíba (Batista et al. (2005) e Azevedo et al. (2011)), em Salvador, Bahia , (Faria et al. (2008) e Silva et al. (2003)), assim como no estado de Pernambuco, principalmente na cidade de Recife, segundo Vasconcelos et al. (2012).

Em Lagoa Grande a quantidade de animais capturados foi inferior, quando comparado com Petrolina, podendo estar relacionado com fatores ambientais divergentes. Em Petrolina foi observado Caatinga mais verde, presença de água em alguns pontos, conseqüentemente maior oferta de alimentos e maior população de animais nas localidades. Nos pontos de captura em Lagoa Grande, a caatinga apresentava-se mais seca, e com pouca oferta de água. No trabalho desenvolvido no parque Nacional da Serra das Confusões, PI, foram capturados 73 animais silvestres, considerado número baixo (GUIMARÃES, 2014), porém elevado ao se comparar com as duas regiões em estudo, provavelmente por ser uma área preservada.

Comparando-se as estações do ano, foi possível perceber que no Outono, no município de Lagoa Grande, devido a uma alta oferta de alimentos, presença de água nas proximidades e episódios de chuvas nas noites de captura (índice pluviométrico de 86 mm) (IPA, 2016), não houve apreensão de animais silvestres.

Em Petrolina, os ambientes explorados favoreceram a captura dos mamíferos silvestres. Foi obtida maior quantidade de animais apreendidos, principalmente na localidade de Pedrinhas, que se localizava as margens do Rio São Francisco, dispondo de água abundante para os mesmos e conseqüentemente de um ambiente com elevada população de animais.

No presente estudo foi observado prevalência de soropositividade baixa para Leptospirose em todas as espécies avaliadas, tanto para os mamíferos silvestres,

como para os animais domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos), nos dois municípios explorados. As localidades em estudo apresentaram pouca incidência de chuvas nos anos de 2014 e 2015, visto que a média do índice pluviométrico para Lagoa Grande nos respectivos anos foi de 17,475 mm e 29,25 mm, e no município de Petrolina foi de 43,225 mm e 16,26 mm (IPA, 2016), abaixo da média pluviométrica anual, sendo portanto uma região muito seca e de baixa umidade, o que pode ter favorecido os resultados do presente estudo, pois sabe-se que as leptospiros são sensíveis. Por outro lado Higino et al. (2013), observaram maior frequência no município de Monteiro, Paraíba, semiárido nordestino brasileiro, onde a prevalência de rebanhos foi de 43,6%.

Os mamíferos silvestres apresentaram soropositividade de 8,69% (6/69), e todos os positivos pertenceram a espécie *D. albiventris*, e se localizavam nas proximidades do Rio São Francisco. *Leptospira interrogans* é geralmente encontrada em água doce de superfície, e uma das principais formas de transmissão da doença, é através do contato com água contaminada por esse agente, pois o mesmo penetra até mesmo na pele íntegra quando imersa em água por um longo período de tempo, inclusive segundo Escócio et al. (2010), as leptospiros sobrevivem por longos períodos em águas de superfície.

O sorovar mais prevalente nos *D. albiventris*, foi o Panama 100% (6/6), com títulos altos variando de 400 à 1600. Sendo que o mesmo sorotipo foi encontrado também em animais domésticos, da espécie caprina na Paraíba, por Favero et al. (2002). Sabe-se que esse sorotipo está relacionado com animais silvestres como reservatórios principais, porém os resultados nesse estudo foram diferentes do que foi encontrado por Corrêa et al. (2004), onde 40% dos gambás capturados dentro da Fundação do Parque Zoológico de São Paulo, reagiram para o sorovar Icterohamerrhagiae. Da mesma forma estudo realizado por Esteves et al. (2005), no Zoológico Municipal de Uberaba, MG, houve maior prevalência para os sorovares Canicola (47,05%), Icterohamerrhagiae (29,41%) e Andamana (11,76%). Bem como no estudo, realizado no Zoológico Municipal de Bauru, em São Paulo, onde sorovares mais prevalentes nos animais silvestres foram Pyrogenes, (15,2%), Pomona (9,4%) e Autumnalis (8,4%) (LENHARO e LUCHEIS, 2012).

O sorovar Australis foi observado em um dos mamíferos silvestres com título 800, porém inferior ao Panama. Esses animais sororreagentes apresentavam-se aparentemente saudáveis. As duas variantes sorológicas detectadas nessa espécie

possuem os mamíferos silvestres, como reservatórios principais, porém o sorotipo Australis foi encontrado em ovinos na região semiárida da Paraíba (ALVES et al., 2012) e em caprinos na microrregião do Seridó Oriental, Rio Grande do Norte, com prevalência de 11,3%, sendo um sorotipo pouco relatado nessa espécie, e que provavelmente tenha sido observado nesses pequenos ruminantes, devido a possível contato com mamíferos silvestres da região, os quais consequentemente estão servindo como reservatórios da infecção e eliminando *Leptospira* spp. no meio ambiente e contaminando outras espécies (ARAÚJO NETO et al., 2010).

A prevalência da Leptospirose nos caprinos foi de 11,22% (42/374). Os achados no estudo corroboram com os resultados de Landim et al. (2012) e Araújo Neto et al. (2010) que obtiveram sororreatividade de 15,67% em caprinos do rebanho do Campo Experimental da Caatinga da Embrapa Semiárido em Petrolina, Pernambuco e 14,5% dos caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, respectivamente. Entretanto, Favero et al. (2002) e Alves et al. (2012) apresentaram prevalências menores comparado com a pesquisa realizada na região do Submédio São Francisco, de 5,1% e 5,41% na SAM em caprinos no Estado da Paraíba, respectivamente.

O sorovar mais observado nessa espécie nos municípios em estudo foram o Icterohamerrhagiae (45%). Provavelmente relacionado com a presença de ratos em contato com esses animais, uma vez que os *Rattus norvegicus* é o principal reservatório desse sorotipo (BRASIL, 2014b). Esse sorovar também foi o mais prevalente em caprinos no Rio Grande do Sul, com porcentagem de 2,5% (SCHMIDT; AROSI; SANTOS, 2002). Segundo Araújo Neto et al. (2010) animais sororreagentes para esse estirpe, demonstra a importância da população de roedores na transmissão da doença, reforçando a necessidade de antirratização e desratização.

Os outros dois sorovares mais apontados na SAM em caprinos foram Sentot (15%) e Autumnalis (12,5%). Segundo Higino et al. (2012), os roedores são os principais reservatórios do sorovar Autumnalis. Esses dois sorotipos, foram também os mais observados em caprinos por Higino et al. (2012), na região do Cariri, Estado da Paraíba, com soropositividade de 1,74% e 1,71% respectivamente. Segundo Araújo Neto et al. (2010) e Santos et al (2012), o sorotipo Autumnalis foi o mais prevalente em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte com 73,6% e também o mais provável em estudo realizado em Minas

Gerais, com 30,3%. Pesquisas desenvolvidas por Lilenbaum et al. (2008) e (2009), tiveram positividade para os sorovares Hardjo (36,5%) e Shermani (30,6%) no Rio de Janeiro, diferentemente do que foi encontrado na região pernambucana do semiárido noderestino. A sororreatividade para os sorotipos Autumnalis, causa uma certa preocupação, pois sabe-se que as vacinas para a espécie caprina, não incluem esse sorotipo, as quais são compostas basicamente pelos sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Grippytyphosa, Hardjo, Andamana, Wolffi e Bataviae, não garantindo proteção cruzada contra outros sorotipos (HIGINO et al., 2012). Alerta-se para a importância de acrescentar variantes sorológicas prevalentes na região, assim como o sorotipo Sentot, que foi um dos mais observados no presente estudo.

Outros sorovares também foram observados na espécie caprina, como Butembo (7,5%), Pyrogenes (7,5%), Andamana (5%), Pomona (2,5%), Shermani (2,5%) e Castellonis (2,5%), porém de forma pouco representativa.

A prevalência da Leptospirose em ovinos da região foi de 5,47% (20/365). Essa sororreatividade foi semelhante ao encontrado por Alves et al. (2012) e Higino et al. (2010) com 5,41% e 7,5% de animais reagentes respectivamente no semiárido do Estado da Paraíba. Porém divergentes dos valores encontrados por Lilenbaum et al. (2009), Silva et al. (2007) e Herrmann et al. (2004), que obtiveram valores acima, como 13,7% de positivos no Rio de Janeiro, 20,5% em Pelotas no Rio Grande do Sul e 34,26% também no Rio Grande do Sul.

O sorovar mais prevalente na espécie ovina foi o Icterohamerrhagiae 36,84% (7/19), o mesmo observado para os caprinos, estando relacionado provavelmente também com a presença de ratos, que são os principais reservatórios desse sorotipo. Semelhante ao encontrado por Favero et al. (2002), que obteve uma positividade de 40% para esse sorotipo no Estado de São Paulo.

Os outros dois sorovares mais apontados foram Castellonis 15,78% (3/19) e Wolffi 10,52% (2/19), diferente do encontrado por Alves et al. (2012) e Higino et al. (2010) os quais obtiveram como os mais prevalentes, Autumnalis (49,30%), Andamana (27,53%) e Sentot (17,39%), Autumnalis (6,25%) e Icterohamerrhagiae (1,25%), respectivamente na Paraíba. Em estudos realizados por Lilenbaum et al. (2009), os sorotipos mais frequentes foram Hardjo, Shermani e Grippytyphosa, no Rio de Janeiro, segundo Silva et al. (2007) os sorovares Autumnalis (4,5%), Bataviae (4,5%) e Hardjo (4,5%) foram os mais observados no Rio Grande do Sul e

para Herrmann et al. (2004) os sorovares mais prevalentes foram Hardjo (28,4%) e Sentot (16,8%).

Outros sorovares também foram observados na espécie ovina, como Patoc, Pomona e Autumnalis, com 5,25% para cada um desses sorovares. Ressaltando que o sorotipo Hardjo teve coaglutinação sorológica em uma amostra, sendo considerado como agente mais provável o sorovar com título maior. Notando que alguns animais foram diagnosticados sororreagentes para mais de um sorovar.

Os fatores de risco com prevalência significativa no presente trabalho para os pequenos ruminantes, foram: Pertencerem a propriedades com mais de 100 caprinos/ovinos, já que quanto maior o aglomeração de animais, maior será o contato entre os mesmo, assim como também mais infectado estará o ambiente e conseqüentemente aumentam as chances de propagação da doença, e Segundo Alves et al. (2012), em pesquisa realizada na Mesorregião do Sertão Paraibano, rebanhos com mais de 48 animais, apresentam maior probabilidade de disseminação da doença.

Ter mais de três anos também foi um dos fatores de risco mais significativos para os caprinos na análise de regressão logística, semelhante ao encontrado por Santos et al. (2012), que obtiveram maior soropositividade em caprinos adultos, provavelmente estando relacionado ao fato dos animais mais velhos terem um maior tempo de exposição ao agente infeccioso.

Um outro fator de risco significativo para ovinos, corresponde ao fato de serem de locais onde o tipo de piso é de cimento, visto que acumulam a urina dos animais por mais tempo, por serem mais impermeáveis quando comparado com o piso de terra, mantendo o ambiente com maior umidade, aumentando a contaminação do chiqueiro e probabilidade de infecção dos animais.

A prevalência dessa infecção na espécie canina foi de 9,25%, (10/108), semelhante ao encontrado por Alves et al. (2004), Blazius et al. (2005), Magalhães et al. (2006) e Lavinsky et al. (2012) que apresentaram positividade de 8,95% em cães de caça do Estado da Paraíba; 10,5% em cães de rua em Itapema, Santa Catarina; 13,1% nos cães do Centro de Controle de Zoonoses de Belo Horizonte, Minas Gerais e 7,1% na população canina da cidade de Ilhéus, Bahia, respectivamente. Entretanto, diferente dos achados por Favero et al. (2002), Yasuda; Santa Rosa; Yanaguita (1980), Batista et al. (2005), Azevedo et al. (2011), Alves et al. (2000), Aguiar et al. (2007), Benitez et al. (2010), que encontraram

prevalências maiores, como de 17,9% no Estado de São Paulo; 21,6% em cães errantes em SP; 21,4% em cães de Campina Grande, Paraíba; 19,73% em Patos, Paraíba; 20% também em Patos, PB; 27,3% no município de Monte Negro, Rondônia e 21,21% em cães errantes do Paraná, visto que essas regiões geográficas que apresentaram maiores prevalências, provavelmente possuem uma maior população de roedores, problemas de infra-estrutura como coleta irregular do lixo, maiores problemas com saneamento básico e população com baixo nível de instrução. E as cidades de São Paulo e Rondônia, possuem um clima mais ameno, de maior índice pluviométrico, comparando-se com os municípios em estudo.

Os sorovares mais prevalentes em pesquisa nos caninos da região foram Australis 33,3% (3/9), Butembo 22,2% (2/9) e Patoc 22,2% (2/9), visto que o primeiro sorotipo foi relatado como um dos mais frequentes em cães de caça da cidade de Patos, na Paraíba por Alves et al. (2004) e os sorotipos Australis e Butembo foram os mais observados por Alves et al. (2000), também em Patos, PB. Podendo estar relacionado com a presença de animais silvestres, apesar de não ter sido um fator de risco prevalente, quanto a soropositividade desses animais. Esses achados causam certa preocupação, pois as vacinas comerciais não incluem essas variantes sorológicas, estando presentes apenas os sorovares Canicola, Icterohamerrhagiae, Grippytyphosa e Pomona, pois são os mais relatados nessa espécie. Sendo que os sorotipos Canicola e Icterohamerrhagiae, são os mais importantes em cães (ALVES et al., 2000). Em estudo realizado com cães de rua da cidade de São Paulo, os sorovares mais prevalentes foram os mesmos que se encontram nas bacterinas (YASUDA; SANTA ROSA; YANAGUITA, 1980).

Diferentemente do que foi encontrado nos cães da Mesorregião do São Francisco Pernambucano, os sorotipos mais observados em outras regiões, segundo Magalhães et al. (2006), Aguiar et al. (2007), Benitez et al. (2010), Azevedo et al. (2011) e Lavinsky et al. (2012), foram Canicola, Ballum, Pyrogenese Icterohamerrhagiae em Minas Gerais, Autumnalis (22%), Pyrogenes (12%), Canicola (10%) e Shermani (7,5%) em Rondônia, Canicola (42,88%), Pyrogenes (14,28%) e Castellonis (14,28%) no Paraná, Autumnalis (13,16%) e Grippytyphosa (1,97%) na Paraíba, Copenhageni (35%), Bratislava (10%), Canicola (10%) e Grippytyphosa (10%) na Bahia.

Outras variantes sorológicas encontradas nessa espécie foram Icterohamerrhagiae 11,1% (1/9) e Pyrogenes 11,1% (1/9). Ressaltando que os

sorovares Andamana e Grippotyphosa foram encontrados em alguns animais, reagentes para mais de um sorotipo, mas não entraram na contagem dos sorovares mais prevalentes, visto que os animais positivos para esses sorovares foram positivos para as variantes sorológicas com títulos iguais ou com títulos inferiores aos outros sorotipos, por isso foram descartados da contagem de sorovares mais prevalentes.

Um dos fatores de risco mais significativos em cães, corresponde ao fato de haver coleção de água nas proximidades de sua moradia, como os açudes, que servem como fonte de água para diversas espécies de animais, inclusive roedores e silvestres, os quais acabam excretando urina infectada com *Leptospira* spp. e gerando uma fonte de infecção para os cães, que se contaminam ao banhar-se ou ingerirem a água. Achados semelhantes foram encontrados por Jouglard e Brod (2000), sendo o fator de risco mais significativo para adquirir a doença em cães, estando relacionado com a presença de banhados e açudes próximos das propriedades.

Em outros estudos, cães SRD apresentaram fator de risco significativo para a infecção (BATISTA et al., 2005), e segundo Azevedo et al. (2011), os cães sem raça definida estão mais expostos ao agente etiológico, por terem maior acesso a rua; Mascolli et al. (2002) obtiveram como associação significativa a idade entre um e quatro anos e em estudos Segundo Aguiar et al. (2007) um dos fatores preocupantes é que cães com mais de um ano apresentaram-se com maior risco de infecção; em pesquisa realizada por Aguiar et al. (2007) um dos fatores de risco mais significativos foi o fato dos cães se alimentarem com ração comercial, que provavelmente está relacionado com armazenamento inadequado da ração, podendo favorecer o contato com os animais reservatórios, como os roedores e animais silvestres.

A prevalência da Leptospirose em gatos foi de 6,66% (2/30), os quais foram reagentes para os sorovares Andamana 50% (1/2) e Patoc 50% (1/2). Diferente do que foi encontrado por Lapointe; Plamondon; Dunn (2013), em Quebec, no Canadá, onde os animais obtiveram positividade de 25% (10/40), e os sorotipos observados foram Bratislava (100%) e Autumnalis (20%). Ressaltando que são escassos os estudos epidemiológicos sobre Leptospirose em gatos, portanto sabe-se pouco a respeito da doença nessa espécie, e que esses animais são mais resistentes a

infecção, devendo-se elaborar mais pesquisas, pois assim como os cães, os felinos domésticos possuem um maior contato com o homem.

Ao se comparar a soropositividade em Lagoa Grande e Petrolina, é possível perceber que a prevalência de positivos em caprinos, ovinos e gatos foi maior no município de Lagoa Grande, podendo estar relacionado a uma alta contaminação ambiental nessa localidade, assim como menor infra-estrutura, saneamento básico precário, e conseqüentemente maior população de ratos (*Rattus norvegicus*), que são os principais reservatórios da doença. Quanto aos silvestres, o que favoreceu a positividade em Petrolina, foi porque os marsupiais sororreagentes se localizavam nas proximidades do Rio São Francisco.

No município de Petrolina, houve um caso humano suspeito em cada um dos respectivos anos de 2009, 2011, 2014 e 2015, sendo que todos os acometidos eram de outras localidades, portanto considerados casos importados (SINAN, 2015). Porém sabe-se que *Leptospira interrogans*, encontra-se circuntante na região, e que os animais domésticos estão sempre em contato com o homem, principalmente os cães, e que os seres humanos exploram cada vez mais o habitat silvestre. Portanto é necessário maior investigação dos casos humanos, e não descartar a possibilidade de infecção bacteriana por *Leptospirana* Mesorregião do São Francisco Pernambucano, sendo importante incluir a Leptospirose no diagnóstico clínico e laboratorial, para confirmação dos casos suspeitos, e dessa forma a doença deixará de ser negligenciada. Sendo válido a realização de estudo epidemiológico investigativo de casos humanos nos municípios de Lagoa Grande e Petrolina.

7 CONCLUSÕES

Com base no estudo realizado, foi possível concluir que a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* foi baixa para todos os mamíferos domésticos (caprinos, ovinos, cães e gatos) e mamíferos silvestres (marsupiais - *Didelphis albiventris*), na Mesorregião do São Francisco Pernambucano, estando provavelmente relacionado aos baixos índices pluviométricos, baixa umidade e altas temperaturas;

Os fatores de risco significativos encontrados na pesquisa para os caprinos e ovinos correspondem aos critérios de ter mais de três anos de idade e pertencer a rebanhos com tipo de piso de cimento respectivamente, assim como o tamanho do rebanho (mais de 100 animais) foi expressivo para ambas as espécies. Para os cães possuir coleção de água em suas proximidades foi estatisticamente um fator relevante. Dessa forma tornando-se possível adotar medidas de prevenção;

Por meio da execução desse trabalho, foi possível conhecer a importância da leptospirose para a região, notando-se que não deve ser negligenciada, visto que pode causar problemas na produção de pequenos ruminantes e acarretar a doença no homem.

REFERÊNCIAS

- ABGUEGUEN, P. Leptospirosis. **Tratado de medicina**, V.18, N.4, 2014.
- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A.P. Leptospira and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v.140, p.287-296, 2010.
- AGUIAR, D. M. et al. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.1, p.70-76, 2007.
- ALVES, C. J.; VASCONCELOS, S. A.; CAMARGO, C. R. A.; MORAIS, Z. M. Influência dos fatos 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. et al. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslanados do semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.6, p.523-528, 2012.
- ALVES, C. J. et al. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães no município de Patos- PB, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 7, n. 1, p. 17-21, 2000.
- ALVES, C.J. et al. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães de caça na Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 1/2, p. 68-73, 2004.
- ALLWOOD, P. et al. Knowledge, perceptions, and environmental risk factors among Jamaican households with a history of leptospirosis. **Journal of Infection and Public Health**, v.7, p.314-322, 2014.
- ARAÚJO NETO, J. O. et al. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**.v. 47, n. 2, p. 150-155, 2010.
- AZEVEDO, S. S. et al. Occurrence and risk factors associated with leptospirosis in dogs attended in a veterinary hospital in the semiarid of the Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, v.48, n.2, p. 161-166, 2011.
- BATISTA, C. S. A. et al. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.179-185, 2005.
- BEAUDU-LANGE, C.; LANGE, E. Unusual clinical presentation of leptospirosis in a cat. **Revue vétérinaire clinique**, v. 49, p.115-122, 2014.

BELTRÃO, B. A. et al. **Diagnóstico do município de Lagoa Grande**. 2005. Disponível:<http://www.cprm.gov.br/rehi/atlas/pernambuco/relatorios/LAGR096.pdf> Acesso em: 26 de Outubro de 2015.

BELTRÃO, B. A. et al. **Diagnóstico do município de Petrolina**. 2005. Disponível:<http://www.cprm.gov.br/rehi/atlas/pernambuco/relatorios/PETR119.pdf> Acesso em: 20 de Janeiro de 2016.

BELTRÃO, B. A. et al. **Diagnóstico do município de Monteiro**. 2005. Disponível:<http://www.cprm.gov.br/rehi/atlas/paraiba/relatorios/MONT120.pdf> Acesso em: 20 de Janeiro de 2016.

BENITEZ, A. et al. Leptospirose em cães errantes encontrados em campus universitário: avaliação sorológica e exame direto da urina. **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 191-196, 2010.

BERNARDI, F.D.C. et al. Immune receptors and adhesion molecules in human pulmonary leptospirosis. **Human Pathology**, v.43, p.1601-1610, 2012.

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

BLAZIUS, R. D. et al. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.21, n.6, p.1952-1956, 2005.

BONVICINO, C. R. J. A.; OLIVEIRA, P.S.; D'ANDREA. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS. Série de Manual Técnicos, v.11, 120p., 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Roteiro para capacitação de profissionais médicos no diagnóstico e tratamento da leptospirose: guia do Instrutor, Secretaria de Vigilância em Saúde**. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014a.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Vigilância epidemiológica**, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2014b.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Vigilância em Saúde**, Fundação Nacional de Saúde. 5ed. Brasília: Funasa, 2002.

CHANG, C. H. et al. Limited diagnostic value of two commercial rapid tests for acute leptospirosis detection in Malaysia. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.80, p.278-281, 2014.

CNPM.2014. Disponível em:<http://www.urbanizacao.cnpm.embrapa.br/conteudo/uf/pe.html>. Acesso em: 26 de Outubro de 2015.

CORRÊA, S. H. R. et al. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 41, n. 3, 2004.

COSTA, R.G. et al. Caracterização do sistema de produção caprino e ovino na região semi-árida da Paraíba, Brasil. **Archivos Zootecnia**, v.57, n.218, p. 195-205, 2008.

ESCÓCIO, C. et al. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.371-379, 2010.

ESTEVES, F.M. et al. Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais e funcionários do zoológico municipal de Uberaba, MG. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.283-288, 2005.

FARIA, M.T. et al. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. **Acta Tropica**, v.108, p.1-5, 2008.

FAVERO, A.C.M. et al. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos Estados Brasileiros. **Ciência Rural**, v. 32, n.4, p. 613-619, 2002.

FERREIRA, D.R.A. et al. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. Em *Cebus* spp. mantidos em cativeiro no Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.11, p.1019-1023, 2011.

FILHO, A. F. S. et al. **Geologia da folha Garanhuns**. 2008. Disponível: http://www.cprm.gov.br/publique/media/rel_garanhuns.pdf. Acesso em: 20 de Janeiro de 2016.

FOCACCIA, R. Leptospiroses. In: Lomar, A.V.; Diamante, D.; Brito, T. **Tratado de Infectologia**. 4ed. São Paulo: Atheneu, 2009. v.2, Cap.75, p.1383-1397.

GANCHEVA, G.I. Leptospirosis in elderly patients. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.17, n.5, p.592-595, 2013.

GOLDMAN, L.; BENNETT, J. C. Leptospirose. In: William A. Petri, Jr. **Tratado de Medicina Interna**. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. Cap. 369, p.1965-1967.

GUERRA, M.A. Leptospirosis: Public health perspectives. **Biologicals**, v.41, p.295-297, 2013.

HIDALGO, J.L.; SULZER, K.R. Six New Leptospiral Serovars Isolated from Wild Animals in Peru. **Journal of Clinical Microbiology**, v.19, n.6, p.944-945, 1984.

HIGINO, S.S.S. et al. Prevalência de leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.3, p.199-203, 2012.

HIGINO, S.S.S. et al., Flock-level risk factors associated with leptospirosis in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.115, p.69-73, 2013.

HOMEM, V.S.F. et al., Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.2, p.173-180, 2001.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: John Wiley & Sons, 2000. 375 p.

HUGONNARD, M. Apports comparés de la sérologie et de la PCR dans le diagnostic de la leptospirose canine. **Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie**. v.47, p.111-117, 2012.

IBGE.2015. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/uf.php?lang=&coduf=26&search=pernambuco>. Acesso em: 26 de Outubro de 2015.

IPA.2016. Disponível em http://www.ipa.br/indice_pluv.php#calendario_indices. Acesso em: 20 de Janeiro de 2016.

JORGE, S. et al. *Leptospira borgpetersenii* from free-living white-eared opossum (*Didelphis albiventris*): First isolation in Brazil. **Acta Tropica**, v.124, p.147-151, 2012.

KLAASEN, H.L.B.M. et al. A new tetravalent canine leptospirosis vaccine provides at least 12 months immunity against infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.158, p.26-29, 2014.

LANDIM, A.M.S. et al. Soroprevalência da leptospirose e da brucelose em caprinos do rebanho da Embrapa Semiárido. 2012. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/946429>. Acesso em: 26 de Junho de 2014.

LAPOINTE, C.; PLAMONDON, I.; DUNN, M. Feline leptospirosis serosurvey from a Quebec referral hospital. **Canadian Veterinary Journal**, v.54, p.497-499, 2013.

LEON-VIZCAINO, L.; MENDOZA, M. H.; GARRIDO, F. Incidence of abortions caused by leptospirosis in sheep and goats in Spain. **Comparative Immunology, Microbiology e infectious Diseases**, v.10, n.2, p.149-153, 1987.

LENHARO, D.K.; SANTIAGO, M.E.B; LUCHEIS, S.B. Avaliação sorológica para leptospirose em mamíferos silvestres procedentes do parque zoológico municipal de Bauru, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.3, p.333-341, 2012.

LILENBAUM, W. et al. Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.84, p.14-17, 2008.

LILENBAUM, W. et al Identification of *Leptospira* spp. carriers among seroreactive goats and sheep by polymerase chain reaction. **Research in Veterinary Science**, v.84, p.14-17, 2009.

MAGALHÃES, D. F. et al. Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p.167-174, 2006.

MARTINS, G. et al., Diagnosis and control of an outbreak of leptospirosis in goats with reproductive failure. **The Veterinary Journal**, v.193, p.600-601, 2012.

MASCOLLI, R. et al. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana da Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.69, n.2, p.25-32, 2002.

MELO, L.S.S. et al. Principais aspectos da infecção por *Leptospira* spp em ovinos. **Ciência Rural**, v.40, n.5, p.1235-1241, 2010.

MUSSO, D.; SCOLA, B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v.46, p.245-252, 2013.

NELSON, RICHARD W., COUTO, C.GUILLERMO., HORA, Aline Santana. Leptospirose. In: _____. **Medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap.95, p.1315-1317.

OIE. Leptospirosis. 2014.

OLIVEIRA, A.A.F. Soroprevalence of bovine leptospirosis in Garanhuns municipal district, Pernambuco State, Brazil. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.68, p.275-279, 2001.

PAPA, A.; KOTROTSIOU, T. Leptospirosis in Greece. **Acta Tropica**, v.149, p.135-137, 2015.

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Médecine et maladies infectieuses**, v.43, p. 1-9, 2013.

PICARDEAU, M. et al. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: Current tools and emerging Technologies. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.78, p.1-8, 2014.

QUINN, P.J. et al. Lúcia Helena Niederauer Weiss e Rita Denise Niederauer Weiss. Espiroquetas. In: _____. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap.31, p.179.

RENAUD, C. et al. Prevalence of the *Leptospira* serovars bratislava, grippotyphosa, mozdok and pomona in French dogs. **The Veterinary Journal**, v.196, p.126-127, 2013.

RADOSTITS, O.M. et al. Doenças bacterianas. In: _____. **Clínica Veterinária**. 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. Cap. 20, p. 874.

RODRIGUEZ, J. et al. Serologic and Urinary PCR Survey of Leptospirosis in Healthy Cats and in Cats with Kidney Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.28, p.284-293, 2014.

RODRIGUEZ-VIDIGAL, F.F. et al. Leptospirosis in South-western Spain. **Revista Clínica Española**, v.5, p.247-252, 2014.

ROMERO, E. C.; BERNARDO, C. C. M.; YASUDA, P. H. Human leptospirosis: A twenty-nine-year serological study in São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina tropical**, v. 45, n.5, p.245-248, 2003

ROQUEPLO, C. et al. Serological survey of canine leptospirosis in three countries of tropical Africa: Sudan, Gabon and Ivory Coast. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, 2014.

RUBEL, D. et al. *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.2, n.2, 1997.

SALABERRY, S.R.S. et al. Seroprevalence and risk factors of antibodies against *Leptospira* spp. In ovines from Uberlândia municipality, Minas Gerais state, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p.1427-1433, 2011.

SANTANA, I. C. C. **Análise Multivariada no Estudo de Padrões na Mastofauna do bioma Caatinga**. 2006. 98F. Dissertação (Mestrado em Biometria) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2006.

SANTOS, P.J. et al. Seroprevalence and risk factors for Leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.101-106, 2012.

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

SHAH, I. Leptospirosis. **Pediatric Infectious Disease**, v.4, n. 1, p.4-8, 2012.

SILVA, S. J. et al. The importance of *Leptospira interrogans* serovars Icterohaemorrhagiae and Canicola in coastal zone and in southern fields of Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.1, p.34-38, 2014.

SILVA, H.R. et al. Leptospirose-infecção e forma subclínica em crianças de Salvador, Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.2, p.227-233, 2003.

SINAN. 2015. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/novo/>. Acesso em: 12 de Novembro de 2015.

SOCOLOVSKI, C. et al. Strikes, flooding, rats, and leptospirosis in Marseille, France. **International Journal of Infectious Diseases**, v.15, p.710-715, 2011.

TOPAZIO, J. et al. Antibodies to *Leptospira interrogans* in goats and risk factors of the disease in Santa Catarina (West side), Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.99, p.53-57, 2015.

TORTORA, GERARD.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L, Aristóboło Mendes da Silva. In: _____. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. Cap.26, p. 746-747.

TUEMMERS, C. et al. Prevalencia de leptospirosis en perros vagos capturados en la ciudad de Temuco, 2011. **Revista Chilena de Infectologia**, v.30, n.3, p.252-257, 2013.

VANASCO, N.B. et al. Clinical characteristics and risk factors of human leptospirosis in Argentina (1999–2005). **Acta Tropica**, v.107, p.255-258, 2008.

VASCONCELOS, C.H. et al. Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001-2009. **Cadernos de Saúde Coletiva**, v.20, n.1, p.49-56, 2012.

YASUDA, P.H.; SANTA ROSA, C.A.; YANAGUITA, R.M. Variação Sazonal na Prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.14, p.589-596, 1980.

ZHANG, W. et al. Efficacy of cefepime, ertapenem and norfloxacin against leptospirosis and for the clearance of pathogens in a hamster model. **Microbial Pathogenesis**, v.77, p.78-83, 2014.

APÊNDICE A – Questionário aplicado aos proprietários de cães e gatos.

QUESTIONÁRIO SANITÁRIO DE CÃES E GATOS			
Nome:	Raça:	Idade:	Sexo:
Nº da amostra:			
Nome do proprietário:			
Endereço:			
GPS:			
Mucosas: <input type="checkbox"/> Normocorada <input type="checkbox"/> Hipocorada <input type="checkbox"/> Hipercorada			
Alteração de linfonodos? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
<input type="checkbox"/> submandibular <input type="checkbox"/> pré-escapular <input type="checkbox"/> poplíteo			
Dieta?			
Local que o animal vive?			
Tem contato com outros animais? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Quais?			
Contato com mata/caatinga? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Contato com lixo? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Hábitos de caça de roedores? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Coleção de águas próximas? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Contato com água parada? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Vacinação? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			
Quais as vacinas?			
Vermifugados? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO			

APÊNDICE B – Questionário aplicado aos proprietários dos rebanhos de caprinos e ovinos nas propriedades estudadas.

QUESTIONÁRIO SANITÁRIO DE CAPRINOS E OVINOS
Nome do proprietário:
Nome da propriedade:
Endereço:
GPS:
Espécie animal:
Tipo de terreno: <input type="checkbox"/> plano <input type="checkbox"/> acidentado <input type="checkbox"/> Outro
INFORMAÇÕES RELACIONADAS AO REBANHO
Quantidade de animais: <input type="checkbox"/> <100 <input type="checkbox"/> >100
Dieta? Qual o local de armazenamento? Cão/gato tem acesso ao local?
Qual a fonte de água? Tem bebedouro? Qual o tipo? Tem comedouro? Qual o tipo? Qual a frequência de limpeza?
Quantidade por categorias: <input type="checkbox"/> jovens <input type="checkbox"/> adultos
Origem: Faz quarentena?
Tipo de criação: <input type="checkbox"/> Confinada <input type="checkbox"/> Semi-confinada <input type="checkbox"/> Extensiva
Tipo de piso (Cimento, terra, grama, ripado):
Frequência de limpeza?
Contato com cão? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO

Contato com gato? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Presença de ratos? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Coleção de água próxima ou dentro da propriedade? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Os animais têm apresentado perda de peso? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Tem observado redução na produção dos animais? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Apresentam problemas reprodutivos? (por ex. anestro) <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Abortos? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO Frequência? O que faz com o aborto- Destino de fetos abortados e placenta?
Quais as principais causas de morte no rebanho?
Destino de animais mortos?
Utilização de piquetes de parição? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Uso de inseminação artificial? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Aluguel do seu próprio pasto? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO Animais pastejam em outros pastos? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Assistência veterinária? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO Frequência?
Troca de reprodutores? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO
Contato com animais silvestres? <input type="checkbox"/> SIM <input type="checkbox"/> NÃO Quais?