

# Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco

## *Seroprevalence of leptospirosis in goats of the Seridó Oriental microregion, Rio Grande do Norte State, Northeastern Brazil, and risk factors research*

José Othon de ARAÚJO NETO<sup>1</sup>; Clebert José ALVES<sup>1</sup>; Sérgio Santos de AZEVEDO<sup>1</sup>; Maria Luana Cristiny Rodrigues SILVA<sup>1</sup>; Carolina de Sousa Américo BATISTA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP

### Resumo

Foi realizado um levantamento soropidemiológico da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, com o objetivo de determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e identificar fatores de risco associados à infecção. Foram colhidas amostras de soro sanguíneo de 366 cabras em idade reprodutiva de 12 rebanhos. Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp., foi utilizada a Soroaglutinação Microscópica (SAM) com uma coleção de 24 sorovares de leptospirosas vivas como antígenos. Dos 366 caprinos investigados, 53 foram soropositivos para pelo menos um sorovar de *Leptospira* spp., resultando em uma soroprevalência 14,5% (IC 95% = 11,0 – 18,5). O sorovar mais frequente foi o Autumnalis (73,6% das reações positivas). Não foram encontradas variáveis associadas à ocorrência de leptospirose ( $p > 0,05$ ).

**Palavras-chave:** *Leptospira* spp. Soroprevalência. Fatores de risco. Caprinos. Seridó Oriental.

### Abstract

A sero-epidemiological survey was conducted to determine the prevalence of anti-*Leptospira* spp. antibodies as well as to identify risk factors associated with infection in goats of the Seridó Oriental microregion, Rio Grande do Norte State, Northeastern Brazil. Serum samples from 366 adult goats from 12 herds were collected. For serological diagnosis of *Leptospira* spp. infection, the microscopic agglutination test (MAT) was carried out using 24 live *Leptospira* spp. serovars as antigens. Out of the 366 investigated goats, 53 were seropositive for at least one *Leptospira* spp. serovar, resulting in a seroprevalence of 14.5% (95% CI = 11.0% – 18.5%). The most prevalent serovar was the Autumnalis (73.6% of the positive reactions). There were no variables associated with leptospirosis occurrence ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** *Leptospira* spp. Seroprevalence. Risk factors. Goats. Seridó Oriental microregion.

## Introdução

Nos últimos dez anos, a cadeia produtiva da ovinocaprinocultura no Brasil vem evoluindo da condição de subsistência para bases empresariais, embora ainda com baixa produtividade. Uma das razões está no regime de manejo da exploração predominantemente extensiva e rudimentar, com alta dependência da

### Correspondência para:

Sérgio Santos de Azevedo  
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e  
Tecnologia Rural, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária  
Av. Universitária, Bairro Santa Cecília  
58700-970, Caixa Postal 64, Patos, Paraíba, Brasil  
e-mail: ssazevedo@cstr.ufcg.edu.br

Recebido para publicação: 09/02/2009

Aprovado para publicação: 07/01/2010

vegetação nativa, utilização de raças não especializadas, assistência técnica deficitária, baixo nível de organização e de gestão da unidade produtiva e, sobretudo, carece de controle sanitário efetivo. Dessa forma, este mercado vem exigindo maior preocupação sanitária, que incluem medidas de biossegurança com exames diagnósticos rápidos e confiáveis. Neste contexto, o estudo da leptospirose entre estes animais é relevante, devido à ocorrência de problemas da esfera reprodutiva, diminuição da produção de leite e a possibilidade de transmissão do agente para os seres humanos<sup>1</sup>.

A leptospirose em caprinos normalmente apresenta-se de forma assintomática. Do ponto de vista epidemiológico, essa forma é a mais importante, pois garante a permanência de animais eliminadores da bactéria no meio ambiente, expondo outros animais e seres humanos ao risco de infecção. Entretanto uma forma aguda pode ocorrer com sinais clínicos severos e perda significativa de cabras. Neste caso, caprinos podem apresentar febre, anorexia, icterícia, hemoglobinúria, anemia, abortamento, nascimento de crias fracas ou natimortos, e infertilidade<sup>2</sup>.

Trabalhos recentes conduzidos em caprinos no Brasil apontaram frequências de animais soropositivos variando de 3,4% a 30,45%. Fávero et al.<sup>3</sup> examinaram caprinos dos Estados de São Paulo, Ceará e Paraíba e obtiveram soropositividades de 2,4%, 1,5% e 5,1%, respectivamente. No Estado do Rio Grande do Sul, Schmidt, Arosi e Santos<sup>4</sup> examinaram 354 caprinos e encontraram uma soropositividade de 3,4%. Lilenbaum et al.<sup>5</sup> obtiveram uma soropositividade de 11,1% em 1.000 caprinos do Estado do Rio de Janeiro. Também no Rio de Janeiro, Lilenbaum et al.<sup>6</sup> encontraram uma frequência de 20,8% de animais soropositivos entre 248 caprinos leiteiros adultos. Lopes et al.<sup>7</sup>, na microrregião de Mossoró, RN, examinaram 348 caprinos e encontraram uma frequência de 30,45% de animais soropositivos.

O Estado do Rio Grande do Norte possui um rebanho caprino de 401.510 cabeças distribuídas em todas as mesorregiões. De 1997 a 2007 houve um expressivo crescimento (177%) do rebanho estadual<sup>8</sup>. De acordo com Lima<sup>9</sup>, a mesorregião Central Potiguar apresenta a maior concentração de caprinos leiteiros do Estado, sendo que a microrregião do Seridó Oriental apresenta-se em franco crescimento.

Tendo em vista a importância da caprinocultura para a região Nordeste do Brasil, as perdas econômicas ocasionadas pela doença e a possibilidade de transmissão para seres humanos, o presente trabalho teve como objetivo determinar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em rebanhos caprinos da microrregião do Seridó Oriental do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, bem como identificar possíveis fatores de risco associados à infecção.

## Material e Método

Foram colhidas amostras de soro sanguíneo de cabras em idade reprodutiva de 12 rebanhos da Microrregião do Seridó Oriental do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, no período de fevereiro a abril de 2007. O número de amostras necessárias foi calculado com base nos seguintes parâmetros<sup>10</sup>: (a) Prevalência esperada de 50% (para maximizar a amostra), (b) Nível de confiança de 95% e (c) Erro de 6%, que resultou em um N amostral de 267 amostras. No total, foram colhidas 366 amostras. Para a seleção dos animais por propriedade, foi utilizada amostragem aleatória sistemática, e o número de animais a serem amostrados por propriedade foi definido de forma proporcional ao número total de cabras em idade reprodutiva de acordo com a fração amostral.

A colheita do sangue foi efetuada por venopunção jugular, utilizando-se tubos de colheita a vácuo de 10 ml, sem anticoagulante. As amostras de sangue colhidas, após coagulação, foram centrifugadas a 3.500

rpm por 10 minutos e os soros obtidos foram acondicionados em microtubos e refrigerados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Na ocasião da colheita de sangue, foi aplicado um questionário epidemiológico por propriedade que serviu de parâmetro para a análise de possíveis fatores de risco associados à leptospirose. Esse questionário continha perguntas fechadas sobre manejo, tipo de exploração, presença de outros animais no rebanho, alimentação, comercialização de animais, participação em feiras e exposições, práticas vacinais, vermifugação, presença, época do ano e número de abortos no último ano e higiene das instalações.

O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado com a reação de soroaglutinação microscópica (SAM)<sup>11</sup>, com uma coleção de antígenos vivos que incluiu 22 sorovares patogênicos e dois saprófitos de *Leptospira* spp.: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Sentot, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Wolffi, Hardjo (Hardjobovis e Hardjoprajtino), Shermani, Tarassovi, Javanica, Andamana e Patoc. Os sorovares eram utilizados com cinco a oito dias de cultivo no meio de EMJH (Ellinghausen, Mac Cullough, Johnson e Harris), modificado e enriquecido com soro de coelho, asparagina e cloreto de cálcio e magnésio<sup>12</sup>.

Inicialmente, os soros foram testados na diluição 1:100 e aqueles que apresentaram pelo menos 50% de aglutinação foram considerados positivos. Os soros reagentes foram submetidos a diluições seriadas em escala geométrica de razão dois até a máxima diluição positiva ser determinada. O título de anticorpos foi considerado como a recíproca da maior diluição que apresentou 50% de leptospirosas aglutinadas em campo microscópico. O sorovar mais provável foi aquele para o qual o soro apresentou maior título, e soros que apresentaram títulos iguais para dois ou mais sorovares foram desconsiderados da análise. O diluente utilizado na técnica de soroaglutinação microscópica foi a solução salina tamponada de Sorensen estéril<sup>13</sup>.

Para a análise de possíveis fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp., foram utilizados os dados colhidos nos questionários epidemiológicos. A análise de fatores de risco foi conduzida em duas etapas: análise univariada e análise multivariada. Na análise univariada, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (condição sanitária do animal). Aquelas que apresentaram um valor de  $p \leq 0,15$  pelo teste de qui-quadrado<sup>14</sup>, foram selecionadas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão logística múltipla<sup>15</sup>, para a definição de um modelo que melhor identificasse os fatores de risco. O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 13.0 for Windows.

## Resultados e Discussão

Dos 366 caprinos investigados, 53 foram soropositivos para pelo menos um sorovar de *Leptospira* spp., resultando em uma soroprevalência 14,5% (IC 95% = 11,0 – 18,5). Na análise univariada não houve variáveis associadas à ocorrência de leptospirose ( $p > 0,05$ ), no entanto, acredita-se que o contato com animais selvagens e roedores, bem como a presença de bovinos e cães nas propriedades possam estar contribuindo para a ocorrência da doença, uma vez que foram evidenciadas reações sorológicas para sorovares usualmente mantidos por essas espécies.

No Brasil, resultados de prevalência de anticorpos inferiores aos desse trabalho foram encontrados por Fávero et al.<sup>3</sup>, na Paraíba, que referiram uma soroprevalência de 5,1% de animais positivos para leptospirose pela técnica de soroaglutinação microscópica, num estudo retrospectivo; por Lilenbaum et al.<sup>5</sup>, no Rio de Janeiro, com 11,1% de soropositividade, sendo o sorovar Hardjo o único encontrado; e por Schmidt, Arosi e Santos<sup>4</sup>, no Rio Grande do Sul, que encontraram 3,4% de animais soropositivos. Resultados muito próximos aos encontrados

no presente trabalho foram referidos por Alves<sup>16</sup> (16,19%), trabalhando com cinco centros de criação de caprinos na Paraíba, e por Araújo<sup>17</sup> (13,11%), em caprinos nas microrregiões do Cariri Ocidental e Cariri Oriental do Estado da Paraíba.

Em outros países, prevalências superiores foram encontradas em várias ocasiões. Ciceroni et al.<sup>2</sup>, na Bolívia, referiram uma soroprevalência de 19,7%; em Barbados, Damude, Jones e Myers<sup>18</sup> encontraram prevalência de 19%; e no Egito, Maronpot e Barsoum<sup>19</sup> relataram uma alta prevalência de aglutininas anti-leptospiras em cabras (42,1%). A variação entre os resultados encontrados nos vários estudos de prevalência da leptospirose nos caprinos no Brasil e em outros países pode estar associada a alguns fatores relacionados à epidemiologia da doença, que podem afetar o seu comportamento. Entre eles destacam-se a topografia, região, temperatura, umidade, precipitações pluviométricas, reservatórios selvagens, reservatórios domésticos e outros fatores ambientais<sup>20</sup>, bem como pela utilização de sorovares distintos no diagnóstico sorológico e técnicas de amostragem distintas. De acordo com Alves<sup>16</sup>, as condições do ambiente influenciam bastante no comportamento da leptospirose, podendo-se relacionar altos índices pluviométricos com taxas maiores de ocorrência de leptospirose.

No presente estudo o sorovar mais frequente foi o Autumnalis, responsável por 73,6% das reações positivas (Tabela 1). Dados similares foram encontrados por Santa Rosa<sup>13</sup> em São Paulo, Viegas<sup>21</sup> na Bahia, Araújo<sup>17</sup> no Estado da Paraíba e Damude, Jones e Myers<sup>18</sup> em Barbados. A semelhança no tocante ao sorovar mais prevalente encontrado neste trabalho e o encontrado na Paraíba<sup>17</sup>, levando-se em consideração que as áreas de estudos são relativamente próximas, reforça a teoria de que cada região apresenta sorovares característicos.

O sorovar Australis foi responsável por 11,3% das reações positivas. Apesar de pouco citado por outros autores em caprinos, segundo Bolin<sup>22</sup> em regiões particulares, diferentes sorovares de leptospiras são prevalentes e são associados com um ou mais hospedeiros mantenedores que servem de reservatórios de infecção. O contato com os hospedeiros mantenedores ou áreas contaminadas com a urina destes pode causar infecção em outras espécies. Provavelmente este sorovar esteja se mantendo em animais silvestres da região, servindo como reservatórios, podendo eliminar a bactéria no ambiente e favorecendo a infecção de outras espécies, no caso, caprinos. Segundo Côrtes<sup>23</sup> observações epidemiológicas têm indicado que as leptospiras se mantêm circulando na

Tabela 1 - Frequência de cabras em idade reprodutiva provenientes de rebanhos da Microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, soropositivas para a leptospirose segundo o sorovar e seus respectivos títulos

Sorovares	Títulos				Total (%)
	100	200	400	800	
Autumnalis	18	17	3	1	39 (73,6)
Australis	4	1	1	0	6 (11,3)
Icterohaemorrhagiae	2	2	0	0	4 (7,5)
Hardjo	1	1	0	0	2 (3,8)
Canicola	2	0	0	0	2 (3,8)
Total	27	21	4	1	53
(%)	(50,9)	(39,6)	(7,5)	(1,9)	(100)

população de hospedeiros primários, usualmente roedores selvagens, a partir dos quais alcançam outras populações de animais sinantrópicos e/ou domésticos. Estes são os hospedeiros secundários e acidentais.

O sorovar *Icterohaemorrhagiae* apresentou quatro soros reagentes, representando 7,5% das reações positivas. A presença de reações positivas para esse sorovar aponta a importância da população de roedores na transmissão da doença e reforça a necessidade de programas de controle de roedores, adotando além das medidas ofensivas (desratização), normalmente as únicas utilizadas, a inclusão de modificações ambientais como medidas preventivas (antirratização) e educação em saúde.

Os sorovares Hardjo e Canicola foram responsáveis por 3,8% de reações positivas. Em caprinos, no Rio Grande do Sul, Schmidt, Arosi e Santos<sup>4</sup> encontraram o sorovar Hardjo como o segundo mais prevalente. Embora os bovinos sejam os hospedeiros principais do sorovar Hardjo, o estreito convívio dos caprinos com bovinos, principalmente nos grandes rebanhos, propicia essa transmissão entre espécies e, a partir de caprinos infectados, pode ocorrer disseminação entre as espécies<sup>24</sup>.

A presença de reações para o sorovar Canicola aponta os cães como possíveis transmissores da bactéria para os caprinos, reforçando a sua importância, ainda que secundária quando comparado aos roedores, como fontes de infecção para outros animais. Esta é mais uma evidência de que cães, bem como os

gatos, devem ser mantidos afastados de rebanhos caprinos e pecuários em geral.

Neste estudo, prevaleceram baixos títulos de anticorpos, concordando com as pesquisas realizadas por Ciceroni et al.<sup>25</sup>, que trabalhando com caprinos, encontraram títulos sempre iguais ou inferiores a 200. Schmidt, Arosi e Santos<sup>4</sup> conduziram um estudo em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, e encontraram títulos de anticorpos abaixo de 400. Segundo Arduino et al.<sup>26</sup> as leptospiroses são antígenos pobres, induzindo respostas imunológicas baixas e por um curto período de tempo. O padrão dos títulos de anticorpos encontrados nesse trabalho sugere que as infecções não eram recentes ou ainda que possa haver uma tolerância da espécie em questão aos sorovares para os quais reagiram.

## Conclusão

Foram encontradas cabras em idade reprodutiva soropositivas para *Leptospira* spp. em rebanhos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, com predominância de reações para o sorovar Autumnalis. Embora não tenham sido identificados na análise estatística fatores de risco associados à infecção, acredita-se que o contato com animais selvagens e roedores, bem como a presença de bovinos e cães nas propriedades possam estar contribuindo para a ocorrência da doença, uma vez que foram evidenciadas reações sorológicas para sorovares usualmente mantidos por essas espécies.

## Referências

1. FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira and leptospirosis*. 2. ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272 p.
2. CICERONI, L.; BARTOLONI, A.; PINTO, A.; GUGLIELMETTI, P.; VALDEZ VÁSQUEZ, C.; GAMBO, A.; BARAHONA, H.; ROSELLI, M.; GIANNICO, E.; PARADISI, F. Serological survey of leptospiral infections in sheep, goats and dogs in Cordillera province. *New Microbiologica*, v. 20, p. 77-81, 1997.
3. FÁVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. Sorovares de leptospiroses predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Ciência Rural*, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.
4. SCHMIDT, V.; AROSI, A.; SANTOS, A. R. Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 32, n. 4, p. 609-612, 2002.
5. LILENBAUM, W.; DE SOUZA, G. N.; RISTOW, P.; MOREIRA, M. C.; FRAGUAS, S.; CARDOSO VDA, S.; OELEMANN, W. M. A serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis-encephalitis virus and *Leptospira* in dairy goats in Rio de Janeiro, Brazil. *The Veterinary Journal*, v. 173, n. 2, p. 408-412, 2007.

6. LILLENBAUM, W.; VARGES, R.; MEDEIROS, L.; CORDEIRO, A. G.; CAVALCANTI, A.; SOUZA, G. N.; RICHTZENHAIN, L.; VASCONCELLOS, S. A. Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 84, n. 1, p. 14-17, 2008.
7. LOPES, F. C.; SAKAMOTOS, S. M.; SOUZA, C. H.; AZEVEDO, S. S.; SILVA, J. B. A. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em rebanhos caprinos leiteiros na microrregião de Mossoró – RN. In: CONBRAVET. CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35.; ENCONTRO DE SAÚDE VETERINÁRIA DO CONESUL, 1.; CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 17.; CONGRESSO ESTADUAL DA ANCLIVEPA, 3.; CONGRESSO DE MÉDICOS VETERINÁRIOS DO CONESUL, 5.; EXPOVET – FEIRA DE PRODUTOS E SERVIÇOS EM MEDICINA VETERINÁRIA, 11., 2008, Gramado. [Anais...]. 1 CD-ROM.
8. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Pesquisa Pecuária Municipal**, 2007. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=20>>. Acesso em: 24 set. 2009.
9. LIMA, G. F. C. **Criação familiar de caprinos e ovinos no Rio Grande do Norte: orientações para viabilização do negócio rural**. Natal: EMATER-RN, EMPARN, Embrapa Caprinos, 2006. 426 p.
10. THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 2. ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995. 479 p.
11. COLE JR, J. R.; SULZER, C. R.; PURSELL, A. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Applied Microbiology*, v. 25, n. 6, p. 976-980, 1983.
12. ALVES, C. J. **Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do estado da Paraíba, Brasil**. 1995. 104 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
13. SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. *Revista de Microbiologia*, v. 1, p. 97-109, 1970.
14. ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663 p.
15. HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: John Wiley & Sons, 2000. 375 p.
16. ALVES, C. J. **Influência de fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do estado da Paraíba, Brasil**. 1995. 104 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
17. ARAÚJO, A. R. C. P. **Inquérito soro-epidemiológico para a leptospirose caprina nas microrregiões do Cariri Ocidental e Cariri Oriental do Estado da Paraíba, Brasil**. 2006. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2006.
18. DAMUDE, D. F.; JONES, C. J.; MYERS, D. M. A study of leptospirosis among animals in Barbados WI. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 73, n. 2, p. 161-168, 1979.
19. MARONPOT, R. R.; BARSOUM, I. S. Leptospiral microscopic agglutinating antibodies in sera of man domestic animals in Egypt. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 21, p. 467-472, 1972.
20. ALVES, C. J.; ANDRADE, J. S. L.; VASCONCELOS, S. A.; MORALS, Z. M.; AZEVEDO, S. S.; SANTOS, F. A. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães no município de Patos-PB, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 7, n. 2, p. 17-21, 2000.
21. VIEGAS, E. A. **Estudo de novos sorotipos de leptospiroses apatogênicas na prova de soroaglutinação microscópica para o diagnóstico da leptospirose caprina e ovina**. 1985. 63 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1985.
22. BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. *Seminars in Veterinary Medical Surgery (Small Animal)*, v. 11, n. 3, p. 166-171, 1996.
23. CÔRTEZ, J. A. Aspectos epidemiológicos e ecológicos da leptospirose. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 3., 1993, Rio de Janeiro. *Anais ...* Rio de Janeiro, 1993. p. 53-57.
24. HERRMANN, G. P.; RECUERO, A. L. C.; FORSTER, K. M.; BERMUDEZ, V. L.; SEYFFERT, N.; DA SILVA, P. L.; BROD, C. S. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 34, n. 2, p. 443-448, 2004.
25. CICERONI, L.; LOMBARDO, D.; PINTO, A. CIARROCCHI, S.; SIMENONI, J. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. *Journal Veterinary Medicine*, v. 47, n. 3, p. 217-223, 2000.
26. ARDUINO, G. G. C.; GIRIO, R. J. S.; FREIRE, M. M.; MARCHIORI FILHO, M. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos leiteiros vacinados com bacterina polivalente comercial: perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. *Ciência Rural*, v. 34, n. 3, p. 865-871, 2004.