

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA AGROPECUÁRIA**

**LEVANTAMENTO DA LEPTOSPIROSE EM AMOSTRAS DE
SUÍNOS DO TERRITÓRIO DE IDENTIDADE SEMIÁRIDO
NORDESTE II DO ESTADO DA BAHIA.**

Jaqueline Santos Jorge

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

2017

**LEVANTAMENTO DA LEPTOSPIROSE EM AMOSTRAS DE SUÍNOS
DO TERRITÓRIO DE IDENTIDADE SEMIÁRIDO NORDESTE II DO
ESTADO DA BAHIA**

Jaqueline Santos Jorge

Bacharel em Medicina Veterinária

União Metropolitana de Educação e Cultura – UNIME, 2007

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Defesa Agropecuária, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Defesa Agropecuária.

Orientador: Dr. Robson Bahia Cerqueira

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

J82I

Jorge, Jaqueline Santos.

Levantamento da leptospirose em amostras de suínos do território de identidade Semiárido Nordeste II do Estado da Bahia / Jaqueline Santos Jorge. -- Cruz das Almas, BA, 2017.

104f.; il.

Orientador: Robson Bahia Cerqueira.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Suíno – Doença. 2.Suíno – Leptospirose. 3.Regiãoes áridas – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 636.08969

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM DEFESA AGROPECUÁRIA**

**LEVANTAMENTO DA LEPTOSPIROSE EM AMOSTRAS DE SUÍNOS
DO TERRITÓRIO DE IDENTIDADE SEMIÁRIDO NORDESTE II DO
ESTADO DA BAHIA**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Jaqueline Santos Jorge

Aprovada em: 13 de Setembro de 2017

Prof. Dr. Robson Bahia Cerqueira
UFRB – Orientador

Prof. Dr. Carlos Eduardo Crispim de Oliveira Ramos
UFRB – Examinador Interno

Profa. Dra. Ana Karina da Silva Cavalcante
UFRB – Examinadora Interna

DEDICATÓRIA

Dedico primeiramente à Deus, autor do meu destino e a todos que acreditaram em meu potencial.

AGRADECIMENTOS

A Deus, aos meus pais pelo estímulo, força e presença em todos os momentos de minha vida, por participarem deste vínculo de amor, suporte e alegria que é a minha família.

Ao meu noivo ALFL, pelos ensinamentos que fortaleceram meu caráter, compreensão e ajuda nesse período.

Agradeço a todos os meus amigos, em especial a Iremar Neves e Verena Belandi que a todo o momento primava pelo meu sucesso.

Agradeço ao professor Carlos Ramos pela amizade, conselhos e pelas lições de ciência e vida que carrego comigo todos os dias.

Agradecimento especial ao meu orientador Robson Bahia Cerqueira, pelos ensinamentos científicos e pessoais. Um orientador, um amigo sempre presente nos momentos de dúvidas e incertezas. Agradeço pela oportunidade, orientação e liberdade que tive ao conduzir este e outros projetos.

Agradeço também a Vinícius Vieira e Kayque Barreto, meus colegas de laboratório, a quem tanto tive apoio, ajuda e amizade.

Agradeço todos que direta ou indiretamente me ajudaram a chegar até aqui. Agradeço a Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e o Programa de Pós Graduação em Defesa Agropecuária pela oportunidade de executar esse trabalho, bem como a FAPESB pela concessão da bolsa.

EPÍGRAFE

“Sábio é o ser humano que tem coragem de ir diante do espelho da sua alma para reconhecer seus erros e fracassos e utilizá-los para plantar as mais belas sementes no terreno de sua inteligência”.

Augusto Cury

LEVANTAMENTO DA LEPTOSPIROSE EM AMOSTRAS DE SUÍNOS DO TERRITÓRIO DE IDENTIDADE SEMIÁRIDO NORDESTE II DO ESTADO DA BAHIA

RESUMO: A leptospirose é uma zoonose bacteriana que assume considerável papel como problema econômico e de saúde pública. Neste estudo objetivou-se detectar anticorpos anti-leptospira em 337 amostras de suínos de cinco cidades pertencentes ao estado da Bahia. As amostras foram processadas pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em campo escuro utilizando os 19 sorovares: Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola, Gryppotyphosa, Pomona, Australis, Bataviae, Castellonis, Cynopteri, Javanica, Panama, Pyrogenes, Hardjo, Sejroe, Patoc, Tarassovi, Autumnalis, Hebdomadis e Wolffi. A ocorrência de anticorpos nas cidades foi de 74,18%, sendo 50 (20%) provindos de soros da cidade de Adustina, 50 (20%) de Antas, 50 (20%) de Cícero Dantas, 50 (20%) de Paripiranga e 50 (20%) de Coronel João Sá. Todas as amostras foram sororeagentes para mais de um sorovar sendo o mais frequente o Icterohaemorrhagiae 59 (23,6%), seguido do Copenhageni 48 (19,2%) e Canicola 33 (13,2%). Foi observada pelo presente levantamento uma porcentagem de 74,18% soro-reagentes com predominância para sorovariedade Icterohaemorrhagiae (23,6%), Copenhageni (19,20%) e Canicola (13,20%), com maior positividade para as diluições 1: 1600 e 1: 3200. A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* estimada via Modelos Lineares Generalizados apresentou estimativas com valores significantes em parâmetros relacionados à raça destes animais

Palavras-chave: Spirochaeta icterohaemorrhagiae, Leptospira, Soroaglutinação microscópica

SEROLOGICAL SURVEY OF LEPTOSPIROSIS IN SWINE SAMPLES OF THE NORTHEAST II SEMI-ARID IDENTITY TERRITORY OF THE STATE BAHIA

ABSTRACT: The leptospirosis is a bacterial zoonosis that assumes considerable role as an economic and public health problem. This study aimed to detect anti-leptospira antibodies in 337 swine samples from five cities in the state of Bahia. As samples were processed by the technique of Microscopic Seroagglutination (SAM) in the field only the 19 type strains: Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola, Gryppotyphosa, Pomona, Australis, Bataviae, Castellonis, Cynopteri, Javanica, Panama, Pyrogenes, Hardjo, Sejroe, Patoc, Tarassovi, Autumnalis, Hebdomadis e Wolffi. The occurrence of antibodies in the cities was 74,18%, being 50 (20%) of sera from the city of Adustina, 50 (20%) from Antas, 50 (20%) from Cicero Dantas, 50 (20%) from Paripiranga and 50 (20%) of Coronel João Sá. All samples were seroreactive for more than one serovar, the most frequent being Icterohaemorrhagiae 59 (23,6%), followed by Copenhageni 48 (19,2%) and Canicola 33 (13,2%). A percentage of 74.18% serum-reactants with predominance for serovarity Icterohaemorrhagiae (23.6%), Copenhageni (19.20%) and Canicola (13.20%) were observed, with a higher positivity for dilutions 1: 1600 and 1: 3200. The serum positivity of *L. interrogans* estimated by Generalized Linear Models presented estimates with significant values in parameters related to the breed of these animals

Keywords: Spirochoeta icterohaemorrhagiae, Leptospira, microscopic seroagglutination

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Sorogrupos e alguns sorovares da espécie *L. interrogans* sensu lato (classificação sorológica) representação do teste de triagem realizado com os soros de suínos pelo teste de SAM em Contraste de Fase distribuída por 19 sorovares de *Leptospira* 24
- Tabela 2 Espécies genômicas de *Leptospira* e distribuição dos sorogrupos (classificação genotípica) representação do teste de titulação realizado com os soros de suínos pelo teste da SAM em contraste de fase por 19 sorovares de *Leptospira* 25
- Tabela 3 Demonstração dos sorogrupos e variantes sorológicas das leptospiros utilizadas no experimento 47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Micrografia eletrônica de varredura de células <i>Leptospira interrogans</i> que mostram estrutura helicoidal e curvas (gancho) extremidades (ampliação 60.000x)	22
Figura 2 – Soro aglutinação microscópica.....	48
Figura 3 – Representação do teste de triagem realizado com os soros de suínos pelo teste da SAM em Contraste de Fase distribuída por 19 sorovares de <i>Leptospira</i>	53
Figura 4 – Representação do teste de titulação realizado com os soros de suínos pelo teste da SAM em contraste de fase distribuída por 19 sorovares de <i>Leptospira</i>	54
Figura 5 – Estimativas da probabilidade de positividade para <i>L. interrogans</i> em função da convivência com suscetíveis de outros estabelecimentos, convivência/contato com animais silvestres e trânsito nos últimos 60 dias na criação dos suínos via GLM logit	55
Figura 6 – Estimativas da probabilidade de positividade para <i>L. interrogans</i> em função do sexo e raça dos suínos via GLM logit.....	56
Figura 7 – Estimativas da probabilidade de positividade para <i>L. interrogans</i> em função do sistema de criação dos suínos via GLM logit	56
Figura 8 – Estimativas da probabilidade de positividade para <i>L. interrogans</i> em função da vistoria técnica dos suínos via GLM logit	57

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac – Anticorpo

ADAB - Agência de Defesa Agropecuária da Bahia

Ag – Antígeno

ASD - Aspartato-betasemialdeído-desidrogenase

B.O.D - Demanda Bioquímica de Oxigênio

CCL2/ MCP-1 - proteína 1 quimiotática para monócitos

DFAs - doenças febris agudas

DNA - Ácido dextrorribonucleico

ELISA – (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

EMJH - Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris

GLM - Generalized Linear Models

GO – Goiás

IgA - Imunoglobulina tipo A

IgG - Imunoglobulina tipo G

IgM – Imunoglobulina classe M

iNOS - óxido nítrico sintase induzível

LCR - líquido cefalorraquidiano

LDI - Laboratório de Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

LipL32 - Lipoproteína

LPS - Lipopolissacarideo

MG - Minas Gerais

OMPs - Proteína de membrana externa

PBS – Tampão fosfato com salina

PBS-T – Tampão fosfato com salina e Tween 80

PCR - Reação em Cadeia pela Polimerase

PCR – Reação em Cadeia Polimerase

pH - Potencial hidrogeniônico

PR – Paraná

rRNA - Ácido nucleico Ribossomal

SAM – Soroaglutinação microscópica

SC - Santa Catarina

SEI - Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia

SP - São Paulo

T CD4+ - Linfócitos do tipo TCD4

T CD8 – Linfócito T apresentando a molécula CD 8 na superfície

TLRs - receptores Toll-like

UV – ultravioleta

SUMÁRIO

	Página
INTRODUÇÃO	15
OBJETIVO	18
OBJETIVO GERAL.....	18
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
REVISÃO DE LITERATURA	19
APRESENTAÇÃO.....	19
ASPECTOS HISTÓRICOS.....	20
ETIOLOGIA.....	21
SOROVAR X SOROGRUPO X SOROTIPO.....	23
TRANSMISSÃO.....	25
CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS.....	27
VIAS DE ELIMINAÇÃO.....	30
RESERVATÓRIOS.....	30
PORTADORES.....	31
PATOGENIA.....	32
RESPOSTA IMUNE.....	33
DIAGNÓSTICO.....	36
Clínico.....	36
Laboratorial.....	37
TRATAMENTO E PROFILAXIA.....	41
MATERIAL E MÉTODO	45
DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE AMOSTRAS.....	45
ÁREA DE ESTUDO.....	45
AMOSTRAS.....	46
TÉCNICA SORO AGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA.....	48
Triagem.....	48
Titulação.....	50
RESULTADOS	52
DISCUSSÃO	58
CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose bacteriana, de ocorrência variável em diferentes partes do mundo, de caráter sistêmico que afeta diversas espécies de animais domésticos, silvestres e os seres humanos, amplamente disseminada, assumindo considerável papel como problema econômico e de saúde pública (AZEVEDO et al., 2011). Segundo os mesmos autores, os surtos ocorrem por exposição à água contaminada com urina ou tecidos provenientes de animais infectados, particularmente nas ocasiões em que ocorrem elevados índices de precipitações pluviométricas, associando-se ainda à variedade de espécies hospedeiras que facilitam a cadeia de eventos necessários para a transmissão da doença.

A doença se estendeu além das áreas rurais e tornando-se uma das causas de epidemias em comunidades urbanas dos países em desenvolvimento (BIER et al., 2013). Segundo Vasconcelos (2003) e Bier et al. (2003), nesses países, como no caso do Brasil, a sua ocorrência está relacionada ao acelerado e desordenado processo de expansão urbana, onde grande parte da população passou a habitar áreas da periferia, sem o mínimo de condições de infraestrutura e saneamento, facilitando a manutenção de agentes patogênicos nocivos à saúde animal e humana

É considerada atualmente uma das zoonoses mais difundidas do planeta, causada por espécies patogênicas de bactérias pertencentes ao gênero *Leptospira*, o qual atualmente é composto por 19 espécies e mais de 300 sorovares. Os humanos são hospedeiros acidentais da enfermidade, manifestando a doença na forma subclínica ou clínica, mas dificilmente tornando-se portadores renais crônicos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

Em suínos, este tipo de zoonose caracteriza-se pela ocorrência de abortamento no final da gestação, repetição de estro, mumificação fetal, natimortalidade, nascimento de leitões fracos, baixo número de leitões, descarga vulvar patológica e morte embrionária. São considerados os mais importantes animais domésticos portadores da doença, pois neles geralmente

as manifestações clínicas variam de discretas a ausentes, o que dificulta a identificação da infecção na granja (GONÇALVES; COSTA, 2011).

É caracterizada por ser uma importante zoonose de alto risco ocupacional, uma vez que atingem várias categorias profissionais, principalmente médicos veterinários, açougueiros, e funcionários de granjas suínas que estão frequentemente sujeitos ao contato direto com o agente (CAMPOS et al., 2011; GUERRA, 2013; WILSON; SWAI, 2013; OLIVEIRA, 2013).

Os sorovares de leptospiras que mais comumente encontrados são Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, Bratislava e Copenhagi. A vacinação oferece proteção eficiente quando aliada a outras medidas preventivas, especialmente em granjas em que as condições ambientais favoreçam a infecção com leptospiras (OLIVEIRA, 2007).

Atualmente, as principais doenças que afetam a suinocultura brasileira são doenças multifatoriais e de ampla ação antigênica, que por consequência acarretam em redução no desempenho produtivo geral dos sistemas de produção dos suínos. Sendo a matriz suína a principal fonte de novos animais para o criador de suínos, qualquer problema reprodutivo que venha ocorrer pode trazer sérios prejuízos ao suinocultor (BORDIN, 2010).

Levantamentos sorológicos para o diagnóstico da infecção no Brasil, revelaram percentual de 36,6% em Botucatu (SHIMABUKURO et al., 2003), 45% em Pernambuco (FAVERO et al., 2002), 47,1% em Rio Verde (GO), Uberlândia e Uberaba (MG) (OSAVA et al., 2010), 4,7% nos estados do Piauí e Maranhão (GONÇALVES et al., 2011) elevando posteriormente para 5,7% reagentes (GONÇALVES et al., 2016) e 26,6% no Ceará. Existe a ocorrência de anticorpos anti-Leptospira spp. em suínos abatidos em frigoríficos de 59,38% no município de Uberlândia, MG (RIGO et al., 2017).

Os autores Hashimoto et al. (2008), no estado do Paraná, e Shimabukuro et al. (2003), no estado de São Paulo, encontraram ocorrência de 14,58 e 36,64%, respectivamente, utilizando material proveniente de suínos abatidos em frigoríficos. Hashimoto et al. (2010) demonstraram prevalência de anticorpos de 28% em suínos do município de Jaguapitã no estado do Paraná.

Na avaliação de *Leptospira* em roedores é importante averiguar a presença da bactéria nestes animais sob condições adequadas, como pH neutro ou levemente alcalino, umidade e sem exposição direta a raios solares. O sorovar Pomona, por exemplo, pode permanecer viável por até 180 dias, mas em solo seco a bactéria permanece por 30 minutos. A bactéria morre rapidamente quando exposta ao pH ácido, radiação solar e temperaturas inferiores a 7°C ou superiores a 37°C (SOTO et al., 2007).

As perdas e falhas reprodutivas são decorrentes da infecção fetal durante a fase aguda e também das lesões ocorridas nos órgãos genitais durante a fase em que o animal se torna portador crônico do agente. Medidas preventivas globais, executadas sem planejamento, podem ser ineficientes no controle da doença, uma vez que a ocorrência da infecção em uma granja pode estar ligada a características locais (FIGUEIREDO et al., 2013a; SANTOS, 2014).

O controle da doença em animais de produção também deveria ocorrer através de vacinação e educação dos proprietários, veterinários e tratadores. Entretanto, é demonstrado que esta medida de vacinação pode ser fracassada (FELIX, 2013).

Em muitos países, inclusive nos desenvolvidos, esta enfermidade representa uma zoonose importante no que se refere à saúde pública, ocupando, em alguns deles, o primeiro lugar entre as doenças humanas transmitidas por animais. Diversos trabalhos têm procurado estabelecer a real importância econômica e social assumida pela leptospirose nas espécies de animais domésticos no Brasil (VASCONCELOS, 2003).

Considerando o impacto sanitário e econômico causado pelos riscos inerentes a infecção por *Leptospira* spp. em suínos, o presente estudo objetivou realizar um levantamento sorológico em cidades do território de identidade Semiárido Nordeste II do Estado da Bahia.

2 OBJETIVO

OBJETIVO GERAL

Detectar anticorpos anti-leptospira em amostras de soro de suínos criados em granjas rurais localizadas nos municípios de território de Identidade da Bahia

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronizar a técnica de microaglutinação em contraste de fase no LDI.
- Determinar os principais sorovares que acometem os suínos na referida região.
- Avaliar aspectos epidemiológicos nos rebanhos estudados com dados obtidos pela sorologia e análise de clusters ascendente a partir da estrutura do rebanho.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 APRESENTAÇÃO

A leptospirose é uma importante zoonose, de ampla distribuição geográfica, que afeta um diversificado grupo de hospedeiros mamíferos. Trata-se de uma doença tropical bastante negligenciada e por isso reemergente. A doença é causada por bactérias patogênicas pertencentes ao gênero *Leptospira* (ADLER; MOCTEZUMA, 2010), em animais silvestres, sinantrópicos e domésticos, como seus hospedeiros primários. Os humanos são hospedeiros ocasionais (EVANGELISTA; COBURN, 2010).

O caráter zoonótico é um dos aspectos mais importantes da leptospirose. A doença tem se consolidado como zoonose, problema de saúde pública e assumindo papel importante na patologia humana devido à taxa de letalidade que pode ser elevadas, principalmente em indivíduos acometidos pela forma ictérica (GOMES, 2007). Produtores e funcionários que trabalham diretamente no abate de suínos têm risco ocupacional de adquirirem a leptospirose suína (SOTO et al., 2007).

Possui caráter sazonal, intimamente relacionada com períodos chuvosos, quando há elevação dos índices pluviométricos e um conseqüente aumento na incidência de casos da doença. Ocorre tanto em nível rural, quanto urbano, sendo mais grave neste último devido à grande aglomeração da população de baixa renda morando em locais desprovidos de saneamento básico, em condições inadequadas de higiene e habitação, coabitando com roedores que encontram água, abrigo e alimentos necessários à sua proliferação (VASCONCELOS, 2003; BIER et al., 2003)

Os sorovares variam de acordo com a região geográfica em que são encontrados e em função dos aspectos ecológicos que as caracterizam (BENITEZ et al., 2010). Essa alta variedade de sorovares propiciam a ocorrência de variações regionais, bem como nas espécies estudadas. Constata-se, ainda, uma predileção dos diferentes sorovares por determinadas

espécies, podendo um mesmo hospedeiro ser infectado simultaneamente por mais de um sorovar (VILGES DE OLIVEIRA; DE CALDAS, 2013).

Aspectos relacionados à ecologia das leptospiroses ainda não são claros e buscam, ainda que de forma muito primária, lançar luz à discussão por meio de uma abordagem One Health, uma abordagem interdisciplinar, frente à complexa relação entre a interface do agente etiológico, os hospedeiros-reservatórios (animais), o homem e o ambiente em seu contexto de amplificador da doença (RODRIGUES, 2015).

A ocorrência desta enfermidade está relacionada aos níveis socioeconômicos e estrutura sanitária da população. Os grupos socioeconômicos menos favorecidos, com acesso limitado à saúde, residindo em condições precárias, com deficiência de saneamento básico, em locais às margens de córregos ou esgotos a céu aberto, expostos a enchentes, estão mais predispostos a contrair a doença (PELISSARI et al., 2011).

3.2 ASPECTOS HISTÓRICOS

A leptospirose foi inicialmente descrita em 1886, e chamada de “Doença de Weil” por Adolf Weil na Alemanha, que a caracterizou como uma doença infecciosa que causava icterícia, esplenomegalia, e comprometimento renal (FAINE, 1999; LEVETT, 2001).

A bactéria foi isolada pela primeira vez por Inada e colaboradores em 1916 no Japão. Estes pesquisadores realizaram experimentos utilizando cobaias, isolando o microorganismo destes e realizando observações anatômicas e patológicas. Analisando o tecido dos animais, evidenciaram a presença de um espiroquetídeo, que deram o nome de *Spirochoeta icterohaemorrhagiae*.

Dois anos depois do isolamento do agente etiológico, (IDO et al., 1917) estudaram o papel do rato como carreador da bactéria demonstrando que este era um portador crônico e que através do contato com a urina contaminada as pessoas poderiam ficar doentes.

Já em 1915, Uhlenhut e Fromme, provaram a existência do agente etiológico, inoculando sangue de soldados suspeitos de doença de Weil, em cobaias. Os

animais inoculados morreram e leptospiros foram microscopicamente identificadas, sendo chamada de “*Spirochaeta icterohaemorrhagiae*” (LEVETT, 2001).

Nos anos de 1924, foi isolado espiroquetas de pacientes que supostamente tinham febre amarela. A confusão diagnóstica ocorreu devido a dificuldades nos métodos diagnósticos e semelhança da apresentação clínica das doenças (NOGUCHI et al., 1924).

3.3 ETIOLOGIA

O agente etiológico da Leptospirose é uma bactéria do gênero *Leptospira*, pertencente à família *Leptospiraceae*, que são consideradas espiroquetas do tipo móvel, flexível, helicoidais, obrigatoriamente aeróbias, possuem dois flagelos periplasmáticos que se movimentam por rotação. Seu tamanho normalmente é de 0,1 a 0,15 μm de espessura por 6,0 a 12,0 μm de comprimento (VIEIRA, 2012; JUNG, 2013).

A etiologia da leptospirose foi demonstrada inicialmente em 1915 no Japão e na Alemanha. Posteriormente, foi criado o gênero *Leptospira* (do grego *Lepto* = fina, *spira* = espiral). Desde 1915 até 1989, a classificação foi apenas sorológica, onde o gênero *Leptospira* foi dividido em duas espécies, a *Leptospira interrogans*, que compreende todas as estirpes patogênicas; e *Leptospira biflexa*, reunindo as estirpes saprófitas isoladas do ambiente (LEVETT; HAAKE, 2009; NOGUCHI et al., 1924).

Sua motilidade é conferida pela rotação de dois flagelos axiais subjacentes à membrana da bainha, que são inseridas nas extremidades opostas da célula e estende-se em direção ao centro como demonstrado na Figura 1 (LEVETT; HAAKE, 2009).

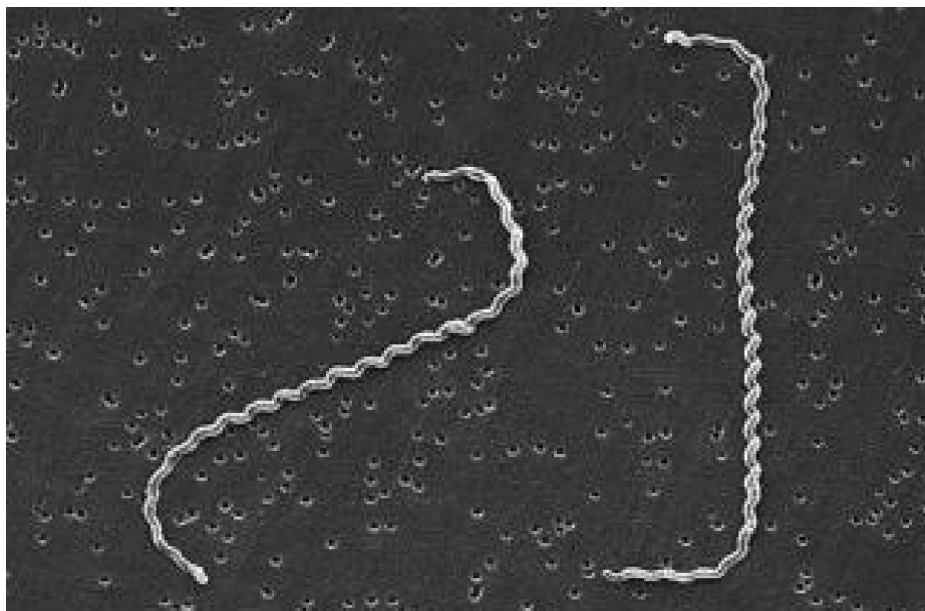


Figura 1 – Micrografia eletrônica de varredura de células *Leptospira interrogans* que mostram estrutura helicoidal e curvas (gancho) extremidades (ampliação 60.000x).

Fonte: LEVETT; HAAKE, 2009.

As leptospiras possuem crescimento ótimo em temperaturas entre 28-30°C. Paralelamente, a membrana externa das leptospiras e demais espiroquetas parece ter baixa densidade de proteínas transmembranares e uma grande quantidade de lipoproteínas (ADLER; CHAPPEL; FAINE, 1982; PEROLAT et al., 1990; LEVETT, 2001).

Possuem dois flagelos, um em cada extremidade, que se encontram imersos no espaço periplasmático, ao contrário do que ocorre com a maioria das bactérias. A rotação destes flagelos induz alterações morfológicas, como o característico formato de gancho, que permitem a mobilidade dessas bactérias em ambientes aquosos ou mesmo com consistência gelatinosa (BARTHI et al., 2003).

Encontra-se dividida em duas espécies: *Leptospira interrogans* que é considerada patogênica, e a espécie *Leptospira biflexa*, que são bactérias de vida livre e não causam doenças. A *L. interrogans* possui inúmeros sorovares, predominando no Brasil o sorovar *icterohemorrhagiae* como o agente causador da leptospirose em humanos (SILVA et al., 2003).

Por causa da sua estrutura, a bactéria precisa de um meio que facilite sua mobilidade e conseqüente penetração na pele humana. A água é o meio ideal e próprio, pois facilita o movimento da *Leptospira*, sendo que seus flagelos necessitam de algo que os impulsionem. Além, disso, ela sobrevive por longos períodos na água ou em solos úmidos como a lama, podendo sobreviver nestes por até 120 dias (VIEIRA, 2012).

Como integrantes do grupo de bactérias Gram-negativas, possuem uma parede celular externa rica em lipopolissacarídeos (LPS), cuja variação determina os distintos sorovares existentes. Adicionalmente, os LPS juntamente com outras proteínas de membrana constituem os principais fatores de virulência existentes nas bactérias Gram-negativas (SANTOS, 2014).

A capacidade de gerar hemólise parece ser essencial para a sobrevivência e para o sucesso reprodutivo das leptospiros patogênicas, não ocorrendo, no entanto, este processo nos sorovares saprófitas (CARVALHO et al., 2010). As hemolisinas, junto aos filamentos axiais, a membrana externa e as proteínas sorovariantes específicas, constituem os principais fatores de virulência do agente (FIGUEIREDO et al., 2013a).

As leptospiros são espiroquetas uniformes quanto ao aspecto morfológico e fisiológico, mas diferem quanto ao aspecto sorológico e epidemiológico, possuem a mesma estrutura de parede celular das bactérias Gram negativas típicas, mas com acamada de peptidoglicano aderido a membrana citoplasmática interna e sobreposto pela membrana externa (GOMES, 2013).

3.4 SOROVAR x SOROGRUPO x SOROTIPO

Estudos genéticos de algumas cepas revelaram as seguintes características, segundo Levett (2001):

O genoma é composto de dois cromossomos circulares, um de 3.850 a 5.450 kb e outro de 350 kb. Este último contém um gene ASD que codifica a enzima aspartato-betasemialdeído-desidrogenase, essencial na biossíntese de aminoácidos e parede celular, sendo qualificado como pequeno cromossomo.

Na Tabela 1 podem-se observar os sorogrupos e sorovares da espécie *L. interrogans*, ainda muito usada para estudos de diagnóstico experimental e epidemiológico (MICHEL et al. 2002).

Tabela 1 – Sorogrupos e alguns sorovares da espécie *L. interrogans* sensu lato (classificação sorológica).

Sorogrupos	Sorovar(es)
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Lai</i>
<i>Hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis, Jules, Kremastos</i>
<i>Autumnalis</i>	<i>Autumnalis, Fortbragg, Bim, Weerasinghe</i>
<i>Pyrogenes</i>	<i>Pyrogenes</i>
<i>Bataviae</i>	<i>Bataviae</i>
<i>Grippotyphosa</i>	<i>Grippotyphosa, Canalzonae, Ratnapura</i>
<i>Canicola</i>	<i>Canicola</i>
<i>Australis</i>	<i>Australis, Bratislava, Lora</i>
<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>
<i>Javanica</i>	<i>Javanica</i>
<i>Sejroe</i>	<i>Sejroe, Saxkoebing, Hardjo</i>
<i>Panama</i>	<i>Panama, Mangus</i>
<i>Cynopteri</i>	<i>Cynopteri</i>
<i>Djasiman</i>	<i>Djasiman</i>
<i>Sarmin</i>	<i>Sarmin</i>
<i>Mini</i>	<i>Mini, Georgia</i>
<i>Tarassovi</i>	<i>Tarassovi</i>
<i>Ballum</i>	<i>Ballum, Arborea</i>
<i>Celledoni</i>	<i>Celledoni</i>
<i>Louisiana</i>	<i>Louisiana, Janka</i>
<i>Ranarum</i>	<i>Ranarum</i>
<i>Manhao</i>	<i>Manhao</i>
<i>Shermani</i>	<i>Shermani</i>
<i>Hurstbridge</i>	<i>Hurstbridge</i>

Fonte: Michel et al., 2002.

Quanto à classificação genotípica, vista na Tabela 2, diante análise molecular do genoma é taxonomicamente correta e fornece uma forte base para futuras classificações (LEVETT, 2001).

Tabela 2 – Espécies genômicas de *Leptospira* e distribuição dos sorogrupos (classificação genotípica).

Espécie	Sorogrupo
<i>L. interrogans</i>	<i>Icterohmmrrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Louisiana, Mini, Sarmin</i>
<i>L. noguchii</i>	<i>Panama, Autumnalis, Pyrogenes, Louisiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona</i>
<i>L. santarosai</i>	<i>Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Javanica, Sarmin, Cynopteri</i>
<i>L. meyeri</i>	<i>Ranarum, Semarang, Sejroe, Mini, Javanica</i>
<i>L. wolbachii</i>	<i>Codice</i>
<i>L. biflexa</i>	<i>Semarang, Andamana</i>
<i>L. fainei</i>	<i>Hurstbridge</i>
<i>L. borgpetersenii</i>	<i>Javanica, Ballum, Hebdomadis, Sejroe, Tarassovi, Mini, Celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis</i>
<i>L. kirschneri</i>	<i>Grippotyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bataviae</i>
<i>L. weilii</i>	<i>Celledoni, Icterohaemorrhagiae, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi, Hebdomadis, Pyrogenes, Manhao, Sejroe</i>
<i>L. inadai</i>	<i>Lyme, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica</i>
<i>L. parva</i>	<i>Turneria</i>
<i>L. alexanderi</i>	<i>Manhao, Hebdomadis, Javanica, Mini</i>

Fonte: Levett, 2001.

3.5 TRANSMISSÃO

Segundo o manual de controle de roedores, existem três espécies consideradas principais na transmissão da doença (BRASIL, 2002):

- *Rattus norvegicus*: conhecidos como ratazanas ou ratos de esgoto, são considerados os maiores de sua espécie, geralmente vivem em beira de córregos, terrenos abandonados e em tocas que cavam em terras.
- *Rattus rattus*: conhecidos como ratos de telhado ou de forro, normalmente possuem orelhas muito grandes e uma longa cauda, vivem

em lugares altos como telhados, forros ou sótãos, descem ao solo à procura de alimentos.

- *Mus musculus*: conhecidos como camundongos, são os menores entre as três espécies causadoras da doença em meio urbano; habitam em casas domiciliares e gostam de fazer seus ninhos em despensas e armários (BRASIL, 2002).

Os médicos veterinários desempenham um importante papel na promoção da saúde pública por meio do diagnóstico e tratamento de doenças em animais, educação em saúde, bem como nas ações para garantir a qualidade dos alimentos de origem animal. A atuação em diversas áreas e setores os colocam em contato com animais e produtos de origem animal, conseqüentemente expostos a inúmeros patógenos, o que os classifica como profissionais de risco para o desenvolvimento de infecções zoonóticas (PAULA et al., 2017).

Alguns autores afirmam haver uma maior ocorrência da doença entre indivíduos do sexo masculino, em média 80% dos casos, em tese porque pessoas do sexo masculino exercem profissões que estão ligadas diretamente a animais que possam estar infectados, conseqüentemente, infectando-se também. Contudo a bactéria acomete pessoas de ambos os sexos e de todas as idades em áreas com saneamento básico precário ou inexistente (CAMPOS et al., 2011).

O risco de contaminação por *Leptospira spp.* para trabalhadores de matadouros frigoríficos sob inspeção sanitária que abatem suínos provenientes de granjas tecnificadas é baixo, mesmo assim é de fundamental importância o constante monitoramento deste agente etiológico, em função de seu potencial zoonótico (CARRIJO et al., 2012).

Os suínos são hospedeiros de manutenção do sorovar *Pomona*, podendo este permanecer nos túbulos renais e ser excretado intermitentemente por vários meses após a infecção (OLIVEIRA, 2007). No estudo de Rigo et al. (2013), a frequência desse sorovar foi baixa, corroborando relatos de Valença et al. (2013), que reportaram frequência de 1,8% para o referido sorovar.

Fatores de risco para leptospirose foram analisados e associados à soroprevalência, em estudantes de medicina veterinária da Universidade de Zaragoza, encontrando 8,14% de prevalência para os estudantes ingressantes e 11,4% ao terminarem o curso. Os fatores de risco associados à doença neste estudo foram: contato com pequenos animais; trabalho em fazendas e o contato com baias e gaiolas (SIMON et al., 1999).

A infecção humana ocorre pela penetração ativa da *Leptospira spp.* por meio da pele lesionada ou mucosas, narinas e olhos, ou pele íntegra. A transmissão via manipulação de tecidos orgânicos, ingestão de água ou alimentos contaminados, embora rara, pode ocorrer, como também casos de infecção em profissionais e estudantes por meio de contato com urina de pacientes infectados (CORADASSI, 2001; VASCONCELOS, 2003; CARRIJO et al., 2012).

Paula (2017), analisando a ocorrência de anticorpos aos sorovares de *Leptospira spp.* predominantes em amostras de soros humanos de membros da comunidade interna do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, detectou 10,77% (14/130) de reações positivas para *Leptospira spp.*

3.6 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

Os hospedeiros mais importantes são: roedores peridomésticos, cães, eqüinos, suínos, bovinos, caprinos e marsupiais (JORGE et al., 2011; WASIŃSKI et al., 2011). A urina do animal infectado pode ser eliminada no solo ou em águas contaminadas possibilitando a existência de vários padrões de transmissão para o homem (SANTOS, 2011).

Sobre a sazonalidade da infecção, BORDIN, (2010) avaliando casos de falhas reprodutivas em granjas suínas no Brasil, observou maior frequência de animais positivos durante as estações do outono e inverno. O homem pode se infectar pelo contato direto com animais de estimação, exposição direta aos fluidos e secreções animais, trabalhos em granjas ou matadouros ou indiretamente, através do ambiente (água, solo) (JUNG, 2013).

Os sistemas de manejo adotados influenciam na transmissão da doença. Em granjas com sistema de quarentena, Valença et al. (2013) encontraram baixa prevalência de infecção quando comparado às granjas onde esse sistema não ocorre. Isto pode ser atribuído à adoção de medidas sanitárias preventivas, como imunização dos reprodutores antes de introduzi-los no plantel.

Detectando anticorpos contra *Leptospira spp.* em animais domésticos e selvagens presentes no Câmpus Universitário da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Unesp, Jaboticabal, Silva et al. (2010), após analisarem animais em diferentes épocas do ano, relataram que houve influência sazonal na ocorrência de anticorpos, sendo que maiores números foram observados durante a época de baixo índice pluviométrico.

A infecção em suínos vem sendo descrita mundialmente, e no Brasil, tem-se registros nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Minas Gerais, Goiás, Rio de Janeiro, Ceará, Pernambuco, Bahia e Piauí (FAVERO et al., 2002; SHIMABUKURO et al., 2003; SOTO et al., 2007).

Há uma diversidade de sorovares de leptospiros infectando e causando doença em suínos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). Alguns sorovares descritos em suínos com suspeita clínica de leptospirose identificaram-se os sorovares Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae em MG; Pomona, no RS; Pomona e Icterohaemorrhagiae, em PE e RJ; Autumnalis, no CE; e Icterohaemorrhagiae em GO, PR, SC e SP, todos identificados (FAVERO et al., 2002).

A letalidade em humanos depende, entre outros fatores, das soroviedades infectantes, da gravidade da forma clínica, da precocidade do diagnóstico, do tratamento prescrito e da faixa etária do paciente. As formas graves da doença produzem uma taxa de letalidade que pode variar entre 5% e 40% (ZUNINO; PIZARRO, 2007).

Entre os anos de 2001 a 2010 no Brasil, foram registrados 121.274 casos da doença em humanos. Houve uma confirmação de 31.134 e uma taxa letal de 10,8%. Sendo que nas regiões Sul e Sudeste foram notificados 70% de casos, na região Nordeste, 19,6%, na região Norte, 8,9% e no Centro Oeste, 1,5% dos casos (VASCONCELOS et al. 2012).

No primeiro momento de entrada da leptospirose suína em uma granja, fêmeas mais velhas também podem ser afetadas com quadros de abortamento, elevada taxa de mumificação fetal, natimortalidade e leitões com baixa vitalidade (SOTO et al., 2007).

A possibilidade de que insetos hematófagos possam atuar como vetores na transmissão da leptospirose têm sido considerados, Reiter, (1916) demonstrou que a mosca hematófaga *Haematopota pluvialis* é capaz de transmitir mecanicamente leptospiras a cobaias. Burgdofer & Pickens (1956) demonstraram que os carrapatos podem se infectar por leptospiras e conservá-la por longos períodos em seus órgãos internos.

A doença foi classificada por Vasconcelos (2000), segundo três ambientes básicos (rural, silvestre e urbano) de acordo com os grupos de animais e as variáveis ambientais, manifestando-se na população animal sob a forma de surtos epidêmicos ou permanecendo dentro de um limite de endemicidade, representando, portanto, uma importante questão de saúde pública.

Após serem eliminadas na urina de animais hospedeiros e/ou reservatórios, as leptospiras podem sobreviver por meses em água limpa ou solo úmido, aguardando oportunidade de penetrarem em novos hospedeiros, através das membranas mucosas ou abrasões da pele. Nos hospedeiros acidentais o resultado da infecção é potencialmente fatal (BHARTI et al., 2003).

Dentre as principais vias de infecção da leptospirose em suínos destaca-se a ingestão de água e alimentos contaminados pela urina, fetos abortados e descargas uterinas de animais portadores (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). As espiroquetas podem também penetrar no organismo através das mucosas, da pele íntegra imersa em água ou da pele com solução de continuidade (LEVETT, 2001; EVANGELISTA; COBURN, 2010).

Realizando rastreio sorológico e molecular de pacientes no Município do Lubango, na Angola, Ndeyanelao, (2014) concluiu que vertentes como contato com animais não se evidenciaram como muito relevantes, apesar da população estudada ter como atividade predominante à agropecuária.

Morikawa, (2012) realizando estudo sorológico da infecção por *Leptospira spp.* em uma área de ocupação irregular e de alto risco para a doença em cães em

Curitiba no Paraná, detectou a ocorrência do sorovar *Bratislava*, embora não muito comum na espécie, corroborando a possibilidade de coabitar outras espécies como suínos além dos cães. Esta própria condição favorece a circulação do agente, pois, embora domiciliados com um responsável, os animais apresentam livre circulação nas ruas.

3.7 VIAS DE ELIMINAÇÃO

As leptospiros têm tropismo pelas células epiteliais dos túbulos renais de ratos. Os ratos são considerados portadores universais e, quando contaminados, excretam grandes quantidades de leptospiros vivos e viáveis pela urina, contaminando o solo, água, alimentos e outros animais. Outros animais infectados (mamíferos, aves, répteis, anfíbios e invertebrados) quando passam da fase aguda tornam-se portadores renais crônicos, excretando pela urina leptospiros, de forma intermitente (GOMES, 2013).

As leptospiros podem persistir no trato genital, e o sêmen e secreções vaginais podem ser contaminados por leptospiros através da urina infectada, devido à relação anatômica dos aparelhos urinário e reprodutor, e transmitidas pela cópula ou inseminação artificial em animais de produção (FAINE et al., 2000).

3.8 RESERVATÓRIOS

Os mais importantes reservatórios para a persistência dos focos de infecção são os roedores sinantrópicos (domésticos) das espécies *Rattus norvegicus* (ratazana ou rato de esgoto), *Rattus rattus* (rato de telhado ou rato preto) e *Mus musculus* (camundongo ou catita) (GOMES, 2013).

Há uma grande diversidade de reservatórios ou hospedeiros de manutenção de leptospiros, entre eles estão os animais silvestres e domésticos, (VASCONCELLOS, 2000). O ser humano é um hospedeiro acidental e terminal dentro da cadeia de transmissão. A infecção em humanos, embora possa resultar em doença fatal, é limitada no tempo (GOMES, 2013).

Os ratos se espalham com as enchentes e as bactérias são misturadas e disseminadas por sua urina. Um fator que potencializa são as grandes chuvas, que geralmente são comuns em regiões tropicais e conseqüentemente causam as inundações. As enchentes acabam provocando epidemias da doença nas áreas urbanas com o aumento dos índices pluviométricos (CAMPOS et al., 2011).

De acordo com o Manual de Controle de Roedores (BRASIL, 2002), a presença de ratos em áreas rurais e urbanas geram prejuízos de importância sanitária e econômica, podendo provocar doenças causadas ao homem e aos animais. Praticamente todas as espécies de roedores, mamíferos e marsupiais podem ser carreadores e eliminadores da bactéria *Leptospira* (VIEIRA, 2012).

3.9 PORTADORES

Os animais portadores, representados por cães sem manifestações clínicas da doença podem ser divididos em três categorias:

- Os portadores em incubação têm pouca importância epidemiológica, pois neste período, que oscila entre 2 e 19 dias, ainda não estão eliminando o agente (ACHA; BORIS, 1977).
- Os portadores convalescentes, por outro lado, têm grande importância epidemiológica, pois mesmo tendo apresentado o quadro clínico e se recuperado, continuam a eliminar o agente através da urina durante semanas ou meses. Estudos realizados em bovinos têm demonstrado que o período de leptospirúria pode variar de 38 a 120 dias (BLENDEN, 1975).
- Os portadores sem manifestações aparentes, que apresentam leptospirúria mesmo sem apresentar nenhum sinal clínico da doença, também são muito importantes do ponto de vista epidemiológico, pois só podem ser identificados através de exames sorológicos e bacteriológicos (OLIVEIRA, 1984).

3.10 PATOGENIA

Após a entrada no hospedeiro, através da pele ou mucosas, a leptospira é exposta ao sistema inato de defesa celular e humoral que geralmente desarmam e removem as cepas invasoras menos virulentas. A infecção inicial é seguida pela bacteremia que persiste por um período de incubação de 1 a 2 semanas, dando início a doença aguda (GOMES, 2013).

A interação da *Leptospira* com o hospedeiro animal resulta na leptospirose, em um processo dinâmico envolvendo fatores relacionados à bactéria e ao próprio hospedeiro. Entretanto, a patogenia da leptospirose nas diferentes espécies animais acometidas, ainda não está completamente elucidada (ZUNINO; PIZARRO, 2007).

A lesão primária da leptospirose caracteriza-se por dano ao endotélio de pequenos vasos sanguíneos levando à isquemia localizada dos órgãos e resultando em necrose tubular renal, dano hepatocelular e pulmonar, meningite, miosite e placentite. O dano tecidual pode levar a um processo de cicatrização que é macroscopicamente observado nos rins de suínos, na forma de manchas brancas (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

As leptospiras também podem se localizar no útero de porcas prenhes, causando frequentemente abortos, natimortalidade e doença neonatal (BORDIN, 2010). A doença neonatal por seu turno, geralmente resulta da infecção no último terço do período gestacional. A patogênese da doença reprodutiva é pouco estudada, mas alguns autores acreditam que a infecção transplacentária ocorra durante o período limitado da leptospiremia materna (RADOSTITS et al., 2006).

A injúria pulmonar durante os processos inflamatórios tem sido associada ao excesso de células estimuladas no pulmão, incluindo os macrófagos alveolares, polimorfonucleares e produção de reativos intermediários do oxigênio e do nitrogênio, ou outros mediadores inflamatórios. A etiologia da hemorragia respiratória é desconhecida (MARINHO, 2008).

Os casos da “forma pulmonar grave da leptospirose” podem evoluir para insuficiência respiratória aguda, hemorragia maciça ou síndrome de angústia respiratória do adulto. Muitas vezes precede o quadro de icterícia e

insuficiência renal. O óbito pode ocorrer nas primeiras 24 horas de internação (ZUNINO; PIZARRO, 2007).

A multiplicação nos hospedeiros suscetíveis é rápida, com o tempo de geração entre 8 a 16 horas e menor nas cepas virulentas que causam doença aguda fulminante. A lesão primária é devido ao dano ao endotélio vascular, particularmente dos pequenos vasos sanguíneos, levando à isquemia localizada e resultando em necrose tubular renal, lesão hepato-pulmonar, meningite, miosite e placentite. (GOMES, 2013).

Para Oliveira; Lima, (1996) o uso de análise por enzimas de restrição abre um vasto campo para pesquisas, aprimorando o sistema classificatório, permitindo a produção de vacinas específicas, caso se confirmem os resultados iniciais obtidos, de que existem diferenças de genótipo que se traduzem também por diferença em patogenicidade.

Lesões do endotélio vascular geralmente são observadas nas fases iniciais da leptospirose. Petéquias multifocais podem ocorrer em diversos órgãos e tecidos de humanos e animais. A vasculite parece afetar primariamente os capilares, o que explica a maior severidade das lesões em órgãos como o fígado, rim e pulmão. (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

As leptospirosas são removidas da circulação e dos tecidos por opsonofagocitose, após o aparecimento de anticorpos circulantes. A lesão tecidual pode tornar-se reversível e ser seguida pela reparação (rim, fígado), mesmo que o dano tenha longa duração, ela pode cicatrizar. Estas lesões podem ser visualizadas macroscopicamente, especialmente nos rins de suínos e caninos, onde são conhecidas como “manchas brancas” (GOMES, 2013).

3.11 RESPOSTA IMUNE

Os mecanismos reais que envolvem a resposta imunológica frente à leptospira permanecem controversos e complexos. A importância de se compreender melhor a complexidade dos mecanismos envolvidos possibilitará o desenvolvimento de estratégias terapêuticas e preventivas que visem coibir a infecção, contribuindo diretamente para a redução da prevalência da enfermidade (MARINHO, 2008).

Estudos apontam para ação direta da bactéria sobre células do hospedeiro com produção de toxinas e enzimas proteolíticas e consequente lesão tecidual (DAHER; ABREU; JUNIOR, 2010). Essa ação está relacionada à inibição da expressão de genes que codificam proteínas do citoesqueleto de células endoteliais e da matriz extracelular, proporcionando uma maior motilidade e disseminação das leptospiros no organismo (MARTINEZ; FAHEY; COBURN 2010).

Na procura por um antígeno protetor contra leptospirose às pesquisas atuais em imunologia, que têm demonstrado a importância da resposta imune inata das membranas mucosas na proteção contra patógenos, vários pesquisadores avaliam o estímulo de diferentes antígenos, quando inoculados via mucosa, em várias regiões do corpo (JUNG, 2013).

No sistema imune inato, a lipoproteína LipL32 é uma importante proteína de membrana externa (OMPs) que afeta diretamente as células dos túbulos proximais, aumentando consideravelmente a expressão de genes e de proteínas pró-inflamatórias, tais como óxido nítrico sintase induzível (iNOS), proteína 1 quimiotática para monócitos (CCL2/ MCP-1), RANTES (CCL5/Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted) e fator de necrose tumoral (TNF- α). A estimulação de iNOS e CCL2-MCP-1 pelo LipL32, depende da presença de receptores Toll-like (TLRs) em células dos túbulos proximais, principalmente o TLR2 e TLR4 (DAHER; ABREU; JUNIOR, 2010).

No papel de imunoglobulinas na nefropatia da leptospirose em suínos, percebe-se que antígeno de leptospiros no rim de suínos está relacionado a depósitos de IgM e IgA mas não a depósitos de IgG (GONÇALVES et al., 2011).

Células epiteliais tubulares e moléculas T CD4+ estão envolvidas na mediação imune da lesão renal na leptospirose em suínos naturalmente infectados, no entanto, MHC II não apresenta um papel claro na patogenia desta lesão renal em suínos (GONÇALVES, 2016).

As leptospiros penetram ativamente através de abrasões na pele ou pelas mucosas oral, nasal, ocular e genital de homens e animais expostos aos

fatores de risco (EPSTEIN et al., 1995). Para isso, a bactéria conta com sua motilidade vigorosa e a quimiotaxia direcionada à hemoglobina (HAAKE, 2000; LEVETT, 2001; BHARTI et al., 2003; VIJAYACHARI et al., 2008).

Algumas enzimas como fibronectinases, fosfolipases, hialuronidasas e invasinas ajudam na instalação da infecção (MATSUNAGA et al., 2003). Essas bactérias evoluíram de maneira a escapar da defesa imunológica dos hospedeiros. Linhagens patogênicas são capazes de penetrar através de monocamadas de células, a uma taxa significativamente superior à das não patogênicas (BAROCCHI et al., 2002).

A translocação rápida entre células de mamíferos permite que as leptospiros alcancem rapidamente a corrente sanguínea difundindo-se para múltiplos órgãos (BAROCCHI et al., 2002). Como exemplos temos as evidências encontradas por MERRIEN et al. (1998) de que leptospiros virulentas podem entrar rapidamente em fibroblastos de rim e induzirem uma morte celular programada.

Dentre os fatores relacionados ao agente, que favorecem sua persistência, especial destaque deve ser dado ao elevado grau de variação antigênica, relativo grau de sobrevivência em nível ambiental em ausência de parasitismo, e a ampla variedade de vertebrados suscetíveis, os quais podem hospedar o microrganismo (VASCONCELOS, 2003).

Segundo TIZARD (1998), as respostas imunológicas podem auxiliar na obtenção do diagnóstico da doença de duas formas: primeiramente, de forma direta, através de anticorpos específicos que identificam ou detectam o antígeno em tecidos, líquidos ou órgãos do animal infectado. Ou então, de forma indireta, detectando-se o anticorpo específico no soro que acusará se houve ou não exposição do animal ao agente infeccioso, como na Micro Aglutinação Microscópica.

3.12 DIAGNÓSTICO

Clínico

A leptospirose pode ser diagnosticada a partir de investigações clínicas e epidemiológicas, aliadas às provas laboratoriais (RADOSTITS et al. 2006). Entretanto, LOUREIRO et al. (2013) enfatizam que o diagnóstico laboratorial da doença em animais é um desafio, pois ainda não há um método altamente sensível e específico que promova um diagnóstico confiável e rápido.

O diagnóstico da leptospirose em hospedeiros de manutenção requer triagem de uma população definida, os sinais clínicos, junto com histórico sugestivo de exposição à urina contaminada pode sugerir leptospirose aguda (QUINN et al., 2005). É importante salientar que a técnica de Reação Cadeia Polimerase (PCR) pode ser utilizada como um suporte na saúde pública, viabilizando o diagnóstico rápido e eficaz da Leptospirose em suínos, auxiliando no controle profilático e tratamento tanto de animais assim como em pacientes humanos (SANTOS et al. 2011).

Nas fêmeas, a ocorrência de abortamentos, partos distócicos, leitegadas pequenas, baixo número de nascidos totais, mumificação fetal, natimortalidade e nascimento de leitões fracos, aumentando significativamente o índice de mortalidade, podem ser um indicativo da infecção (SOTO et al., 2007).

A presença da bactéria no trato reprodutor, no rim ou urina, somada à ausência de evidências de infecção generalizada, caracteriza a infecção crônica. Entretanto, o não isolamento na urina de um animal, não descarta a possibilidade de este ser portador renal crônico. Tal resultado pode indicar apenas que esse animal não está excretando números detectáveis de bactérias no momento do teste (RADOSTITS et al., 2006).

O erro diagnóstico é frequente em casos de suspeita de leptospirose, o que pode induzir ao tratamento errôneo na doença aguda, e também à manutenção do agente em rebanhos, gerando importantes perdas econômicas. O curso natural da doença influencia diretamente no tipo de método diagnóstico eleito, assim como no tipo de amostra a ser coletada (LOUREIRO et al. 2013).

A importância de diagnosticar infecções em humanos e associá-las à atividade médico veterinário não deve ser ignorada. A demonstração desta associação é

complexa e, na maioria dos casos, verificável somente por meio de investigações epidemiológicas precisas. A ausência de reconhecimento de zoonoses como infecções associadas ao trabalho ou mesmo o subdiagnóstico faz com que o número de casos seja subestimado (PAULA, 2017).

Laboratorial

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2003), os métodos laboratoriais atualmente em uso para o diagnóstico da leptospirose incluem: provas sorológicas de detecção de anticorpos (ELISA, Fixação de Complemento, Soro aglutinação Microscópica), Cultura da bactéria, visualização através de Microscopia de Campo Escuro, Microscopia de Imunofluorescência, e mais recentemente, métodos genéticos utilizados somente em grandes centros que dominem as técnicas de Hibridização de DNA, Endonucleases de Restrição e a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR).

Apesar das limitações, as técnicas de biologia molecular vêm se destacando por preencherem as lacunas de sensibilidade e praticidade das outras provas diagnósticas utilizadas na pesquisa de leptospirosas. Como o alvo dessas técnicas é o DNA, uma molécula muito estável que pode ser facilmente detectado, a utilização desses métodos proporciona o diagnóstico rápido e sensível. A técnica de PCR é específica, sensível e rápida para o diagnóstico da leptospirose suína, sendo um importante meio de diagnóstico, bem como para investigações epidemiológicas (SOTO et al., 2007).

A imunohistoquímica demonstra praticidade em seu processamento como também elevada estabilidade dos reagentes utilizados, desde que sejam respeitados parâmetros como temperatura, pH e concentração. Trata-se de um método de fácil execução e curto tempo de preparação. Apresenta amplas possibilidades de utilização na rotina diagnóstica em conjunto a outras técnicas, principalmente na investigação quanto à presença de leptospirosas em amostras de tecidos provenientes de fetos abortados ou animais suspeitos (HAANWINCKEL; SOUZA, 2004).

A técnica de ELISA é uma técnica de valor na detecção de imunoglobulinas específicas da classe IgM, IgG e IgA, possibilitando a distinção da infecção recente, da ocorrida no passado, com uma única amostra de soro. Essa técnica é mais sensível e específica que a reação de soroaglutinação. Há pesquisa de IgM no líquido cefalorraquidiano (LCR) pela técnica de ELISA e o emprego da saliva para o diagnóstico rápido da leptospirose, detectando anticorpos específicos da classe IgM (GOMES, 2007).

Lima, (2008) padronizou um teste de soroaglutinação macroscópica para diagnóstico da leptospirose em suínos e pode avaliar a eficiência de um teste de triagem rápido, de fácil execução, baixo custo e com um grau de especificidade elevado. Mostrou ainda que existe a possibilidade da preparação de um “kit comercial” devido a formação de estabilidade da suspensão sem alterações nas propriedades antigênicas.

O método de diagnóstico considerado definitivo para leptospirose é o cultivo e isolamento bacteriano, pois permite a identificação do sorovar infectante, possibilitando a execução de estudos epidemiológicos e profiláticos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

Em relação ao meio de cultivo para leptospira, o enriquecido com soro de coelho foi mais eficaz quando comparado ao enriquecido com albumina bovina (BSA), resultando dessa maneira na identificação de um maior número de proteínas preditas extracelulares (RICARDI, 2013).

O isolamento pode ser realizado a partir de amostras de fetos abortados, tecidos como fígado, pulmão e cérebro, fluidos corporais, como líquido cefalorraquidiano, sangue e urina de animais clinicamente infectados e não tratados com antibióticos (LEVETT, 2001; MIRAGLIA et al., 2008).

Entretanto, para o sucesso desse teste os tecidos devem estar frescos. Assim, em casos de diagnóstico pós-morte podem ocorrer falsos negativos, uma vez que as leptospiras podem morrer antes da inoculação no meio de cultura (SOTO et al., 2006).

O método sorológico de referência para o diagnóstico da leptospirose é a Soroaglutinação Microscópica (SAM), no qual se empregam suspensões de sorovares de *Leptospira* spp. É também a prova mais utilizada em inquéritos

soroepidemiológicos, uma vez que esta evidência os sorogrupos presentes em uma população (LEVETT, 2001).

Ao realizar a prova do SAM só é possível a detecção de IgM e IgG, sendo assim, para saber o sorotipo presente, deve-se proceder o isolamento (SAM é técnica sorogrupo específica e não sorotipo específica). Os anticorpos aparecem aos 7 dias da infecção e podem durar em média 6 a 7 anos e, provavelmente, por toda a vida do animal (GARCIA; MARTINS 2015).

Outro método que pode ser realizado é através do cultivo bacteriano em meio bacteriológico, como o de Fletcher ou Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), e também por inoculação em cobaias (ADLER & MOCTEZUMA, 2010).

Bressan (2010), estudando as características das principais doenças febris agudas atendidas em serviço de referência, concluiu que é possível diferenciar febre do dengue de outras doenças febris agudas (DFAs) na população atendida em questão se baseado em critérios clínicos, epidemiológicos e laboratoriais.

Nos últimos anos, a técnica molecular de PCR vem sendo amplamente utilizada nos estudos da leptospirose suína, sendo descrita como importante ferramenta de diagnóstico, bem como para investigações epidemiológicas (SHIMABUKURO et al., 2003; LEVETT et al., 2005; SOTO et al., 2006).

Em humanos, essa técnica possibilitou à BOURHY et al. (2011), a confirmação rápida do diagnóstico na fase inicial da doença (dentro das primeiras duas semanas de exposição), antes dos títulos de anticorpos estarem em níveis detectáveis.

Carrijo et al. (2012), pesquisando a presença de *Leptospira* spp. em suínos abatidos no Estado de Santa Catarina, utilizando a técnica de Imunofluorescência Direta, não detectando nenhuma amostra positiva para a bactéria pela técnica de Imunofluorescência Direta na ocasião.

Apesar das limitações, as técnicas de biologia molecular vêm se destacando por preencherem as lacunas de sensibilidade e praticidade das outras provas diagnósticas utilizadas na pesquisa de *Leptospira* spp. Como o alvo dessas

técnicas é o DNA, esses métodos proporcionam o diagnóstico rápido e sensível (SHIMABUKURO et al. 2003; SOTO et al. 2007).

O exame anatomopatológico também pode ser útil no diagnóstico da leptospirose. Macroscopicamente, as lesões da fase crônica da leptospirose compreendem focos branco-acinzentados, predominantemente na região cortical renal (OLIVEIRA, 2007; HASCHIMOTO et al., 2008).

Oliveira Filho et al. (2012) analisaram por exames microbiológicos rins condenados por apresentarem pontos brancos na superfície cortical, em frigoríficos do estado de Mato Grosso. Nenhuma amostra apresentou positividade ao teste de imunofluorescência anti-*Leptospira spp.*, demonstrando assim, que tal alteração, apesar de ser sugestiva, não é exclusiva da leptospirose.

O exame anatomopatológico também pode ser útil no diagnóstico da leptospirose. Macroscopicamente, as lesões da fase crônica da leptospirose compreendem focos branco-acinzentados, predominantemente na região cortical renal. O diagnóstico sorológico fornece dados sobre a situação da granja, não sendo definitivo para casos isolados (OLIVEIRA, 2007).

As principais alterações histopatológicas encontradas em suínos infectados são nefrite intersticial linfocitária, focal, peritubular e perivascular, fibrose, vasculite, tumefação de endotélio vascular, degeneração de células epiteliais tubulares, atrofia de túbulos, tumefação do tufo glomerular e hiperplasia glomerular difusa em um suíno (GOLÇALVES et al., 2014).

A técnica de PCR vem sendo empregada com o objetivo de detectar as cepas patogênicas de *Leptospira spp.*, favorecendo a realização de diagnóstico precoce da doença em animais e em humanos. O diagnóstico molecular tem se destacado em relação às técnicas sorológicas devido a sua sensibilidade e capacidade de detecção rápida dos patógenos. No entanto, fatores como seleção dos primers, o método de extração do DNA utilizado e tipo de amostra clínica analisada podem interferir no resultado (GRAVEKAMP et al., 1993).

O diagnóstico de leptospirose só poderá ser estabelecido após a conversão sorológica, com o aumento dos títulos aglutinantes entre duas coletas de soro obtidas com intervalo de 2 a 4 semanas. Título constante ou decrescente é

considerado como consequência de uma infecção passada ou vacinação. Provas negativas não livram o animal de serem portadores renais, podendo ou não produzir anticorpos em maior concentração, detectável pela prova (GOMES, 2013).

Considerando-se que a leptospirose tem amplo espectro clínico, os principais diagnósticos diferenciais em humanos são: dengue, influenza, malária, riquetsioses, doença de Chagas, hepatites virais, hantavirose, febre amarela e tifoide, endocardite, pneumonias, pielonefrite, apendicite, sepse, meningites, vasculites incluindo lúpus eritematoso sistêmico, entre outras (BRASIL, 2014).

Carvalho et al. (2010) avaliando a expressão e potencial das esfingomielinas de *Leptospira* através de transcrição em pacientes humanos e em hamsters, detectaram proteínas nativas através de ensaios de Western blot, usando extratos inteiro de *Leptospira*, assim como túbulos renais de hamsters infectados. O anticorpo presente no soro de um paciente humano reconheceu a esfingomielina do tipo Sph2, indicando que esta é expressa e exposta ao sistema imunológico durante a infecção em seres humanos. No entanto, em experimento com modelo animal, nenhuma das esfingomielinas conferiu proteção contra doença.

3.13 TRATAMENTO E PROFILAXIA

O controle e profilaxia da infecção em suínos incluem medidas higiênicas, de manejo, de combate a roedores, vacinação e tratamento medicamentoso (OLIVEIRA, 2007; BORDIN, 2010, OLIVEIRA et al., 2013).

A leptospirose animal representa um fator de preocupação para os profissionais envolvidos com a saúde animal e a Saúde Pública os quais consideram que a melhoria das ações de controle voltadas aos animais refletirá na diminuição do nível de contaminação ambiental e, conseqüentemente, na redução do número de casos humanos da doença (CORADASSI, 2002).

Barcellos et al. (2009) ressalta a importância do conhecimento dos perfis sorológicos de um rebanho, podendo a partir daí, avaliar se o mesmo esteve exposto a algum agente infeccioso, determinar o momento em que ocorreu a

infecção, ou em que fase do ciclo do plantel cada agente infeccioso está circulando, levando em consideração o fato de que certas infecções são subclínicas.

O uso de vacinas polivalentes dificulta o diagnóstico, visto que, não há diferenciação entre anticorpos vacinais e os produzidos na infecção ativa. Porém, alguns autores citam que os títulos vacinais detectáveis geralmente não ultrapassam 1/400 (LEVETT, 2001; HASCHIMOTO et al., 2008).

Um aspecto de grande relevância diz respeito à educação e à preparação prévia do trabalhador no tocante à aceitação do EPI como rotina no trabalho, de modo que ele se torne, psicologicamente, conscientizado, da sua importância e da necessidade do seu uso, em benefício de sua própria segurança (VASCONCELOS et al., 2012).

A identificação e caracterização funcional de proteínas podem contribuir na elucidação dos mecanismos que envolvem a patogênese e no desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento e a prevenção da leptospirose (RICARDI, 2013).

O controle da doença em animais deve partir da integração de medidas preventivas instituídas simultaneamente nos três estágios da cadeia de transmissão: 1) fontes de infecção (vertebrados infectados), 2) vias de transmissão (água, solo e fômites contaminados) e 3) suscetíveis (vertebrados não infectados). A leptospirose representa um ponto de preocupação para os profissionais envolvidos com a saúde animal e saúde pública veterinária (ARSKY; CALDAS, 2013).

É possível que o uso de novas tecnologias de diagnóstico precoce reduza os custos de manutenção de laboratórios equipados com sofisticação tecnológica. Faz-se necessário encontrar soluções que sejam sustentáveis e com medidas de custo-efetividade delineadas, além de passíveis de serem incorporadas ao controle da leptospirose nas mais diversas culturas humanas (RODRIGUES, 2015).

O tratamento medicamentoso tem por objetivo principal conter a bacteremia e seus efeitos nos animais clinicamente afetados, bem como reduzir a eliminação do agente via urina, sêmen e secreção vaginal dos animais acometidos pela

forma crônica da infecção. Práticas de inseminação artificial que utilizam sêmen tratado com drogas antimicrobianas são eficientes na prevenção da transmissão do agente (FIGUEIREDO et al., 2013a).

Atualmente, as vacinas disponíveis para humanos e animais são consideradas de baixa eficácia, principalmente por serem limitadas aos sorovares que constituem essas preparações. Isso ocorre devido à existência de mais de 250 sorovares patogênicos isolados no mundo (CERQUEIRA; PICARDEAU, 2009), impedindo assim, uma proteção de amplo espectro (FELIX, 2013).

Silva (2013), identificando e descrevendo fatores sociais e ambientais que estão diretamente ligados à proliferação e à consequente infecção pela bactéria *Leptospira interrogans*, concluiu que deve haver um maior investimento em políticas públicas de saneamento básico e em orientação à população e aos trabalhadores de atividades ocupacionais de risco, podendo assim minimizar as condições favoráveis ao agente.

De acordo com o manual de controle de roedores (BRASIL, 2002), a leptospirose pode ser evitada através de algumas medidas profiláticas como: combate aos ratos, fazendo o uso de controles químicos conhecidos como raticidas produzidos através de produtos naturais como caules de árvores, ou sintéticos, como monóxido de carbono, bissulfeto de carbono e outros.

Silva (2013) revelou em seu estudo que, quanto às questões ambientais, no que se refere ao uso de produtos químicos, devem-se tomar certas medidas de precaução, pois os raticidas atingem roedores, mas não selecionam somente estes, atingem também pássaros, gatos, cães, suínos e outros, colocando em risco a biodiversidade, além da possibilidade de contaminação dos recursos hídricos.

A leptospirose deve ser prevenida com medidas básicas de saneamento, orientação aos trabalhadores da importância do uso de EPIs, participação social e até noção médica para a suspeita e diagnóstico precoce, visto que a intervenção é essencial para uma melhor evolução clínica e redução dos índices de letalidade (RODRIGUES, 2015).

Freitas et al. (2004) obtiveram eficiência a partir do isolamento da *Leptospira* em cães, bovinos e suínos naturalmente infectados. A identificação desses

isolamentos permitiu novos estudos epidemiológicos e profiláticos de Leptospirose no Brasil.

Segundo o Ministério da Saúde (2010) algumas medidas devem ser adotadas para a prevenção da Leptospirose humana:

- Controle de roedores: por meio de medidas de antirratização – que consistem na modificação das características ambientais que favorecem a penetração, instalação e proliferação de roedores, eliminando os fatores que propiciam acesso destes a água, alimento e abrigo;
- Coleta, acondicionamento e destino adequado do lixo, principal fonte de alimento para roedores;
- Manutenção de terrenos baldios, públicos ou privados, murados e livres de mato e entulhos, evitando condições à instalação de roedores;
- Eliminação de entulho, materiais de construção ou objetos em desuso;
- Utilização de água potável, filtrada, fervida ou clorada para consumo humano;
- Limpeza e desinfecção adequada de reservatórios domésticos de água;
- Descarte de alimentos que entrarem em contato com águas contaminadas;
- Limpeza e desinfecção de áreas domiciliares que sofreram inundação recente;
- Desassoreamento, limpeza e canalização de córregos;
- Emprego de técnicas de drenagem de águas livres supostamente contaminadas;
- Construção e manutenção permanente das galerias de águas pluviais e esgoto urbano;
- Medidas de proteção individual para trabalhadores ou indivíduos expostos ao risco, através do uso de equipamentos de proteção individual como luvas e botas;
- Redução do risco de exposição de ferimentos às águas/lama de enchentes ou outra situação de risco;
- Imunização de animais domésticos (com vacinas de uso veterinário).

Torna-se importante a conscientização por parte dos produtores acerca da implantação de medidas de prevenção adequadas com o objetivo de impedir, ou pelo menos diminuir a disseminação da leptospirose em suínos e, conseqüentemente, bloquear a possível transmissão do agente para os seres humanos. É importante também a conscientização das autoridades sanitárias para a melhoria e manutenção de condições básicas de higiene e segurança durante o abate, bem como para a prática constante de medidas de educação em saúde, com vistas a impedir a possível transmissão do agente para os trabalhadores diretamente envolvidos no abate de suínos (FIGUEIREDO, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE AMOSTRAS

A amostragem foi definida com base na população total de suínos no estado da Bahia, estimada a partir da população humana de 118000 habitantes entre as cidades amostradas. Para o cálculo da proporção suíno: homem, foi utilizada uma relação de 1:10 (REICHMANN et al., 1999), que redundou em um total de 11800 suínos. Foram estratificadas pela área geográfica 337(2,85%) de amostras entre as regiões produtoras a um raio de 400 km da cidade de Salvador - BA.

A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* foi estimada via Modelos Lineares Generalizados - GLM (*Generalized Linear Models*) considerando uma distribuição binomial para uma função de ligação *logit*. O modelo geral utilizado na análise é apresentado abaixo.

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde, **Y**: estimativa de positividade; **μ** : média geral; **δ_i** : efeito dos fatores; **ε_{ij}** : vetor dos erros dos modelos proporção estimada (prevalência); **e**: erro amostral.

4.2 ÁREA DE ESTUDO

Os estudos foram conduzidos nas cidades de Adustina, Antas, Cícero Dantas, Paripiranga e Coronel João Sá, pertencentes à região de território de identidade Semiárido Nordeste II do estado da Bahia. Os Territórios de Identidade são considerados unidades de planejamento do Governo – integrando as políticas públicas e viabilizando na prática as condições e

estruturas para que as ações sejam implementadas - e através da Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI).

Os animais presentes nas propriedades foram utilizados para coleta do sangue e obtenção do soro para exame laboratorial visando o sorodiagnóstico para leptospirose. As amostras utilizadas pertenceram ao banco de soro da ADAB (Agência de Defesa Agropecuária da Bahia). Os municípios foram escolhidos aleatoriamente. Em cada município foi analisada uma propriedade, ou seja, foram examinadas, ao final do estudo, 05 propriedades.

4.3 AMOSTRAS

Utilizou-se um total de 337 amostras de suínos (*Sus scrofa domesticus*) de propriedades rurais durante o período de abril/2016, híbridos comerciais, com idade média de mais ou menos 145 dias, com peso vivo entre 90 a 120 kg, de ambos os sexos, das raças Landrace, Duroc e mestiços, oriundos de Granjas de Reprodutores Suídeos, e de matrizes negativas e não vacinadas para leptospirose. As amostras foram gentilmente cedidas pela Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB).

As amostras foram armazenadas sob-refrigeração no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, onde passaram por centrifugação a 3000rpm, por 5 minutos, separando o soro e acondicionado em *ependorf* de 1,5ml a 20°C negativos para posterior análise sorológica.

Para o diagnóstico de anticorpos contra *Leptospira spp.*, foi realizada a prova de soroaglutinação microscópica (SAM), técnica preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Utilizou-se de uma coleção de antígenos vivos com 19 variantes sorológicas de *leptospiras*. Os sorovares utilizados foram: *Icterohaemorrhagiae*, *Copenhageni*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Pomona*, *Australis*, *Bataviae*, *Castellonis*, *Cynopteri*, *Javanica*, *Panama*, *Pyrogenes*, *Hardjo*, *Sejroe*, *Patoc (saprófita)*, *Tarassovi*, *Autumnalis*, *Hebdomadis*, *Wolffi*, mantidos a 28°C em meio de Ellinghausen-McCulloch-Johnson-Harris (EMJH) a 0,2%, adicionado de 10% de soro de

coelho estéril e inativado, cedidas em convênio com o laboratório de referência para a leptospirose a Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz. A bateria de cepas de leptospirosas utilizada nessa pesquisa está detalhada na Tabela 3.

Tabela 3 – Demonstração dos sorogrupos e variantes sorológicas das leptospirosas utilizadas no experimento.

Sorogrupo	Variante do sorogrupo
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Copenhageni</i>
<i>Canicola</i>	<i>Canicola</i> ,
<i>Grippotyphosa</i>	<i>Grippotyphosa</i>
<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i>
<i>Australis</i>	<i>Australis</i>
<i>Bataviae</i>	<i>Bataviae</i>
<i>Ballum</i>	<i>Castellonis</i>
<i>Cynopteri</i>	<i>Cynopteri</i>
<i>Javanica</i>	<i>Javanica</i>
<i>Panama</i>	<i>Panamá</i>
<i>Pyrogenes</i>	<i>Pyrogenes</i>
<i>Sejroe</i>	<i>Hardjo</i>
<i>Sejroe</i>	<i>Sejroe</i>
<i>Semarang</i>	<i>Patoc</i>
<i>Tarassovi</i>	<i>Tarassovi</i>
<i>Autumnalis</i>	<i>Autumnalis</i>
<i>Hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis</i>
<i>Sejroe</i>	<i>Wolffi</i>

Fonte: Elaboração da autora

As linhagens foram repicadas do meio Fletcher para o de Ellinghausen McCullough-Johnson-Harris (EMJH) modificado, acrescido de 5 fluorouracil, cloranfenicol, vancomicina, ácido, nalidíxico e neomicina (FREITAS et al.,

2004) e em seguida enriquecido com soro de coelho. Foram repicadas semanalmente como demonstra a figura 4 e mantidas em meio Fletcher em estufa B.O.D a 30°C, com crescimento de aproximadamente 12h e pH entre 7,2 e 7,8.

Os antígenos foram preparados a partir de matrizes mantidas no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) da UFRB, repicadas quinzenalmente em meio de cultura EMJH (Difco®), enriquecido com 10% de soro de coelho, mantido em estufa a 30°C, livres de contaminação e de auto aglutinação. Para determinação dos suínos sororreagentes, foi utilizada a diluição de 1:100, considerando-se amostras reagentes, as quais apresentaram aglutinação igual ou superior a 50% (FIGURA 2).

Figura 2 – Soro aglutinação microscópica.



Fonte: Manual de Leptospirose, 1995.

4.4 TÉCNICA DE SORO AGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA

4.4.1 Triagem

Na triagem foi utilizado os 19 sorovares como antígenos. Realizou-se diluição da suspensão de *Leptospira spp.* a proporção de 1:2 PBS (*phosphate buffered saline*), ph de 7,2. Examinou-se em microscópio de campo escuro/contraste de

fase com objetiva de 10x e ocular de 10 a 16x, na lâmina, verificando assim espiroquetas individualizadas.

Os antígenos foram preparados a partir de matrizes mantidas no LDI da UFRB, repicadas quinzenalmente em meio de cultura EMJH (Difco®), enriquecido com 10% de soro de coelho, mantido em estufa a 30°C, livres de contaminação e de auto aglutinação. Para determinação dos suínos soro reagentes, foi utilizada a diluição de $\geq 1:100$, considerando-se amostras reagentes, as quais apresentaram aglutinação igual ou superior a 50%.

Os materiais utilizados na preparação das amostras foram esterilizados em fluxo laminar com UV para esterilidade, sendo estes: luvas, micropipeta, placas com eppendorfs e pipetas por 30 minutos no fluxo.

Adicionou-se em tubos 16x160, 4,9 ml de PBS e 0,1 ml do soro a ser testado (diluição 1:50) sob agitação. Para o controle foi distribuído 0,2ml de PBS e 0,2 ml da suspensão antigênica, 3 gotas destes tubos foram colocadas em lâminas para observação de aglutinação de campo escuro/contraste de fase.

Removeu-se 0,2ml de cada antígeno e adicionou-se 0,2 ml do soro diluído, dessa diluição em 19 tubos 12x100. Retirou-se 3 gotas do Ag/At para testar a aglutinação para os diferentes sorovares. Em seguida, as misturas de soro e antígeno são mantidas em estufa B.O.D. a 37°C durante 3 (três) horas.

As gotas são colocadas em lâminas para observação de aglutinação em microscópio em campo escuro/contraste de fase. Observou-se em microscópio de campo escuro/contraste de fase se os soros aglutinam mais de 50% das Leptospiras. Os soros que apresentaram reação positiva para um determinado sorovar são novamente congelados para posteriormente serem utilizados na titulação juntamente com o sorovar reagente.

A detecção de anticorpos anti-leptospiras foi realizada pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). O critério adotado para o soro ser considerado como reagente foi de 50% de Leptospiras aglutinadas por campo microscópico em aumento de 100 vezes. O sorovar registrado foi aquele que apresentou maior título, sendo as demais aglutinações consideradas reações cruzadas.

A leitura da reação foi realizada em microscópio óptico (Jena Zeiss) com condensador de campo escuro (MCE), com objetiva (Epiplan) 20x/0,2 e ocular de 10 no aumento de 200 vezes, sendo avaliado o grau de aglutinação. Inicialmente os soros foram diluídos em 1:100 e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram considerados positivos.

A sorologia foi realizada pelo teste de soroaglutinação microscópica com antígenos vivos (SAM). As amostras foram diluídas inicialmente em solução salina tamponada (PBS-pH 7.2) a 1:100, e apenas aquelas que aglutinassem 50% ou mais das leptospiras nesta diluição seriam consideradas positivas e então testadas para as diluições 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 e 1:3200, para obtenção do título final de anticorpos.

4.4.2 Titulação

A titulação foi realizada com os soros que obtiveram resultados positivos durante a triagem. Os soros foram colocados em tubos 16x160, onde foram adicionados 4,9ml de salina fisiológica e 0,1ml do soro a ser testado (diluição 1/50). Em seguida foi distribuído em 5 tubos 12x100 com cada sorotipo reagente de cada soro testado.

Removeu-se da diluição 0,2ml com uma micropipeta, colocou-se em um eppendorf identificado com título de 100. Adicionou-se nesse mesmo eppendorf mais 0,2ml do antígeno. Utilizou-se um segundo eppendorf, identificado com o título de 200, recebendo 0,2ml da mistura do 1° eppendorf e mais 0,2ml do antígeno. Em um 3° eppendorf, com a identificação do título 400, depositou-se 0,2ml do 2° eppendorf mais 0,2 ml do antígeno. O 4° eppendorf, com a identificação do título de 800, recebeu 0,2ml da diluição do 3° eppendorf e mais 0,2ml do antígeno. O 5° eppendorf, representando uma titulação de 1600, recebeu 0,2ml do antígeno e mais 0,2ml da diluição do 4° eppendorf. Por fim, desprezou-se 0,2ml da diluição do 5° eppendorf.

Para a realização da leitura da aglutinação, são removidos 10µl de cada eppendorf. Depositou-se em lâminas, para avaliação microscópica em contraste de fase. para a realização da titulação. Os soros são titulados de acordo com a última titulação observada ao microscópio.

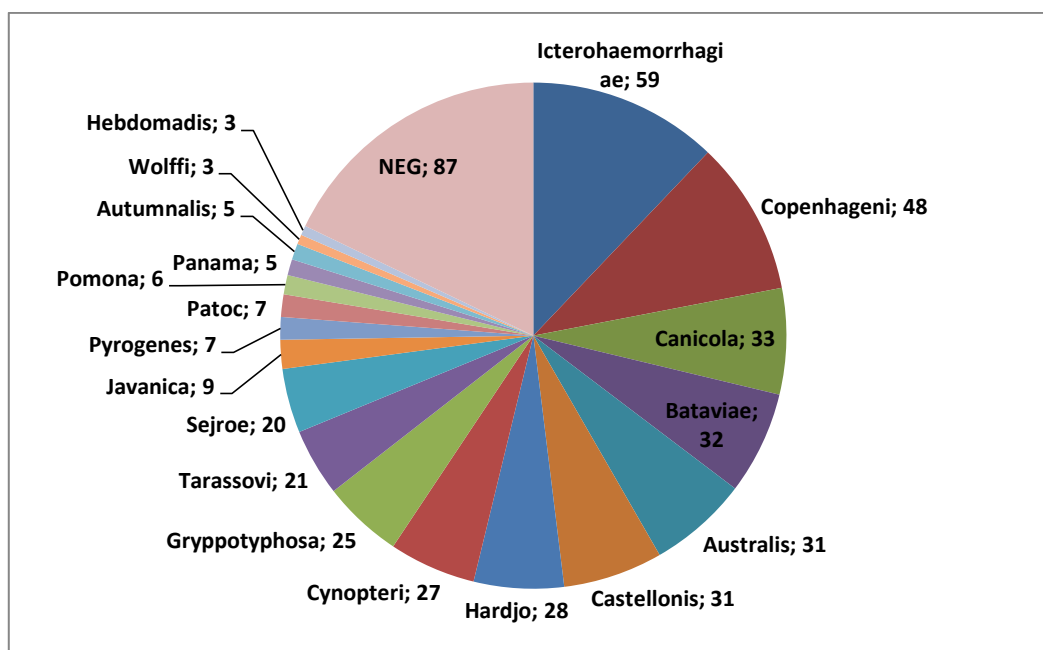
A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* foi estimada via Modelos Lineares Generalizados - GLM (*Generalized Linear Models*) considerando uma distribuição binomial para uma função de ligação *logit*.

5 RESULTADOS

Foram amostrados 337 animais, dentre estes, 242 (71,8%) foram do sexo masculino e 95 (28,2%) do sexo feminino. Quanto à raça, 170 (50,44%) foram Landrace, 117 (34,71%) foram Duroc e 50 (14,83%) da raça mestiça. Quanto à cidade de origem, 82 (24,33%) foram pertencentes a Cícero Dantas, 73 (21,66%) à Antas, 65 (19,28%) à Adustina, 61 (18,10%) à Coronel João Sá e 56 (16,61%) à Paripiranga.

Destes suínos nos quais se pesquisou a presença ou ausência de anticorpos anti-leptospiras frente a 19 antígenos pela SAM, obteve-se 250 soros reagentes (74,18%) pra mais de um sorotipo e 87 (25,81%) soros não reagentes (Figura 3). Das 250 amostras da etapa de triagem, todas foram reagentes na etapa de titulação. Houve 176 amostras de machos e 74 de fêmeas. Deste mesmo total, 100 (40%) eram da raça Duroc, 100 (40%) Landrace e 50 (20%) mestiços. No que diz respeito à origem dos animais, 50 (20%) provieram da cidade de Adustina, 50 (20%) de Antas, 50 (20%) de Cícero Dantas, 50 (20%) de Paripiranga e 50 (20%) de Coronel João Sá, pertencentes ao estado da Bahia. Os animais amostrados em suas localidades possuíam faixa etária de 145 dias de vida e foram mantidos em regime de criação semi-confinado. Durante o período de coleta foi relatado casos de natimortalidade e abortos.

Figura 3 – Representação do teste de triagem realizado com os soros de suínos pelo teste da SAM em Contraste de Fase distribuída por 19 sorovares de *Leptospira*.

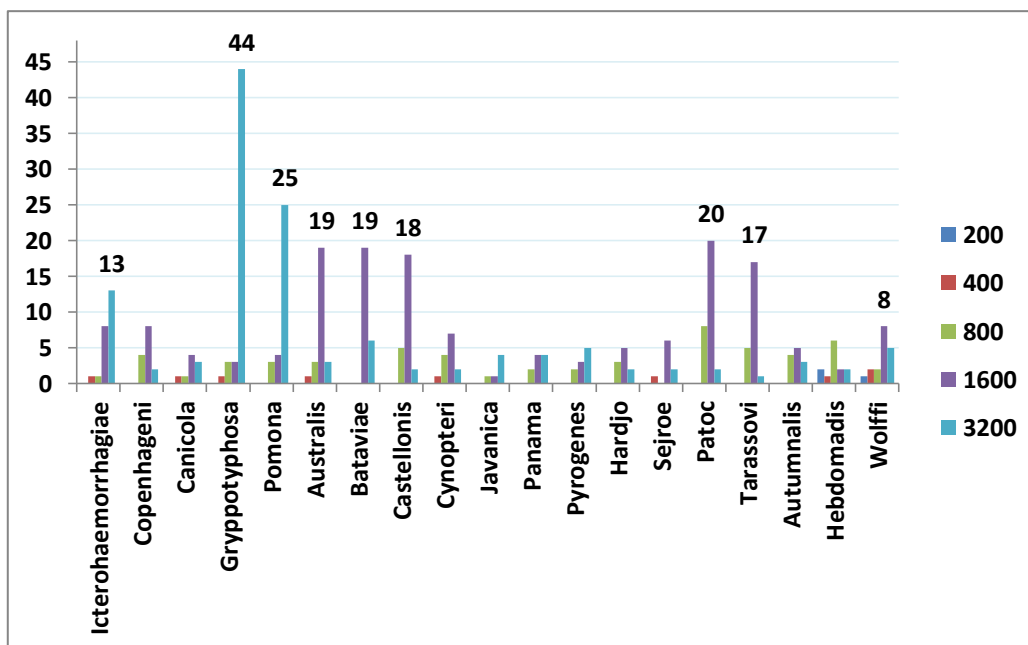


Observou-se que houve uma variação para os 19 sorogrupos testados, demonstrando reação ao teste SAM. O sorovar *Icterohaemorrhagiae* 59 (23,6%), *Copenhageni* 48 (19,2%), *Canicola* 33 (13,2%). Por outro lado, os sorovares *Wolffi* 3 (1,2%) e *Hebdomadis* 3 (1,2%) foram os que apresentaram menor reação. Animais que não apresentaram aglutinação mediante a apresentação de título de 1:100 foram representados pelos animais negativos (NEG) 87 indivíduos, figura 01.

No que se refere à representação de diluições máximas em titulação, foi observado que três amostras soro-aglutinaram em títulos de 1:200, 9 em 1:400, 57 em 1:800, 161 em 1:1600 e 130 para 1:3200. Os sorovares *Gryppotyphosa* (51), *Pomona* (32) e *Patoc* (30) foram prevalentes nessas diluições. Em títulos de diluição na proporção de 1:200, o sorovar mais elevado foi *Hebdomadis* com dois soros aglutinantes, enquanto na diluição 1:400 o sorovar *Wolffi* (2) obteve maiores proporções. Para diluições de 1:800 o sorovar *Patoc* com oito amostras e 20 na diluição 1:1600 foi o mais preponderante entre as amostras soroaglutinadas e o sorovar *Javanica* (1) o mais inferior. O sorovar

Gryppotyphosa na diluição de 1:3200 foi o mais o que obteve o maior número de amostras aglutinadas e o sorovar Tarassovi (1) o menor para esta diluição como observado na Figura 4.

Figura 4 – Representação do teste de titulação realizado com os soros de suínos pelo teste da SAM em contraste de fase distribuída por 19 sorovares de *Leptospira*.

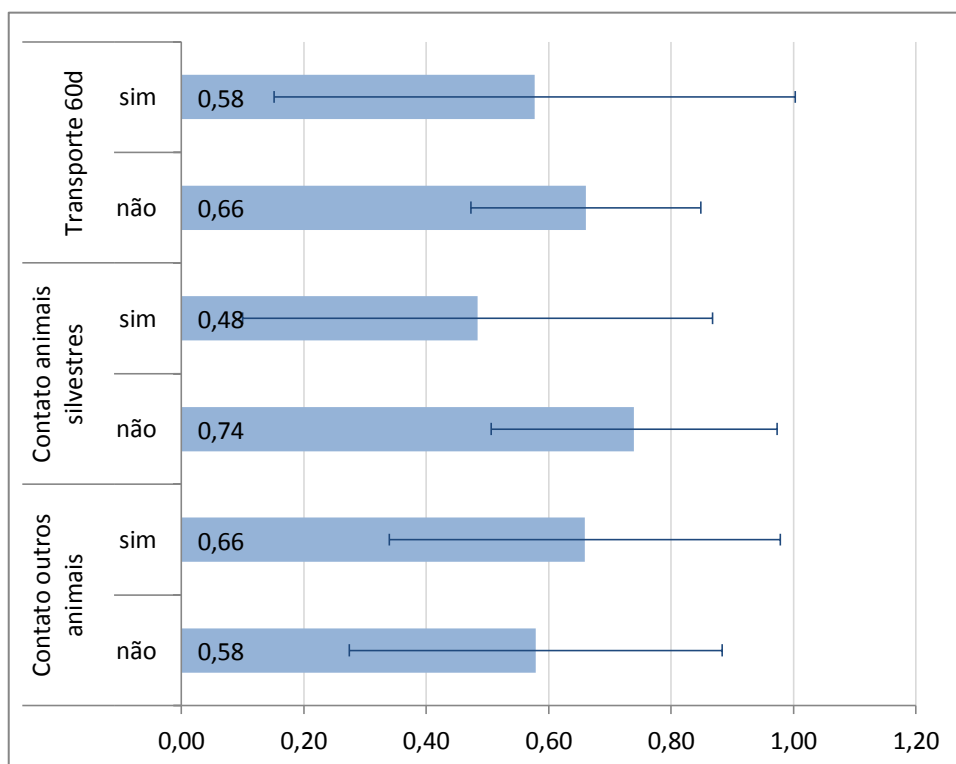


A estrutura do rebanho conferida através de análise de clusters ascendente resultou numa estrutura muito similar que não se fez capaz de diferenciar os rebanhos estudados.

Critérios utilizados quanto convivência com susceptíveis de outros estabelecimentos pela ADAB conferiram que não houve significância representativa entre os rebanhos analisados, obtendo 0,66% de animais que tiveram contato com animais de outros estabelecimentos e 0,58% de animais que não tiveram contato. Quanto a convivência/contato com animais silvestres se obteve um percentual de 0,48% de animais que não possuem convivência/contato e 0,74% dos que possuem. Em relação ao trânsito dos animais nos últimos 60 dias, detectou que 0,66% não realizaram este

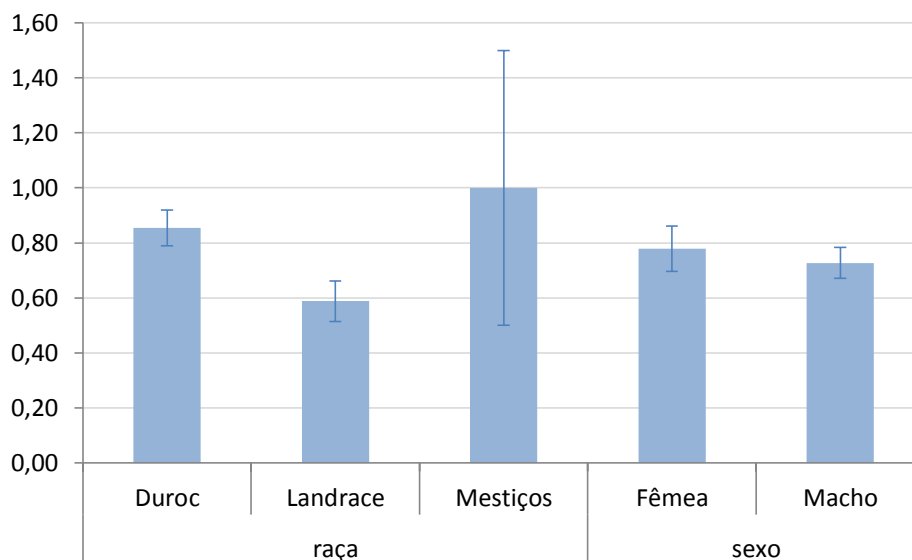
transporte e 0,58% realizaram. Quanto a esses parâmetros foi observado que não existe correlação significativa como demonstrado na figura 5 abaixo.

Figura 5 – Estimativas da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função da convivência com suscetíveis de outros estabelecimentos, convivência/contato com animais silvestres e trânsito nos últimos 60 dias na criação dos suínos via GLM *logit*



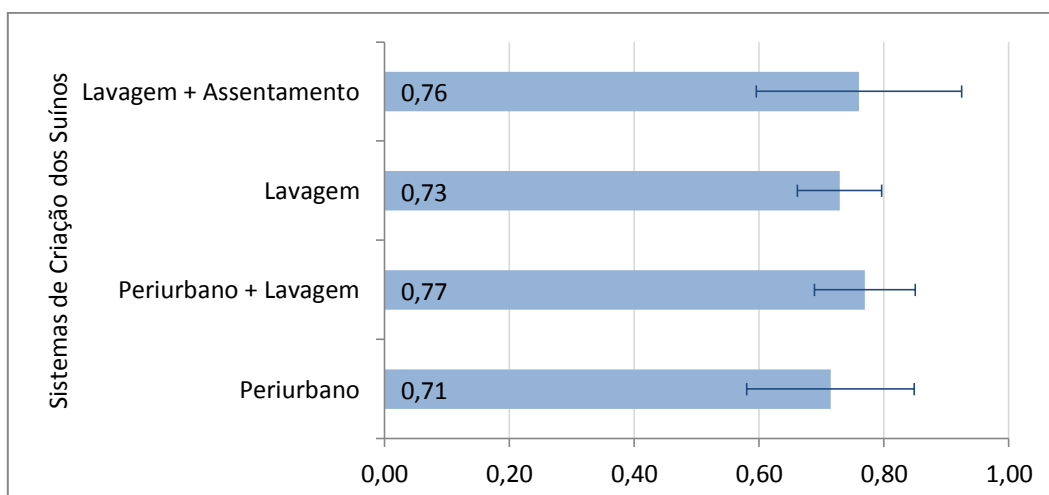
Estimativas da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função da raça dos suínos via GLM *logit*, demonstraram que houve diferença quanto positividade, sendo mais significativa em animais mestiços, seguidos da raça Duroc e posteriormente da raça Landrace. Numa mesma análise realizada referida ao sexo dos rebanhos analisados conferiram que não houve diferença expressiva neste parâmetro sendo expresso por um percentual de 22% de positividade para fêmeas e 27% para machos conforme demonstra a Figura 6 abaixo.

Figura 6 – Estimativas da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função do sexo e raça dos suínos via GLM *logit*



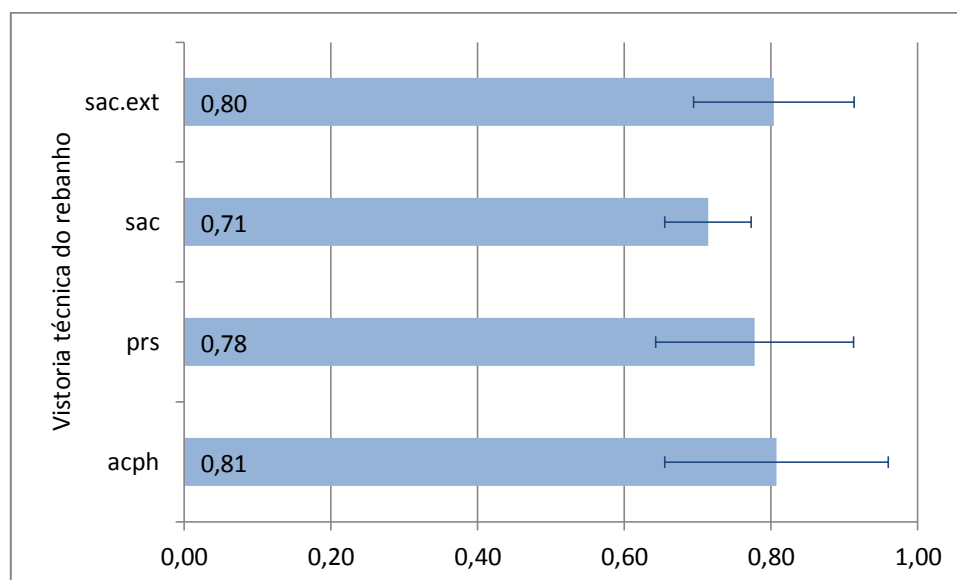
No que se refere ao critério de risco utilizado para seleção do estabelecimento pela ADAB quanto ao sistema de criação, observou que também não houve diferença significativa entre diferentes sistemas a exemplo dos localizados em Áreas periurbanas ou comunidades carentes (A); dos que realizam fornecimento de resíduos alimentares (lavagem) aos suínos (B) e dos que se localizam em áreas de assentamentos rurais ou reservas indígenas (C), demonstrado na Figura 7 a seguir.

Figura 7 – Estimativa da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função do sistema de criação dos suínos via GLM *logit*



Resultados da vistoria geral do rebanho e exame clínico dos animais amostrados demonstraram que não houve diferença significativa quanto positividade quando relacionadas parâmetros como: animais sem alterações clínicas (SAC); animais confinados em ambientes de pouca higiene (AOCP); criação extensiva/ animais em bom estado nutricional sem apresentar alterações clínicas (SAC EXT); ponto de risco sanitário/ criação comunitária (PRS) como demonstrado na Figura 08 a seguir:

Figura 8 – Estimativas da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função da vistoria técnica dos suínos via GLM *logit*



6 DISCUSSÃO

Na titulação de 1:200 observou-se que um número reduzido de sorovares responderam a esta diluição, porém as únicas amostras que responderam foram *hebdomadis* e *wolffi* respectivamente. Sugere-se que isso se atribui ao fato desses animais apresentarem uma exposição prévia ao antígeno ou estes foram vacinados. Como justificado por Faine et al. (1999) muitos animais em fase crônica de infecção provavelmente já não mais apresentam títulos de anticorpos em níveis satisfatórios para detecção pela técnica de soroaglutinação microscópica.

Houve um número reduzido de amostras que apresentaram aglutinação para a diluição de 1:400, porém maior que 1:200, demonstrando que já apresentam um certo potencial de transmissibilidade entre estes indivíduos principalmente os criados sob grandes densidades. Em outras palavras isso significa dizer que os animais reagentes a este título possuem maior soropositividade ou exposição evidente ao agente infeccioso sendo parâmetros como densidade e sexo um importante fator disseminatório como afirmado por Soto et al. (2007), que quanto maior a densidade de animais por unidade de área, maior o risco de exposição por contato direto com a fonte comum e um pequeno número de animais portadores em um ambiente favorável pode contaminar rapidamente todo o meio compartilhado.

Em diluições de 1:800 os indivíduos apresentaram altos níveis de exposição nessas criações, ressaltando a importância que isso representa quando a população estudada é composta principalmente por suínos reprodutores. Animais que manifestaram soro-aglutinação para esta diluição já são considerados infectados e a transmissão da leptospirose pode ocorrer por meio do sêmen. Acredita-se que estes indivíduos apresentem sintomatologia evidente ao agente causal da doença destacando-se falhas reprodutivas em fêmeas como uma das principais razões de descarte e quedas nos índices produtivos (BEURON & BRITO, 2016).

Os animais reagentes a níveis de diluição 1:1600 foram os mais prevalentes (161) quando comparados as demais diluições. Isso pode ser explicado pelo

fato destes animais apresentarem exposição ao agente em alguma fase da vida, e não necessariamente ter desenvolvido sintomatologia evidente da Leptospirose, corroborando com Campos et al. (2011) onde consideraram infectantes aquelas amostras soropositivas que aglutinaram a dois ou mais sorovares e apresentaram elevados títulos. Desta forma sugere-se que estes animais possuem anticorpos contra Leptospirose e podem ter sido infectados recentemente mais não desenvolveram a doença de forma clínica.

Em títulos mais diluídos 1:3200 houveram um número consideravelmente elevado (130), ocupando o segundo lugar quando relacionado as outras quatro diluições. Desta forma acredita-se que indivíduos reativos a este nível de titulação apresentem sintomatologia evidente ao agente causal da doença destacando-se falhas reprodutivas em fêmeas como uma das principais razões de descarte e quedas nos índices produtivos (BEURON; BRITO, 2016).

Em concordância os autores ainda ressaltaram que é de grande importância adotar procedimentos voltados para higiene adequada das instalações, saneamento e orientação em saúde dos funcionários como medidas essenciais para a redução dos riscos, uma vez que os trabalhadores possuem contato com sangue, urina e vísceras como fígado e rim de suínos estão sujeitos a se infectarem pela *Leptospira spp.* (CARRIJO, 2012).

Foi analisado por Favero et al. (2002) a condição sorológica contra *Leptospira spp.* em ovinos, bubalinos, cães, caprinos, equinos e suínos em diversos estados brasileiros. As porcentagens de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira spp.* e as sorovarietades mais frequentes na espécie suína foi 24,46%, *Grippotyphosa* e *Icterohaemorrhagiae* em MG, *Pomona* no RS, *Pomona* e em PE e RJ, *Autumnalis* no CE e *Icterohaemorrhagiae* em GO, PR, SC e SP, 23,6%. Na Bahia foi encontrado no presente trabalho 74,18% soro-reagentes com predominância para sorovarietade *Icterohaemorrhagiae* (23,6%), *Copenhageni* (19,20%) e *Canicola* (13,20%).

Todas as amostras analisadas reagiram a mais de um título e concomitantemente a mais de um sorovar, demonstrando que há uma maior predisposição dos animais a contraírem a doença. Os resultados encontrados pelo presente trabalho são de grande importância principalmente para a cadeia produtiva de suínos, visto que a leptospirose nesses animais constitui uma

causa importante de deficiências reprodutivas que culminam em prejuízos econômicos para os setores produtivos (WILSON; SWAI, 2014).

Medidas preventivas globais superficiais ou mal planejadas podem ser ineficientes no controle da doença, uma vez que a ocorrência da infecção em uma granja pode estar associada a características regionais principalmente climáticas. O uso de antimicrobianos no controle da infecção deve ser feito sob cautela e receber atenção especial em virtude de que resíduos dessas drogas são encontrados nos produtos finais destinados ao consumo humano (FIGUEIREDO et al., 2013).

Foi encontrado um número expressivo de reagentes a SAM, visto que a resposta imune persiste em determinado tempo que as bactérias foram eliminadas do organismo (MIRAGLIA et al., 2008). Algumas conclusões importantes podem ser extraídas deste artigo quanto à titulação nas diluições 1:1600 e 1:3200, em que houveram um número relevante de animais que apresentaram reação de soro-aglutinação, tendo em vista que estes animais podem ser possíveis transmissores da doença aos humanos tanto para o consumidor quanto para o responsável pela manipulação do animal ao abate (VIANA et al., 2014).

7 CONCLUSÃO

- Foi observado pelo presente levantamento uma soroaglutinação das amostras aos 19 antígenos testados com maior positividade para as diluições 1: 1600 e 1: 3200.
- Das cinco cidades estudadas foi demonstrado pelo presente levantamento exposição dos animais aos diferentes sorogrupos com uma tendência a categoria de reprodutores.
- O maior número de amostras para a titulação de 1:3200 demonstraram que os animais advindos destas regiões necessitam de maiores atenções quanto as falhas reprodutivas e quedas nos índices produtivos.
- A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* estimada via Modelos Lineares Generalizados - GLM (Generalized Linear Models) apresentou estimativas com valores significantes em parâmetros relacionados a raça destes animais

REFERÊNCIAS

ADLER B, CHAPPEL RJ, FAINE S. The sensitivities of different immunoassays for detecting leptospiral antigen. **Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A**. 1982 Jul; v. 252, n. 3, p. 405-413.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. Leptospira and Leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 27 n. 140 p. 287-296, 2010.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; DIB, C. C.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, E. M. S.; LARA, M. C. C. S. H.; RODRIGUEZ, C. A. R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z. M.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Anticorpos contra agentes bacterianos e virais em suínos de agricultura familiar do município de Monte Negro, RO. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v. 73, n. 4, p. 415-420, 2006.

ALMEIDA, F.; LIMA, G. S; PICCININ, A.. Leptospirose em suínos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Ano 6, n. 10, 2008.

ANGELO, G.; CICOTI, C. A. R.; BELTRAN, M. P. Doenças infecciosas que acometem a reprodução das fêmeas - revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano VII, n. 12, 2009. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/ET9MiXcEZxhF1Jh_2013-6-21-10-56-8.pdf>. Acesso em: 02 de abril de 2017.

AZEVEDO, S. S. et al. Frequency of anti leptospire agglutinins in sows from a swine herd in the Ibiúna Municipality, State of São Paulo, Brazil. **Arq. Inst. Biol**, v. 73, n. 1, p. 97-100, 2006.

AZEVEDO, S. S.; FERNANDES, A. R. F.; QUEIROGA, I. M. B. N.; ALVES, C. J.; DE MORAIS, Z. M.; SANTOS, C. D. S. A. B.; VASCONCELLOS, S. A. Ocorrência e fatores de risco associados à leptospirose em cães atendidos em hospital veterinário no semiárido paraibano. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 2, p. 161-166, 2011.

AZEVEDO, S.S.; SOTO, F.R.M.; MORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R.; VUADEN, E.R.; BATISTA, C.S.A.; SOUZA, G.O.; DELBEM, A.C.B.; GONÇALES, A.P.; VASCONCELLOS, S.A. Frequency of anti leptospire agglutinins in sows from a swine herd in the Ibiúna Municipality, State of São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 1, p. 97-100, 2006.

BALASSIANO, I. T.; VITAL-BRAZIL, J. M.; DE LIMA BARBOSA, A. T.; MORAES, S. R.; MACHRY, L.; TIMM, L. N.; PEREIRA, M. M. Aspectos Clínicos de Leptospirose Anictérica em Plantador de Arroz na Região Sul do Brasil. **Revista de Saúde**, v. 2, n. 1, p. 61-65, 2016.

BALBINOT, A. ALVES, G.; S. L.; ARAUJO, RENATA BRASIL. Perfil de consumo de substâncias psicoativas por adolescentes escolares do ensino fundamental da Grande Porto Alegre/RS. **Interação em Psicologia**, v. 16, n. 2, 2012.

- BARCELLOS, D. E. S. N.; MARQUES, B. M. F. P. P.; MORES, T. J.; CENTENARO, F.; SOBESTIANSKY, J. Uso de perfis sorológicos e bacteriológicos em suinocultura. **Acta scientiae veterinariae**. Porto Alegre, 2009.
- BARCELLOS, D. E. S. N.; SOBESTIANSKY, J. **Doenças dos suínos**. Cânone Editorial: Goiânia, p. 286-293, 2007.
- BAROCCHI, M. A.; KO, A. I.; REIS, M. G.; MCDONALD, K. L.; RILEY, L. W. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but non intracellular pathogen. **Infection and immunity**, v. 70, n. 12, p. 6926-6932, 2002.
- BENITEZ, A.; RODRIGUES, G. G.; DIB GONÇALVES, D.; BURKE, J. C.; APARECIDA A. L.; ECKEHARDT M. E.; DE FREITAS, J. C. Leptospirose em cães errantes encontrados em campus universitário: avaliação sorológica e exame direto da urina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 19, 2010.
- BEURON, M. P.; BRITO, D. C. Principais afecções reprodutivas em fêmeas suínas. Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc São Miguel do Oeste, v. 1, p. 12677, 2016.
- BHARTI, A. R. J. E.; NALLY, J. N.; RICALDI, M. A.; MATTHIAS, M. M.; DIAZ, M. A.; LOVETT, P. N.; LEVETT, R. H.; GILMAN, M. R.; WILLIG, E. GOTUZZO; VINETZ, J. M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infect.Dis.** 3:757-771, 2003.
- BIER, D.; SHIMAKURA, S. E.; MORIKAWA, V. M.; ULLMANN, L. S.; KIKUTI, M.; LANGONI, H.; BIONDO A.; MOLENTO, M. B. Análise espacial do risco de leptospirose canina na Vila Pantanal, Curitiba, Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, p. 74-79, 2013.
- BLATT, N. Territórios de Identidade no Estado da Bahia: uma análise crítica da regionalização implantada pela estrutura governamental para definição de políticas públicas, a partir da perspectiva do desenvolvimento regional. **Universitat de Barcelona**, Barcelona, p. 1-34, 2010.
- BLENDEN, D.C. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. In: Reunion Interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis, 1975, Guatemala Resumos Guatemala. **Organização Mundial da Saúde**, 172 p., p. 16-18, 1975.
- BORDIN, R. A. Papel da infecção por Parvovirus suíno e *Leptospira* spp. na ocorrência de mortalidade fetal e embrionária em suínos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2010.
- BOURHY, P; BREMONT, S.; ZININI, F.; GIRY, C; PICARDEAU, M. Comparison of real-time PCR assays for detection of pathogenic *Leptospira* spp. in blood and identification of variations in target sequences. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 6, p. 2154-2160, 2011.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Leptospirose: diagnóstico e manejo clínico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 44 p. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

_____. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. Manual de Leptospirose. 2. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1995. 98 p.

_____. Ministério da Saúde. Vigilância Epidemiológica. Manual de Controle de Roedores. Brasília, 2002.

BRESSAN, CLARISSE DA SILVEIRA. Estudo das características das principais doenças febris agudas atendidas em serviço de referência do instituto de pesquisa clínica Evandro Chagas/Fiocruz. 2010. Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

BURGDORFER, W., PIUCKENS, E.G. Technic employing embryonated chicken eggs for infection of argasid ticks with *Coxiella burnetti*, bacterium tularensis, *Leptospira icterohaemorrhagiae* and western equine encephalitis virus. **J. Infect. Dis.**, v. 94, p. 84-89, 1956.

CAMPOS, A.P.; GONÇALVES, Ç.M.F.; FREIRE, S.M.; LEAL, L.M.; MINEIRO, A.L.B.B.; COSTA, F.A.L. Aglutininas antileptospiras em suínos abatidos para consumo e associação ao comprometimento hepático e pulmonar, **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 2, p. 137-148, 2011.

CARVALHO E, BARBOSA AS, GÓMEZ RM, OLIVEIRA ML, ROMERO EC, GONÇALES AP, MORAIS ZM, VASCONCELLOS SA, HO PL. Evaluation of the expression and protective potential of leptospiral sphingomyelinases. **Curr. Microbiol.**, v.60, p.134-142, 2010.

CARRIJO, K. D. F.; Nascimento, E. R.; Morés, N.; Morés, M. A. Z.; Almeida, L. P.; TORTELLY, R. *Leptospira spp.* em rins de suínos abatidos sob inspeção sanitária: potencial risco de transmissão a trabalhadores de matadouro frigorífico. **Embrapa Suínos e Aves-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2012.

CARVALHO, Eneas. Evaluation of the expression and protective potential of leptospiral sphingomyelinases. **Current microbiology**, v. 60, n. 2, p. 134-142, 2010.

CERQUEIRA, G. M.; M. PICARDEAU. 2009. A century of *Leptospira* strain 23 typing. **Infect. Genet. Evol.** 9:760-768.

CLAZER, M., RODRIGUES, G. V., ARAÚJO, L., LOPES, K. F. C., ZANIOLO, M. M., GERBASI, A. R. V., GONÇALVES, D. D. Leptospirose e seu aspecto ocupacional-Revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 18, n. 3, p. 191-198, 2015.

CORADASSI, CARLOS EDUARDO. O Médico Veterinário clínico de pequenos animais da região dos Campos Gerais - PR e sua percepção de risco frente às zoonoses [**Dissertação**]. Paraná: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2002.

DAHER E.F., DE ABREU K.L.S., SILVA JUNIOR G.B. 2010. Leptospirosis-associated acute kidney injury. **J. Bras. Nefrol.** 32:400-407.

DE FÁTIMA CARRIJO, K., NASCIMENTO, E. R., MORÉS, N., MORÉS, M. A. Z., DE ALMEIDA, L. P., TORTELLY, R. *Leptospira spp.* em rins de suínos abatidos sob inspeção sanitária: potencial risco de transmissão a trabalhadores de matadouro frigorífico. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 34(4):279-282, out/dez 2012.

LIMA, G. S. Padronização de um teste de soroglutinação macroscópica para diagnóstico da leptospirose em suínos; 2008.

EPSTEIN, P. R. Emerging diseases and ecosystem instability: new threats to public health. **Am J Public Health**, v 85(2), p.168-172.

EVANGELISTA, K. V.; COBURN, J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. **Future Microbiol**, v. 5, n. 9, 1413-1425, 2010.

FAINE, S. B., ADLER, B., BOLIN, C., PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**. 2. ed., Melbourne: MediSci, 1999.

FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA-NETO, J. S. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.

FELIX, S. R. Leptospirose animal: estudos para o desenvolvimento de vacinas recombinantes. Tese (**Doutorado**) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

FIGUEIREDO, Í. L., ALVES, C. J., SILVA, L. C. A., OLIVEIRA, R. M., AZEVEDO, S. S. Leptospirose suína: uma importante causa de falhas e perdas reprodutivas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 4, p. 344-353, 2013a.

_____. Interrelação entre frequência de anticorpos anti-*Leptospira spp.* e exames histopatológicos (hematoxilina-eosina e Warthin-Starry) em suínos abatidos no Semiárido Paraibano. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 1, p. 27-34, 2013b.

FIGUEIREDO, I. L. Leptospirose em suínos de abate: estudo sorológico e histopatológico. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2011.

FRAGA T.R., BARBOSA A.S., ISAAC L. Leptospirosis: aspects of innate immunity, immunopathogenesis and immune evasion from the complement system. **Scand. J. Immunol.** 73:408-419; 2011.

FREITAS, J. C. et al. Isolation of leptospira spp from dogs, bovine and swine naturally infected. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 853-856, 2004.

GARCIA, M.; MARTINS, L. S. **Zoonoses: leptospiroses**. Disponível em <http://www.mgar.com.br/zoonoses/aulas/aula_leptospirose.htm> Acessado em out. 2016.

GOMES, M. J. P. Gênero *Leptospira* spp. FAVET-UFRGS, 2013.

GONÇALVES L.M.F., MINEIRO A.L.B.B., CARVALHO S.M., CAMPOS Â.P., MELO EVANGELISTA L.S., PINHO F.A., MOREIRA É.C., COSTA F.A.L. Pesquisa de aglutininas, antígeno de leptospirosas e apoptose em rim de suínos naturalmente infectados por *Leptospira* sp. **Pesq. Vet. Bras.** v. 31, p. 561-568, 2011.

GONÇALVES, D. D. et al. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 135-140, 2006.

GONÇALVES, L. M. F; COSTA, F.A.L. Leptospiroses em suínos no Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 1, p. 1-14, 2011.

GONÇALVES, LARISSA MARIA FEITOSA. Imunopatogenia da lesão renal na infecção por leptospirosas em suínos infectados naturalmente. 2016.

GRAVEKAMP C., VAN DE KEMP H., FRANZEN M., CARRINGTON D., SCHOONE G.J., VAN EYS G.J., EVERARD C.O., HARTSKEERL R.A. & TERPSTRA W.J. Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. **Gen. Microbiol**, v. 139, p. 1691-1700, 1993.

GUERRA, MARTA A. Leptospirosis: Public Health Perspectives, **Biologicals**, v. 41, p. 295-297, 2013.

HAAKE, D. A. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. **Microbiology**, 146 (Pt 7), 1491-1504; 2000.

HAANWINCKEL, M. C. S.; MEGID, J.; SOUZA, L. C. Avaliação da prova de imunoperoxidase como recurso diagnóstico na leptospirose animal. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 3, p. 293-301, 2004.

HASCHIMOTO, W. Y. ANZAI, E.K.; LIMA, B.A.C.; SILVA, F.G.; ALVES, L.A.; FREIRE, R.L.; TELES, P.S.; GARCIA, J.L.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. Associação entre leões renais microscópicas e a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigoríficos da região norte do Estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 875-880, 2008.

HASHIMOTO, V. Y. et al. Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 521-524, 2010.

HOWELL, D.; COLE, D. Leptospirosis: A waterborne zoonotic disease of global importance. **Georgia Epidemiology Report**, v. 22, n. 8, p. 1-2, 2006.

IDO, Y., R. HOKI, et al. The Rat as a Carrier of *Spirochaeta Icterohaemorrhagiae*, the Causative Agent of Weil's Disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). **J Exp Med**, v.26, n.3, Sep 1, p.341-53. 1917.

INADA, R., Y. IDO, et al. The Etiology, Mode of Infection, and Specific Therapy of Weil's Disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). **J Exp Med**, v.23, n.3, Mar 1, p.377-402. 1916.

JORGE, R. S., F. FERREIRA, et al. Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.106, n.4, Jun, p.441-4. 2011.

JUNG, L. R. C **Caracterização das propriedades funcionais e probióticas de bactérias lácticas isoladas de cães para uso em vacinas orais contra leptospirose como adjuvante imune ou carreador antigênico**. 2013. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais.

LABARTHE, N. V.; MEC P.; Maria Eveline, C. P. Biossegurança na experimentação e na prática clínica veterinária: pequenos animais. 2008. LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LEVETT, P. N; HAAKE, D. A. **Leptospira Species (Leptospirosis): Part III Infectious Diseases and Their Etiologic Agents**, 2009.

LIMA COSTA, Francisco et al. O PAPEL DE IMUNOGLOBULINAS NA NEFROPATIA DA LEPTOSPIROSE EM SUÍNOS. *Archives of Veterinary Science*, v. 18, n. 3, 2013.

LOUREIRO, A.N; MARTINS, G.; THOMÉ, S.; LILENBAUM, W. Laboratorial diagnosis of animal leptospirosis. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p.119-126, 2013.

Manual de leptospirose. Fundação Nacional de Saúde (Brasil). Brasília; Ministério da Saúde; 2 ed; 98 p; 1995.

MARINHO, M. Leptospirose: fatores epidemiológicos, fisiopatológicos e imunopatogênicos. **Vet. e Zootec.** v.15, n.3, dez., p.428-434, 2008.

MARTINEZ-LOPEZ D.G., FAHEY M., COBURN J. Responses of human endothelial cells to pathogenic and non-pathogenic leptospira species. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 4:918; 2010.

MASCOLLI, ROBERTA et al. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose e brucelose na população canina da Estância Turística de Ibiúna, São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 01-07, 2016.

MATOS, ÉVELLIN CAROLINE ARAÚJO. Investigação da leptospirose canina nos bairros sapucaia e tabela: perfil epidemiológico. Cruz das Almas, Bahia, 2015.

MATSUNAGA, J., BAROCCHI, M. A., CRODA, J., YOUNG, T. A., SANCHEZ, Y., SIQUEIRA, I., et al. (2003). Pathogenic *Leptospira* species express surface-exposed proteins belonging to the bacterial immunoglobulin superfamily. **Molecular Microbiology**, 49(4), 929-945.

MELZ, LAÉRCIO JUAREZ; GASTARDELO, TIANE ALVES ROCHA. A SUINOCULTURA INDUSTRIAL NO MUNDO E NO BRASIL. Revista UNEMAT de Contabilidade, v. 3, n. 6, 2014.

MERIEN, F., TRUCCOLO, J., ROUGIER, Y., BARANTON, G., & PEROLAT, P. In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae*. **FEMS microbiology letters**, 169(1), 95-102; 1998.

MICHEL, JEAN-FRANÇOIS et al. Modelling bovine trypanosomosis spatial distribution by GIS in an agro-pastoral zone of Burkina Faso. **Preventive veterinary medicine**, v. 56, n. 1, p. 5-18, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância Epidemiológica, 7 ed. Série A. Normas e Manuais Técnicos: Brasília – DF, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças parasitárias: guia de bolso. 8. ed. rev. Brasília. 2010.

MIRAGLIA, F.; MORAES, Z. M.; MELVILLE, P. A.; DIAS, R. A.; VASCONCELLOS, S. A. EMJH medium with 5-fluorouracil and nalidixic acid associated with serial dilution technique used to recover *Leptospira spp* from experimentally contaminated bovine semen. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 189-193, 2009.

MIRAGLIA, F., MORENO, A. M., GOMES, C. R., PAIXÃO, R., LIUSON, E., MORAIS, Z. M., VASCONCELLOS, S. A.. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* from pigs slaughtered in São Paulo State, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 3, p. 501-507, 2008.

MIRAGLIA, F.; MORENO, A. M.; Gomes, C. R.; PAIXÃO, R.; LIUSON, E.; MORAIS, MORENO AM, SOBESTIANSKY J, LOPEZ AC, SOBESTIANSKY AAB. Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico. Concórdia: Embrapa-CNPSA;1997.

MORIKAWA, VIVIEN MIDORI. Estudo sorológico da infecção por *Leptospira spp.* em uma área de ocupação irregular e de alto risco para a doença em cães em Curitiba, PR. 2012.

NDEYANELAO, Elisa Graciana Estanislau. Leptospirose humana na Província da Huíla: rastreio serológico e molecular de doentes assistidos no Hospital Central Dr. António Agostinho Neto, Lubango (Angola). 2014. Tese de Doutorado.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais. 3 ed., Guanabara Koogan, 2006.

NOGUCHI, M.D., R.H. MULLER, et al. Experimental studies of yellow fever in northern Brazil, Monograph of the Rockefeller Institute for Medical Research, No.20.1924.

OCHOA, JESÚS E.; SÁNCHEZ, ANTONIO; RUIZ, IVÁN. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. 2000.

OLIVEIRA FILHO, J.X.; DE PAULA, D.A.J.; MORÉS, N.; PESCADOR, C.A.; CIACCI-ZANELLA, J.R.; COLDEBELLA, A.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L. Interstitial nephritis of slaughtered pigs in the State of Mato Grosso, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 4, p. 303-318, 2012.

OLIVEIRA, S.J. Leptospira. In: GUERREIRO, M.G. et.al. Bacteriologia Especial. Porto Alegre. RS: Sulina Cap. 39, p. 463-483, 1984.

OLIVEIRA, S.J. Leptospirose. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. Doenças dos Suínos. 2 Ed. Goiânia: Cânone Editorial, p. 194-200, 2007.

OLIVEIRA, S.V; ARSKY, M.L.N.S.; CALDAS, E.P. Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica, **Saúde**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 9-20, 2013.

OLIVEIRA, SERGIO J. DE, Guia Bacteriológico Prático - Microbiologia Veterinária, editora ULBRA, 3ed.; 2012.

OLIVEIRA, SÉRGIO JOSÉ DE; LIMA, PAULO CÉZAR ROMERO DE LIMA. Leptospirose em suínos: etiologia, diagnóstico e controle (revisão). **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.2, n.1, p.119-128, 1996.

OSAVA, Carolina Fonseca et al. Ocorrência de anticorpos anti-leptospira spp. em diferentes sistemas de criação de suínos. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 2, 2010.

PASQUALI, ALINE KUHN SBRUZZI et al. Cross-sectional study of Leptospira spp. and Brucella abortus in goat herds from Paraná state, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 01-09, 2017.

PAULA, LUIZA GABRIELLA FERREIRA DE et al. Soroprevalência de anticorpos contra patógenos zoonóticos e percepção sobre biossegurança na comunidade interna do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. 2017.

PELISSARI, DANIELE MARIA et al. Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000-2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 4, p. 565-574, 2011.

PEROLAT, P., R. J. CHAPPEL, et al. *Leptospira fainei* sp. nov., isolated from pigs in Australia. **Int J Syst Bacteriol**, v.48 Pt 3, Jul, p.851-8. 1998.

PEZERICO GB, PEZERICO SB, SILVA RC, et al. Ocorrência de 61. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira spp.* Em suínos abatidos em três abatedouros dos Estados de Minas Gerais e São Paulo. **Arq Inst Biol São Paulo**. 2007; 74: 267-70.

PORTAL DA SAÚDE. **Leptospirose**: situação epidemiológica. Disponível em <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados> Acessado em jul. 2017.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas, Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P. Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pig and goats. 10 ed. Saunders Elsevier: St Louis, Cap. 20, p.1094 – 1109, 2006.

REICHMANN. M.L.A.B.; PINTO, H.B.F.; NUNES, V.F.P. Vacinação contra a raiva de cães e gatos. São Paulo: Instituto Pasteur, 1999. 32p. p. 11-12. Manuais, 3.

REITER, H. Beitrage zur actiologie der Weischen krankheit deuts. **Med wchusche**, v. 42, p. 1282-1284, 1916.

RICARDI, LIGIA MARIA PIASSI. Identificação de proteínas secretadas por duas espécies de *Leptospira*, uma patogênica e uma saprófita. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2013.

RIGO, VICTOR HENRIQUE BITTAR et al. OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA SPP. EM SUÍNOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS DE UBERLÂNDIA (MG) Occurrence of anti-*Leptospira spp.* antibodies in swine slaughtered in Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 11, n. 2, p. 185-190, 2017.

RODRIGUES, CLAUDIO MANUEL. ONE HEALTH: SUBSÍDIOS PARA UMA ANÁLISE AMPLIADA DA LEPTOSPIROSE COMO UMA ZOONOSE NEGLIGENCIADA. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 4, n. 2, p. 103-116, 2015.

SANTOS, A. D. S. Infecção experimental em suínos por *Leptospira interrogans* sorogrupo icterohaemorrhagiae e pomona. 2014. Universidade Federal de Goiás Escola de Veterinária e Zootecnia. Tese, 2014.

SANTOS, ANDRÉIA CARVALHO DOS. Diagnóstico sorológico da leptospirose: benefício de amostra aguda tardia na confirmação de casos. Tese de Doutorado. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz; 2011.

SANTOS, T. N.; CARVALHO, F. S.; BEZERRA, R. A.; WENCESLAU, A. A.; ALBUQUERQUE, G. R.; COSTA-DIAS, R. Diagnóstico molecular de leptospirose em suínos abatidos clandestinamente no município de Itabuna-BA. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 33, n. 4, p. 95-199, 2011.

SARMENTO AMC, AZEVEDO SS, MORAIS ZM, SOUZA GO, OLIVEIRA FCS, GONÇALVES AP, MIRAGLIA F. Emprego de estirpes *Leptospira* spp. isoladas no Brasil na microtécnica de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros. **Pesq Vet Bras.** 2012; 32:601-6.

SHIMABUKURO FH, DOMINGUES PF, LANGONI H, SILVA AV, PINHEIRO JP, PADOVANI CR. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospirose pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. **Braz J Vet Res Anim Sci**, v.40, p.243253, 2003.

SILVA, F. J.; MATHIAS, L. A.; MAGAJEVSKI, F. S.; WERTHER, K.; ASSIS, N. A.; GIRIO, R. J. S. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal/SP. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-25, 2010.

SILVA, FELIPE JORGE. Epidemiologia da Infecção por *Leptospira* spp. em áreas rurais nos biomas brasileiros. Jaboticabal, 2014. XV. 154 F. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, 2014.

SILVA, HAGAMENON R. et al. Leptospirose-infecção e forma subclínica em crianças de Salvador, Bahia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 36, n. 2, abr. 2003.

SILVA, PATRICIA LIZANDRA. Leptospirose: Fatores Ambientais Que Favorecem a Sua Ocorrência Em Humanos. **Acervo da Iniciação Científica**, n. 1, 2013.

SIMON MC, ORTEGA C, ALONSO JL, MUZQUIZ JL, GIRONES O, GARCIA J. Risk factors associated with the seroprevalence of leptospirosis among students at the veterinary school of zaragoza University. **Vet Rec.** 144:287-91; 1999.

Sistema de Informações Territoriais (<http://sit.mda.gov.br>). Acesso em 27 de julho de 2017.

SOARES, T. S. M.; LATORRE, M. R. D. O.; LAPORTA, G. Z.; BUZZAR, M. R. Análise espacial e sazonal da leptospirose no município de São Paulo, SP, 1998 a 2006. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 283-291, 2010.

SOTO FRM, VASCONCELLOS SA, PINHEIRO SR, BERNARSI F, CAMARGO SR. Leptospirose suína. **Arq Inst Biol** São Paulo, v.74, p.379-395, 2007.

SOTO, F.R.M.; AZEVEDO, S.S.; MORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R.; DELBEM A.C.B.; MORENO, A.M.; PAIXÃO, R.; VUADEN, E.R.; VASCONCELLOS, S.A. Detection of leptospires in clinically healthy piglets born from sows experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar Canicola. **Brazilian Journal Microbiology**, v.37, p.582-586, 2006.

TIZARD, I.R. Imunologia Veterinária: uma introdução. 5. ed. São Paulo: Roca, 1998.

TRIOLA, MÁRIO F. Introdução à Estatística. 7a. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999.

VALENÇA, R. M. B., MOTA, R. A., CASTRO, V., ANDERLINI, G. A., PINHEIRO JUNIOR, J. W., BRANDESPIM, D. F., GUERRA, M. M. P. Prevalence and risk factors associated with leptospira spp. infection in technified swine farms in the state of Alagoas, Brazil risk factors associated with *leptospira spp.* in swine farms. *Transboundary and emerging diseases*, v. 60, n. 1, p. 79-86, 2013.

VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose em animais domésticos e silvestres: prevenção e controle. Oficina Estado da Arte e Prioridades para P&D em Leptospirose/FIOCRUZ, p.12. Salvador, 2000.

VASCONCELOS, CARLA GASPAROTTO CHANDE. Zoonoses ocupacionais: Inquérito soropidemiológico em estudantes de Medicina Veterinária e Análise de Risco para Leptospirose, Brucelose e Toxoplasmose. 2003, 105f. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

VASCONCELOS, Cíntia Honório et al. Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001-2009. **Cad Saude Colet**, v. 20, n. 1, p. 49-56, 2012.

VIANA, Felipe José Costa et al. Abate clandestino de suínos e pequenos ruminantes na cidade de Teresina, Piauí: implicações na saúde ocupacional. **Revista Interdisciplinar Ciências e saúde - RICS**, v. 1, n. 1, 2014.

VIEGAS, S.S.; TAVARES, C.H.T.; OLIVEIRA, E.M.; DIAS, A.R.; MENDONÇA, F.F.; SANTOS, M.F.O. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de Salvador – Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, 2001.

VIEIRA, Mônica Larucci. Interação de *Leptospira interrogans* com o sistema proteolítico plasminogênio/plasmina: análise, caracterização e possíveis implicações na infecção. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

VIJAYACHARI, P., SUGUNAN, A. P., & SHRIRAM, A. N. (2008). Leptospirosis: an emerging global public health problem. **J Biosci**, 33(4), 557-569.

VILGES DE OLIVEIRA, Stefan; ARSKY, Maria de Lourdes Nobre Simões; DE CALDAS, Eduardo Pacheco. Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica. **Saúde (Santa Maria)**, v. 39, n. 1, p. 9-20, 2013.

WANG, ZHIJUN; JIN, LI; WEGRZYN, ALICJA. Leptospirosis vaccines. **Microbial Cell Factories**, v. 6, n. 1, p. 39, 2007.

WASIŃSKI, B., Z. PEJSK, et al. Occurrence of leptospiral infections in swine population in Poland evaluated by ELISA and microscopic agglutination test. **Pol J Vet Sci**, v.13, n.4, p.695-9. 2011.

WHO, JOINT et al. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WH. 2003.

WILSON, R. T.; SWAI, E. S. Pig Production in Tanzania: a Critical Review. **Tropicultura**, v. 32, n. 1, 2014.

WILSON, R.T.; SWAI, E. A review of pig pathology in Tanzania Tropical Animal Health and Production, Livingstone, v. 45, n. 6, p. 1269–1275, 2013.

ARTIGO 1

Artigo a ser enviado para a revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, cujas orientações encontram-se disponíveis em:

<http://www.scielo.br/revistas/abmvz/pinstruc.htm>.

LEVANTAMENTO DA LEPTOSPIROSE EM AMOSTRAS DE SUÍNOS DO TERRITÓRIO DE IDENTIDADE SEMIÁRIDO NORDESTE II DO ESTADO DA BAHIA

[SEROLOGICAL SURVEY OF LEPTOSPIROSIS IN SWINE SAMPLES OF THE NORTHEAST II SEMI-ARID IDENTITY TERRITORY OF THE STATE OF BAHIA]

J. S. Jorge, R. B. Cerqueira, A. K. S. Cavalcante, C. E. C. O. Ramos

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

RESUMO

A leptospirose é uma zoonose bacteriana que assume considerável papel como problema econômico e de saúde pública. Neste estudo objetivou-se detectar anticorpos anti-leptospira em 337 amostras de suínos de cinco cidades pertencentes ao estado da Bahia. As amostras foram processadas pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em campo escuro utilizando os 19 sorovares: Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola, Gryppotyphosa, Pomona, Australis, Bataviae, Castellonis, Cynopteri, Javanica, Panama, Pyrogenes, Hardjo, Sejroe, Patoc, Tarassovi, Autumnalis, Hebdomadis e Wolffi. A ocorrência de anticorpos nas cidades foi de 74,18%, sendo 50 (20%) provindos de soros da cidade de Adustina, 50 (20%) de Antas, 50 (20%) de Cícero Dantas, 50 (20%) de Paripiranga e 50 (20%) de Coronel João Sá. Todas as amostras foram sororeagentes para mais de um sorovar sendo o mais frequente o Icterohaemorrhagiae 59 (23,6%), seguido do Copenhageni 48 (19,2%) e Canicola 33 (13,2%). Foi observada pelo presente levantamento uma porcentagem de 74,18% sororeagentes com predominância para sorovarietade Icterohaemorrhagiae (23,6%), Copenhageni (19,20%) e Canicola (13,20%), com maior positividade para as diluições 1: 1600 e 1: 3200. A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* estimada via Modelos Lineares Generalizados apresentou estimativas com valores significantes em parâmetros relacionados à raça deste animais

Palavras-chave: Spirochoeta icterohaemorrhagiae, Leptospira, Soroagluinação microscópica.

ABSTRACT

The leptospirosis is a bacterial zoonosis that assumes considerable role as an economic and public health problem. This study aimed to detect anti-*leptospira* antibodies in 337 swine samples from five cities in the state of Bahia. As samples were processed by the technique of Microscopic Seroagglutination (SAM) in the field only the 19 type strains: *Icterohaemorrhagiae*, *Copenhageni*, *Canicola*, *Gryppotyphosa*, *Pomona*, *Australis*, *Bataviae*, *Castellonis*, *Cynopteri*, *Javanica*, *Panama*, *Pyrogenes*, *Hardjo*, *Sejroe*, *Patoc*, *Tarassovi*, *Autumnalis*, *Hebdomadis* e *Wolffi*. The occurrence of antibodies in the cities was 74,18%, being 50 (20%) of sera from the city of Adustina, 50 (20%) from Antas, 50 (20%) from Cicero Dantas, 50 (20%) from Paripiranga and 50 (20%) of Coronel João Sá. All samples were seroreactive for more than one serovar, the most frequent being *Icterohaemorrhagiae* 59 (23,6%), followed by *Copenhageni* 48 (19,2%) and *Canicola* 33 (13,2%). A percentage of 74.18% serum-reactants with predominance for serovarity *Icterohaemorrhagiae* (23.6%), *Copenhageni* (19.20%) and *Canicola* (13.20%) were observed, with a higher positivity for dilutions 1 : 1600 and 1: 3200. The serum positivity of *L. interrogans* estimated by Generalized Linear Models presented estimates with significant values in parameters related to the breed of this animals

Keywords: *Spirochoeta icterohaemorrhagiae*, *Leptospira*, pigs.

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose bacteriana, de ocorrência variável em diferentes partes do mundo, de caráter sistêmico que afeta diversas espécies de animais domésticos, silvestres e os seres humanos, amplamente disseminada, assumindo considerável papel como problema econômico e de saúde pública (AZEVEDO *et al.*, 2011).

É considerada atualmente uma das zoonoses mais difundidas do planeta, causada por espécies patogênicas de bactérias pertencentes ao gênero *Leptospira*, o qual atualmente é composto por 19 espécies e mais de 300 sorovares. Os humanos são hospedeiros acidentais da enfermidade, manifestando a doença na forma subclínica ou clínica, mas dificilmente tornando-se portadores renais crônicos (ADLER & MOCTEZUMA, 2010).

Em suínos, este tipo de zoonose caracteriza-se pela ocorrência de abortamento no final da gestação, repetição de estro, mumificação fetal, natimortalidade, nascimento de leitões fracos, baixo número de leitões, descarga vulvar patológica e morte embrionária. São considerados os mais importantes animais domésticos portadores da doença, pois neles geralmente as manifestações clínicas variam de discretas a ausentes, o que dificulta a identificação da infecção na granja (GONÇALVES & COSTA, 2011).

A doença se estendeu por áreas rurais tornando-se uma das causas de epidemias em comunidades urbanas dos países em desenvolvimento. Nesses países, como no caso do Brasil, a sua ocorrência está relacionada ao acelerado e desordenado processo de expansão urbana, onde grande parte da população passou a habitar áreas da periferia, sem o mínimo de condições de infraestrutura e saneamento, facilitando a manutenção de agentes patogênicos nocivos à saúde animal e humana (BIER *et al.*, 2013).

Adicionalmente, é caracterizada por ser uma importante zoonose de alto risco ocupacional, uma vez que atingem várias categorias profissionais, principalmente médicos veterinários, açougueiros, e funcionários de granjas suínas que estão frequentemente sujeitos ao contato direto com o agente (CAMPOS *et al.*, 2011; GUERRA, 2013; WILSON & SWAI, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Levantamentos sorológicos para o diagnóstico da infecção no Brasil, revelaram percentual de 36,6% em Botucatu (SHIMABUKURO *et al.*, 2003), 4,7% nos estados do

Piauí e Maranhão (GONÇALVES *et al.*, 2011) elevando posteriormente para 5,7% reagentes (GONÇALVES *et al.*, 2014), 26,6% no Ceará e 45% em Pernambuco (FAVERO *et al.*, 2002). Existe a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira spp.* em suínos abatidos em frigoríficos de 59,38% no município de Uberlândia, MG (RIGO *et al.*, 2013).

As perdas e falhas reprodutivas são decorrentes da infecção fetal durante a fase aguda e também das lesões ocorridas nos órgãos genitais durante a fase em que o animal se torna portador crônico do agente. Medidas preventivas globais, executadas sem planejamento, podem ser ineficientes no controle da doença, uma vez que a ocorrência da infecção em uma granja pode estar ligada a características locais (FIGUEIREDO *et al.*, 2013a; SANTOS, 2014).

O controle da doença em animais de produção também deveria ocorrer através de vacinação e educação dos proprietários, veterinários e tratadores. Entretanto, é demonstrado que esta medida de vacinação pode ser fracassada (FELIX, 2013). Desta forma o presente trabalho tem por objetivo detectar anticorpos anti-*leptospira* em amostras de soro de suínos criados em granjas rurais localizadas nos municípios de território de Identidade da Bahia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Determinação do número de amostras

A amostragem foi definida com base na população total de suínos no estado da Bahia, estimada a partir da população humana de 118000 habitantes entre as cidades amostradas. Para o cálculo da proporção suíno: homem, foi utilizada uma relação de 1:10 (REICHMANN et al., 1999), que redundou em um total de 11800 suínos. Foram estratificadas pela área geográfica 337(2,85%) de amostras entre as regiões produtoras a um raio de 400 km da cidade de Salvador - BA.

A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* foi estimada via Modelos Lineares Generalizados - GLM (*Generalized Linear Models*) considerando uma distribuição binomial para uma função de ligação *logit*. O modelo geral utilizado na análise é apresentado abaixo.

$$Y_{ij} = \mu + \delta_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde, Y: estimativa de positividade; μ : média geral; δ : efeito dos fatores; ε_{ij} : vetor dos erros dos modelos proporção estimada (prevalência); e: erro amostral.

2.2 Área de estudo

Os estudos foram conduzidos nas cidades de Ajustina, Antas, Cícero Dantas, Paripiranga e Coronel João Sá, pertencentes à região de território de identidade Semiárido Nordeste II do estado da Bahia. Os Territórios de Identidade são considerados unidades de planejamento do Governo – integrando as políticas públicas e viabilizando na prática as condições e estruturas para que as ações sejam implementadas, e através da Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia (SEI).

Os animais presentes nas propriedades foram utilizados para coleta do sangue e obtenção do soro para exame laboratorial visando o sorodiagnóstico para leptospirose.

As amostras utilizadas pertenceram ao banco de soro da ADAB (Agência de Defesa Agropecuária da Bahia). Os municípios foram escolhidos aleatoriamente. Em cada município foi analisada uma propriedade, ou seja, foram examinadas, ao final do estudo, 05 propriedades.

2.3 Amostras

Utilizou-se um total de 337 amostras de suínos (*Sus scrofa domesticus*) de propriedades rurais durante o período de abril/2016, híbridos comerciais, com idade média de 145 dias, com peso vivo entre 90 a 120 kg, de ambos os sexos, das raças Landrace, Duroc e mestiços, oriundos de Granjas de Reprodutores Suídeos, e de matrizes negativas e não vacinadas para leptospirose. As amostras foram gentilmente cedidas pela Agência de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB).

As amostras foram armazenadas sob-refrigeração no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, onde passaram por centrifugação a 3000rpm, por 5 minutos, separando o soro e acondicionado em eppendorf de 1,5 ml a 20°C negativos para posterior análise sorológica.

Para o diagnóstico de anticorpos contra *Leptospira spp.*, foi realizada a prova de soroglutinação microscópica (SAM), técnica preconizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS).

Utilizou-se de uma coleção de antígenos vivos com 19 variantes sorológicas de *leptospiras*. Os sorovares utilizados foram: *Icterohaemorrhagiae*, *Copenhageni*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Pomona*, *Australis*, *Bataviae*, *Castellonis*, *Cynopteri*, *Javanica*, *Panama*, *Pyrogenes*, *Hardjo*, *Sejroe*, *Patoc (saprófita)*, *Tarassovi*, *Autumnalis*, *Hebdomadis*, *Wolffi*, mantidos a 28°C em meio de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) a 0,2%, adicionado de 10% de soro de coelho estéril e inativado, cedidas em convênio com o laboratório de referência para a leptospirose a Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz.

As linhagens foram repicadas do meio Fletcher para o de Ellinghausen McCullough-Johnson-Harris (EMJH) modificado, acrescido de 5 fluorouracil, cloranfenicol, vancomicina, ácido, nalidíxico e neomicina (FREITAS *et al.*, 2004) e em

seguida enriquecido com soro de coelho. Foram repicadas semanalmente e mantidas em meio Fletcher em estufa B.O.D a 30°C, com crescimento de aproximadamente 12h e pH entre 7,2 e 7,8.

Os antígenos foram preparados a partir de matrizes mantidas no Laboratório de Doenças Infecciosas (LDI) da UFRB, repicadas quinzenalmente em meio de cultura EMJH (Difco®), enriquecido com 10% de soro de coelho, mantido em estufa a 30°C, livres de contaminação e de auto aglutinação. Para determinação dos suínos sororreagentes, foi utilizada a diluição de 1:100, considerando-se amostras reagentes, as quais apresentaram aglutinação igual ou superior a 50%.

2.4 Técnica de Soro Aglutinação Microscópica

2.4.1 Triagem

Na triagem foi utilizado os 19 sorovares como antígenos. Realizou-se diluição da suspensão de *Leptospira spp.* a proporção de 1:2 PBS (*phosphate buffered saline*), ph de 7,2. Examinou-se em microscópio de campo escuro/contraste de fase com objetiva de 10x e ocular de 10 a 16x, na lâmina, verificando assim espiroquetas individualizadas.

Os antígenos foram preparados a partir de matrizes mantidas no LDI da UFRB, repicadas quinzenalmente em meio de cultura EMJH (Difco®), enriquecido com 10% de soro de coelho, mantido em estufa a 30°C, livres de contaminação e de auto aglutinação. Para determinação dos suínos soro reagentes, foi utilizada a diluição de $\geq 1:100$, considerando-se amostras reagentes, as quais apresentaram aglutinação igual ou superior a 50%.

Os materiais utilizados na preparação das amostras foram esterilizados em Fluxo laminar com UV para esterilidade, sendo estes: luvas, micropipeta, placas com eppendorfs e pipetas por 30 minutos no fluxo.

Adicionou-se em tubos 16x160, 4,9 ml de PBS e 0,1 ml do soro a ser testado (diluição 1:50) sob agitação. Para o controle foi distribuído 0,2ml de PBS e 0,2 ml da suspensão antigênica, 3 gotas destes tubos foram colocados em lâminas para observação de aglutinação de campo escuro/contraste de fase.

Removeu-se 0,2 ml de cada antígeno e adicionou-se 0,2 ml do soro diluído, dessa diluição em 19 tubos 12x100. Retirou-se 3 gotas do Ag/At para testar a aglutinação para os diferentes sorovares. Em seguida, as misturas de soro e antígeno são mantidas em estufa B.O.D a 37°C durante 3 (três) horas.

As gotas são colocadas em lâminas para observação de aglutinação em microscópio em campo escuro/contraste de fase. Observou-se em microscópio de campo escuro/contraste de fase se os soros aglutinam mais de 50% das Leptospiras. Os soros que apresentaram reação positiva para um determinado sorovar são novamente congelados para posteriormente serem utilizados na titulação juntamente com o sorovar reagente.

A detecção de anticorpos anti-leptospiras foi realizada pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). O critério adotado para o soro ser considerado como reagente foi de 50% de Leptospiras aglutinadas por campo microscópico em aumento de 100 vezes. O sorovar registrado foi aquele que apresentou maior título, sendo as demais aglutinações consideradas reações cruzadas.

A leitura da reação foi realizada em microscópio óptico (Jena Zeiss) com condensador de campo escuro (MCE), com objetiva (Epiplan) 20x/0,2 e ocular de 10 no aumento de 200 vezes, sendo avaliado o grau de aglutinação. Inicialmente os soros foram diluídos em 1:100 e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram considerados positivos.

A sorologia foi realizada pelo teste de soroaglutinação microscópica com antígenos vivos (SAM). As amostras foram diluídas inicialmente em solução salina tamponada (PBS-pH 7.2) a 1:100, e apenas aquelas que aglutinassem 50% ou mais das leptospiras nesta diluição seriam consideradas positivas e então testadas para as diluições 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 e 1:3200, para obtenção do título final de anticorpos.

2.4.2 Titulação

A titulação foi realizada com os soros que obtiveram resultados positivos durante a triagem. Os soros foram colocados em tubos 16x160, onde foram adicionados

4,9ml de salina fisiológica e 0,1ml do soro a ser testado (diluição 1/50). Em seguida foi distribuído em 5 tubos 12x100 com cada sorotipo reagente de cada soro testado.

Removeu-se da diluição 0,2 ml com uma micropipeta, colocou-se em um eppendorf identificado com título de 100. Adicionou-se nesse mesmo eppendorf mais 0,2 ml do antígeno. Utilizou-se um segundo eppendorf, identificado com o título de 200, recebendo 0,2 ml da mistura do 1° eppendorf e mais 0,2 ml do antígeno. Em um 3° eppendorf, com a identificação do título 400, recebeu-se 0,2 ml do 2° eppendorf mais 0,2 ml do antígeno. O 4° eppendorf, com a identificação do título de 800, recebeu-se 0,2 ml da diluição do 3° eppendorf e mais 0,2 ml do antígeno. O 5° eppendorf, representando uma titulação de 1600, recebeu 0,2 ml do antígeno e mais 0,2 ml da diluição do 4° eppendorf. Por fim, desprezou-se 0,2 ml da diluição do 5° eppendorf.

Para a realização da leitura da aglutinação, são removidos 10 µl de cada eppendorf. Depositou-se em lâminas, para avaliação microscópica em contraste de fase para a realização da titulação. Os soros são titulados de acordo com a última titulação observada ao microscópio.

A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* foi estimada via Modelos Lineares Generalizados - GLM (*Generalized Linear Models*) considerando uma distribuição binomial para uma função de ligação *logit*.

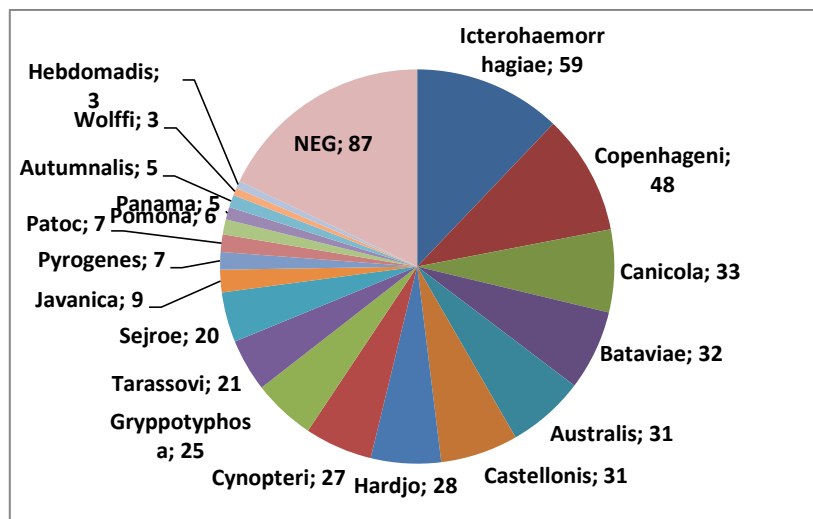
3. RESULTADOS

Foram amostrados 337 animais, dentre estes, 242 (71,8%) foram do sexo masculino e 95 (28,2%) do sexo feminino. Quanto à raça, 170 (50,44%) foram Landrace, 117 (34,71%) foram Duroc e 50 (14,83%) da raça mestiça. Quanto à cidade de origem, 82 (24,33%) foram pertencentes a Cícero Dantas, 73 (21,66%) à Antas, 65 (19,28%) à Adustina, 61 (18,10%) à Coronel João Sá e 56 (16,61%) à Paripiranga.

Destes suínos nos quais se pesquisou a presença ou ausência de anticorpos anti-leptospiras frente a 19 antígenos pela SAM, obteve-se 250 soros reagentes (74,18%) para mais de um sorotipo e 87 (25,81%) soros não reagentes (Figura 3). Das 250 amostras da etapa de triagem, todas foram reagentes na etapa de titulação. Houve 176 amostras de machos e 74 de fêmeas. Deste mesmo total, 100 (40%) eram da raça Duroc, 100 (40%) Landrace e 50 (20%) mestiços. No que diz respeito à origem dos animais, 50 (20%) provieram da cidade de Adustina, 50 (20%) de Antas, 50 (20%) de Cícero Dantas, 50 (20%) de Paripiranga e 50 (20%) de Coronel João Sá, pertencentes ao estado da Bahia. Os animais amostrados em suas localidades possuíam faixa etária de 145 dias de vida e foram mantidos em regime de criação semi-confinado. Durante o período de coleta foi relatado casos de natimortalidade e abortos.

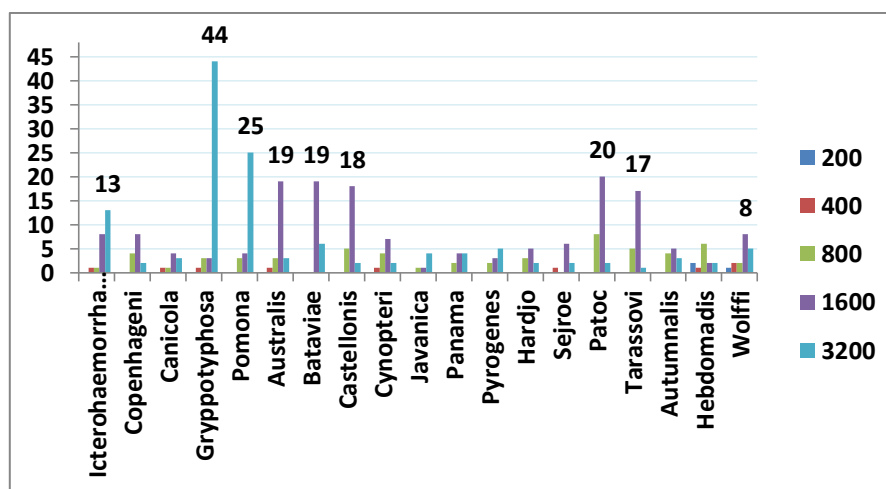
Observou-se que houve uma variação para os 19 sorogrupos testados, demonstrando reação ao teste SAM. O sorovar *Icterohaemorrhagiae* 59 (23,6%), *Copenhageni* 48 (19,2%), *Canicola* 33 (13,2%). Por outro lado, os sorovares *Wolffi* 3 (1,2%) e *Hebdomadis* 3 (1,2%) foram os que apresentaram menor reação. Animais que não apresentaram aglutinação mediante a apresentação de título de 1:100 foram representados pelos animais negativos (NEG) 87 indivíduos, figura 01.

Figura 1 - Representação do teste de triagem realizado com os soros de suínos pelo teste da SAM em Contraste de Fase distribuída por 19 sorovares de *Leptospira*.



No que se refere à representação de diluições máximas em titulação, foi observado que três amostras soro-aglutinaram em títulos de 1:200, 9 em 1:400, 57 em 1:800, 161 em 1:1600 e 130 para 1:3200. Os sorovares *Gryppotyphosa* (51), *Pomona* (32) e *Patoc* (30) foram prevalentes nessas diluições. Em títulos de diluição na proporção de 1:200, o sorovar mais elevado foi *Hebdomadis* com dois soros aglutinantes, enquanto na diluição 1:400 o sorovar *Wolffii* (2) obteve maiores proporções. Para diluições de 1:800 o sorovar *Patoc* com oito amostras e 20 na diluição 1:1600 foi o mais preponderante entre as amostras soroaglutinadas e o sorovar *Javanica* (1) o mais inferior. O sorovar *Gryppotyphosa* na diluição de 1:3200 foi o mais o que obteve o maior número de amostras aglutinadas e o sorovar *Tarassovi* (1) o menor para esta diluição como observado na Figura 2.

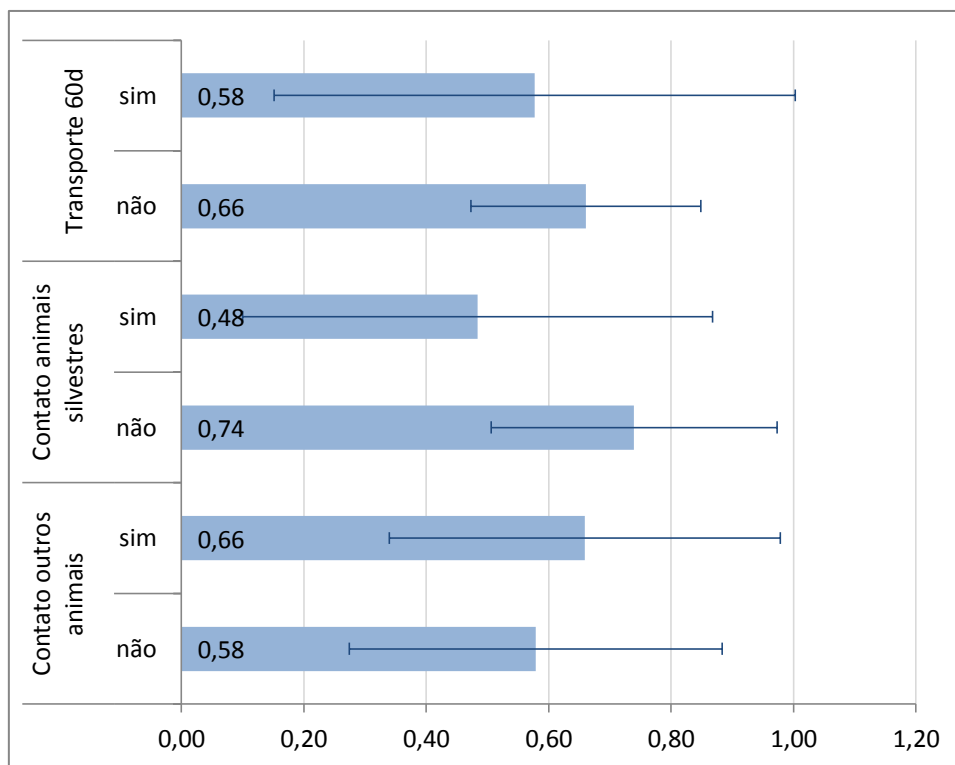
Figura 2 – Representação do teste de titulação realizado com os soros de suínos pelo teste da SAM em contraste de fase distribuída por 19 sorovares de *Leptospira*.



A estrutura do rebanho conferida através de análise de clusters ascendente resultou numa estrutura muito similar que não se fez capaz de diferenciar os rebanhos estudados.

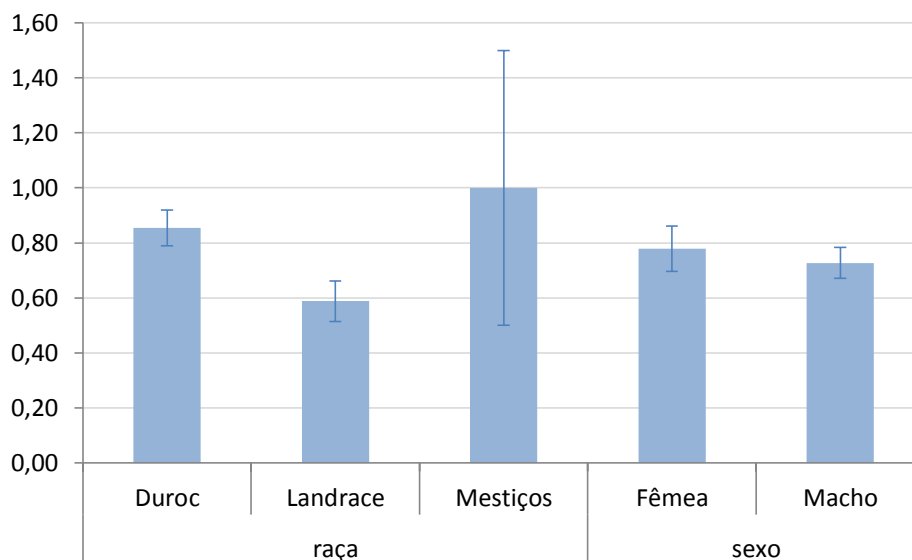
Crítérios utilizados quanto convivência com susceptíveis de outros estabelecimentos pela ADAB conferiram que não houve significância representativa entre os rebanhos analisados, obtendo 0,66% de animais que tiveram contato com animais de outros estabelecimentos e 0,58% de animais que não tiveram contato. Quanto a convivência/contato com animais silvestres se obteve um percentual de 0,48% de animais que não possuem convivência/contato e 0,74% dos que possuem. Em relação ao trânsito dos animais nos últimos 60 dias, detectou que 0,66% não realizaram este transporte e 0,58% realizaram. Quanto a esses parâmetros foi observado que não existe correlação significativa como demonstrado na figura 3 abaixo.

Figura 3 - Estimativa da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função da convivência com suscetíveis de outros estabelecimentos, convivência/contato com animais silvestres e trânsito nos últimos 60 dias na criação dos suínos via GLM *logit*



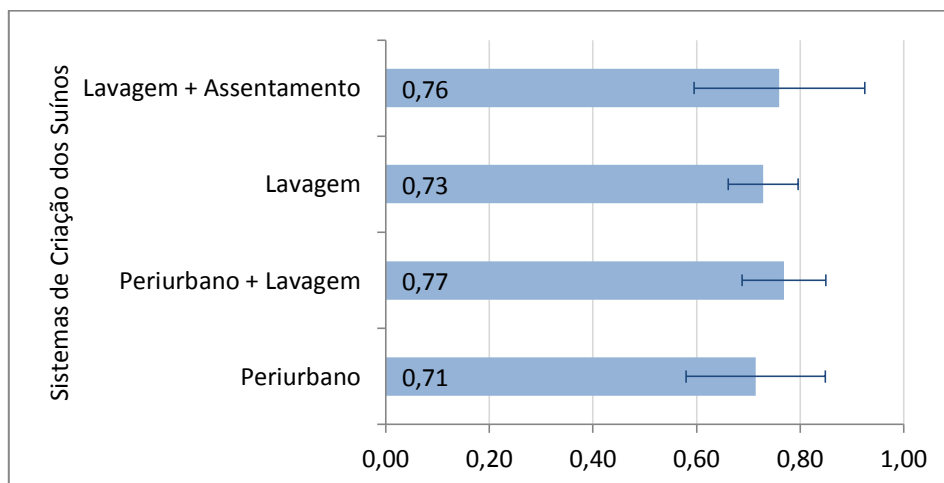
Estimativas da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função da raça dos suínos via GLM *logit*, demonstraram que houve diferença quanto positividade, sendo mais significativa em animais mestiços, seguidos da raça Duroc e posteriormente da raça Landrace. Numa mesma análise realizada referida ao sexo dos rebanhos analisados conferiram que não houve diferença expressiva neste parâmetro sendo expresso por um percentual de 22% de positividade para fêmeas e 27% para machos conforme demonstra a figura 4 abaixo.

Figura 4 - Estimativa da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função do sexo e raça dos suínos via GLM *logit*



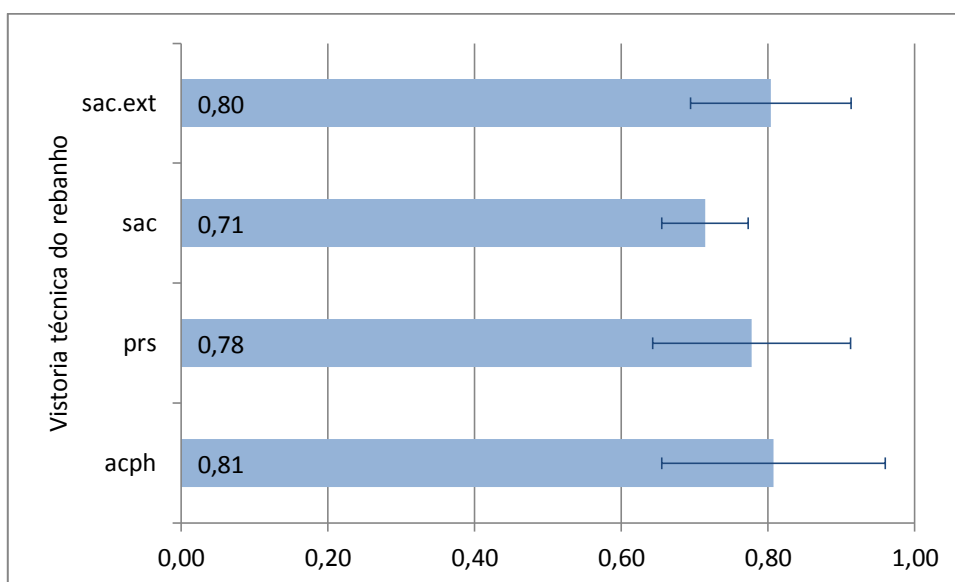
No que se refere ao critério de risco utilizado para seleção do estabelecimento pela ADAB quanto ao sistema de criação, observou que também não houve diferença significativa entre diferentes sistemas a exemplo dos de localização em Áreas periurbanas ou comunidades carentes (A); dos que realizam fornecimento de resíduos alimentares (lavagem) aos suínos (B) e dos que se localizam em áreas de assentamentos rurais ou reservas indígenas (C), demonstrado na figura 5 a seguir.

Figura 5 - Estimativas da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função do sistema de criação dos suínos via GLM *logit*



Resultados da vistoria geral do rebanho e exame clínico dos animais amostrados demonstraram que não houve diferença significativa quanto positividade quando relacionadas parâmetros como: animais sem alterações clínicas (SAC); animais confinados em ambientes de pouca higiene (AOCP); criação extensiva/ animais em bom estado nutricional sem apresentar alterações clínicas (SAC EXT); ponto de risco sanitário/ criação comunitária (PRS) como demonstrado na figura 6 a seguir:

Figura 6 - Estimativa da probabilidade de positividade para *L. interrogans* em função da vistoria técnica dos suínos via GLM *logit*



4. DISCUSSÃO

Na titulação de 1:200 observou-se que um número reduzido de sorovares responderam a esta diluição, porém as únicas amostras que responderam foram *hebdomadis* e *wolffi* respectivamente. Sugere-se que isso se atribui ao fato desses animais apresentarem uma exposição prévia ao antígeno ou estes foram vacinados. Como justificado por Faine et al. (1999) muitos animais em fase crônica de infecção provavelmente já não mais apresentam títulos de anticorpos em níveis satisfatórios para detecção pela técnica de soraglutinação microscópica.

Houve um número reduzido de amostras que apresentaram aglutinação para a diluição de 1:400, porém maior que 1:200, demonstrando que já apresentam um certo potencial de transmissibilidade entre estes indivíduos principalmente os criados sob grandes densidades. Em outras palavras isso significa dizer que os animais reagentes a este título possuem maior soropositividade ou exposição evidente ao agente infeccioso sendo parâmetros como densidade e sexo um importante fator disseminatório como afirmado por Soto et al. (2007) que quanto maior a densidade de animais por unidade de área, maior o risco de exposição por contato direto com a fonte comum e um pequeno número de animais portadores em um ambiente favorável pode contaminar rapidamente todo o meio compartilhado.

Em diluições de 1:800 os indivíduos apresentaram altos níveis de exposição nessas criações, ressaltando a importância que isso representa quando a população estudada é composta principalmente por suínos reprodutores. Animais que manifestaram soro-aglutinação para esta diluição já são considerados infectados e a transmissão da leptospirose pode ocorrer por meio do sêmen. Acredita-se que estes indivíduos apresentem sintomatologia evidente ao agente causal da doença destacando-se falhas reprodutivas em fêmeas como uma das principais razões de descarte e quedas nos índices produtivos (BEURON & BRITO, 2016).

Os animais reagentes a níveis de diluição 1:1600 foram os mais prevalentes (161) quando comparados as demais diluições. Isso pode ser explicado pelo fato destes animais apresentarem exposição ao agente em alguma fase da vida, e não necessariamente ter desenvolvido sintomatologia evidente da Leptospirose, corroborando com Campos et al. (2011) onde consideraram infectantes aquelas amostras soropositivas que aglutinaram a dois ou mais sorovares e apresentaram

elevados títulos. Desta forma sugere-se que estes animais possuem anticorpos contra Leptospirose e podem ter sido infectados recentemente mais não desenvolveram a doença de forma clínica.

Em títulos mais diluídos 1:3200 houveram um número consideravelmente elevado (130), ocupando o segundo lugar quando relacionado as outras quatro diluições. Desta forma acredita-se que indivíduos reativos a este nível de titulação apresentem sintomatologia evidente ao agente causal da doença destacando-se falhas reprodutivas em fêmeas como uma das principais razões de descarte e quedas nos índices produtivos (BEURON; BRITO, 2016).

Em concordância os autores ainda ressaltaram que é de grande importância adotar procedimentos voltados para higiene adequada das instalações, saneamento e orientação em saúde dos funcionários como medidas essenciais para a redução dos riscos, uma vez que os trabalhadores possuem contato com sangue, urina e vísceras como fígado e rim de suínos estão sujeitos a se infectarem pela *Leptospira spp.* (CARRIJO, 2012).

Foi analisado por Favero et al. (2002) a condição sorológica contra *Leptospira spp.* em ovinos, bubalinos, cães, caprinos, equinos e suínos em diversos estados brasileiros. As porcentagens de ocorrência de anticorpos contra *Leptospira spp.* e as sorovarietades mais frequentes na espécie suína foi 24,46%, *Grippotyphosa* e *Icterohaemorrhagiae* em MG, *Pomona* no RS, *Pomona* e em PE e RJ, *Autumnalis* no CE e *Icterohaemorrhagiae* em GO, PR, SC e SP, 23,6%. Na Bahia foi encontrado no presente trabalho 74,18% soro-reagentes com predominância para sorovarietade *Icterohaemorrhagiae* (23,6%), *Copenhageni* (19,20%) e *Canicola* (13,20%).

Todas as amostras analisadas reagiram a mais de um título e concomitantemente a mais de um sorovar, demonstrando que há uma maior predisposição dos animais a contraírem a doença. Os resultados encontrados pelo presente trabalho são de grande importância principalmente para a cadeia produtiva de suínos, visto que a leptospirose nesses animais constitui uma causa importante de deficiências reprodutivas que culminam em prejuízos econômicos para os setores produtivos (WILSON; SWAI, 2014).

Medidas preventivas globais superficiais ou mal planejadas podem ser ineficientes no controle da doença, uma vez que a ocorrência da infecção em uma granja

pode estar associada a características regionais principalmente climáticas. O uso de antimicrobianos no controle da infecção deve ser feito sob cautela e receber atenção especial em virtude de que resíduos dessas drogas são encontrados nos produtos finais destinados ao consumo humano (FIGUEIREDO et al., 2013).

Foi encontrado um número expressivo de reagentes a SAM, visto que a resposta imune persiste em determinado tempo que as bactérias foram eliminadas do organismo (MIRAGLIA et al., 2008). Algumas conclusões importantes podem ser extraídas deste artigo quanto à titulação nas diluições 1:1600 e 1:3200, em que houveram um número relevante de animais que apresentaram reação de soro-aglutinação, tendo em vista que estes animais podem ser possíveis transmissores da doença aos humanos tanto para o consumidor quanto para o responsável pela manipulação do animal ao abate (VIANA et al., 2014).

5. CONCLUSÃO

- Foi observada pelo presente levantamento uma soroaglutinação das amostras aos 19 antígenos testados com maior positividade para as diluições 1: 1600 e 1: 3200.
- Das cinco cidades estudadas foi demonstrado pelo presente levantamento exposição dos animais aos diferentes sorogrupos com uma tendência a categoria de reprodutores.
- O maior número de amostras para a titulação de 1:3200 demonstraram que os animais advindos destas regiões necessitam de maiores atenções quanto as falhas reprodutivas e quedas nos índices produtivos.
- A positividade no soro dos suínos para *L. interrogans* estimada via Modelos Lineares Generalizados - GLM (Generalized Linear Models) apresentou estimativas com valores significantes em parâmetros relacionados a raça deste animais

6. REFERÊNCIAS

ADLER B, CHAPPEL RJ, FAINE S. The sensitivities of different immunoassays for detecting leptospiral antigen. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*. 1982 Jul; v. 252, n. 3, p. 405-413.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and Leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, v. 27 n. 140 p. 287-296, 2010.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; DIB, C. C.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, E. M. S.; LARA, M. C. C. S. H.; RODRIGUEZ, C. A. R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z. M.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Anticorpos contra agentes bacterianos e virais em suínos de agricultura familiar do município de Monte Negro, RO. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*, v. 73, n. 4, p. 415-420, 2006.

ALMEIDA, F.; LIMA, G. S; PICCININ, A.. Leptospirose em suínos. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. Ano 6, n. 10, 2008.

ANGELO, G.; CICOTI, C. A. R.; BELTRAN, M. P. Doenças infecciosas que acometem a reprodução das fêmeas - revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, ano VII, n. 12, 2009. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/ET9MiXcEZxhF1Jh_2013-6-21-10-56-8.pdf>. Acesso em: 02 de abril de 2017.

AZEVEDO, S. S. et al. Frequency of anti leptospire agglutinins in sows from a swine herd in the Ibiúna Municipality, State of São Paulo, Brazil. *Arq. Inst. Biol*, v. 73, n. 1, p. 97-100, 2006.

AZEVEDO, S. S.; FERNANDES, A. R. F.; QUEIROGA, I. M. B. N.; ALVES, C. J.; DE MORAIS, Z. M.; SANTOS, C. D. S. A. B.; VASCONCELLOS, S. A. Ocorrência e fatores de risco associados à leptospirose em cães atendidos em hospital veterinário no semiárido paraibano. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 48, n. 2, p. 161-166, 2011.

AZEVEDO, S.S.; SOTO, F.R.M.; MORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R.; VUADEN, E.R.; BATISTA, C.S.A.; SOUZA, G.O.; DELBEM, A.C.B.; GONÇALES, A.P.; VASCONCELLOS, S.A. Frequency of anti leptospire agglutinins in sows from a swine herd in the Ibiúna Municipality, State of São Paulo, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v. 73, n. 1, p. 97-100, 2006.

BALASSIANO, I. T.; VITAL-BRAZIL, J. M.; DE LIMA BARBOSA, A. T.; MORAES, S. R.; MACHRY, L.; TIMM, L. N.; PEREIRA, M. M. Aspectos Clínicos de Leptospirose Anictérica em Plantador de Arroz na Região Sul do Brasil. *Revista de Saúde*, v. 2, n. 1, p. 61-65, 2016.

BALBINOT, A. ALVES, G.; S. L.; ARAUJO, RENATA BRASIL. Perfil de consumo de substâncias psicoativas por adolescentes escolares do ensino fundamental da Grande Porto Alegre/RS. *Interação em Psicologia*, v. 16, n. 2, 2012.

BARCELLOS, D. E. S. N. B.; MARQUES, B. M. F. P. P.; MORES, T. J., CENTENARO, F., SOBESTIANSKY, J. Uso de perfis sorológicos e bacteriológicos em suinocultura. *Acta scientiae veterinariae*. Porto Alegre, 2009.

- BARCELLOS, D. E. S. N. ; SOBESTIANSKY, J. Doenças dos suínos. Cãnone Editorial: Goiânia, p. 286-293, 2007.
- BAROCCHI, M. A.; KO, A. I.; REIS, M. G.; MCDONALD, K. L.; RILEY, L. W. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but non intracellular pathogen. *Infection and immunity*, v. 70, n. 12, p. 6926-6932, 2002.
- BENITEZ, A.; RODRIGUES, G. G.; DIB GONÇALVES, D.; BURKE, J. C.; APARECIDA A., L.; ECKEHARDT M., E.; DE FREITAS, J. C. Leptospirose em cães errantes encontrados em campus universitário: avaliação sorológica e exame direto da urina. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 31, n. 1, p. 19, 2010.
- BEURON, MARCOS P.; BRITO, DANIEL C. Principais afecções reprodutivas em fêmeas suínas. *Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc São Miguel do Oeste*, v. 1, p. 12677, 2016.
- BHARTI, A. R. J. E.; NALLY, J. N.; RICALDI, M. A.; MATTHIAS, M. M.; DIAZ, M. A.; LOVETT, P. N.; LEVETT, R. H.; GILMAN, M. R.; WILLIG, E. GOTUZZO; VINETZ, J. M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect. Dis.* 3:757-771, 2003.
- BIER, D., SHIMAKURA, S. E., MORIKAWA, V. M., ULLMANN, L. S., KIKUTI, M., LANGONI, H.; BIONDO A.; MOLENTO, M. B. Análise espacial do risco de leptospirose canina na Vila Pantanal, Curitiba, Paraná. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, p. 74-79, 2013.
- BLATT, N. Territórios de Identidade no Estado da Bahia: uma análise crítica da regionalização implantada pela estrutura governamental para definição de políticas públicas, a partir da perspectiva do desenvolvimento regional. *Universitat de Barcelona, Barcelona*, p. 1-34, 2010.
- BLENDEN, D.C. Aspectos epidemiológicos de Ia leptospirosis. In: *Reunion Interamericana sobre el control de la fiebre aftosa y otras zoonosis, 1975, Guatemala Resumos Guatemala. Organização Mundial da Saúde*, 172 p., p. 16-18, 1975.
- BORDIN, R. A. Papel da infecção por Parvovirus suíno e *Leptospira spp.* na ocorrência de mortalidade fetal e embrionária em suínos. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2010.
- BOURHY, P; BREMONT, S.; ZININI, F.; GIRY, C; PICARDEAU, M. Comparison of real-time PCR assays for detection of pathogenic *Leptospira spp.* in blood and identification of variations in target sequences. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 49, n. 6, p. 2154-2160, 2011.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Leptospirose: diagnóstico e manejo clínico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 44 p. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- _____. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. Manual de Leptospirose. 2. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1995. 98 p.
- _____. Ministério da Saúde. Vigilância Epidemiológica. Manual de Controle de Roedores. Brasília, 2002.

BRESSAN, CLARISSE DA SILVEIRA. Estudo das características das principais doenças febris agudas atendidas em serviço de referência do instituto de pesquisa clinica Evandro Chagas/Fiocruz. 2010. Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto de Pesquisa Clinica Evandro Chagas.

BURGDORFER, W., PIUCKENS, E.G Technic employing embryonated chicken eggs for infection of argasid ticks with *Coxiella burnetti*, bacterium tularensis, *Leptospira icterohaemorrhagiae* and western equine encephalitis virus. *J. Infec. Dis.*, v. 94, p. 84-89, 1956.

CAMPOS, A.P.; GONÇALVES, Ç.M.F.; FREIRE, S.M.; LEAL, L.M.; MINEIRO, A.L.B.B.; COSTA, F.A.L. Aglutininas antileptospiras em suínos abatidos para consumo e associação ao comprometimento hepático e pulmonar, *Revista de Patologia Tropical*, v. 40, n. 2, p. 137-148, 2011.

CARVALHO E, BARBOSA AS, GÓMEZ RM, OLIVEIRA ML, ROMERO EC, GONÇALES AP, MORAIS ZM, VASCONCELLOS SA, HO PL. Evaluation of the expression and protective potential of leptospiral sphingomyelinases. *Curr. Microbiol.*, v.60, p.134-142, 2010.

CARRIJO, K. D. F.; Nascimento, E. R.; Morés, N.; Morés, M. A. Z.; Almeida, L. P.; TORTELLY, R. *Leptospira* spp. em rins de suínos abatidos sob inspeção sanitária: potencial risco de transmissão a trabalhadores de matadouro frigorífico. *Embrapa Suínos e Aves-Artigo em periódico indexado (ALICE)*, 2012.

CARVALHO, Eneas. Evaluation of the expression and protective potential of leptospiral sphingomyelinases. *Current microbiology*, v. 60, n. 2, p. 134-142, 2010.

CERQUEIRA, G. M.; M. PICARDEAU. 2009. A century of *Leptospira* strain 23 typing. *Infect. Genet. Evol.* 9:760-768.

CLAZER, M., RODRIGUES, G. V., ARAÚJO, L., LOPES, K. F. C., ZANIOLO, M. M., GERBASI, A. R. V., GONÇALVES, D. D. Leptospirose e seu aspecto ocupacional- Revisão de literatura. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v. 18, n. 3, p. 191-198, 2015.

CORADASSI, CARLOS EDUARDO. O Médico Veterinário clínico de pequenos animais da região dos Campos Gerais - PR e sua percepção de risco frente às zoonoses [Dissertação]. Paraná: Universidade Estadual de Ponta Grossa; 2002.

DAHER E.F., DE ABREU K.L.S., SILVA JUNIOR G.B. 2010. Leptospirosis-associated acute kidney injury. *J. Bras. Nefrol.* 32:400-407.

DE FÁTIMA CARRIJO, K., DO NASCIMENTO, E. R., MORÉS, N., MORÉS, M. A. Z., DE ALMEIDA, L. P., TORTELLY, R. *Leptospira* spp. em rins de suínos abatidos sob inspeção sanitária: potencial risco de transmissão a trabalhadores de matadouro frigorífico. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 34(4):279-282, out/dez 2012.

DE LIMA, G. S. Padronização de um teste de soraglutinação macroscópica para diagnóstico da leptospirose em suínos; 2008.

EPSTEIN, P. R. Emerging diseases and ecosystem instability: new threats to public health. *Am J Public Health*, v 85(2), p.168-172.

EVANGELISTA, K. V.; COBURN, J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. *Future Microbiol.*, v. 5, n. 9, 1413-1425, 2010.

- FAINE, S. B., ADLER, B., BOLIN, C., PEROLAT, P. *Leptospira and Leptospirosis*. 2. ed., Melbourne: MediSci, 1999.
- FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA-NETO, J. S. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.
- FELIX, S. R. *Leptospirose animal: estudos para o desenvolvimento de vacinas recombinantes*. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Faculdade de Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.
- FIGUEIREDO, Í. L., ALVES, C. J., SILVA, L. C. A., OLIVEIRA, R. M., AZEVEDO, S. S. Leptospirose suína: uma importante causa de falhas e perdas reprodutivas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 37, n. 4, p. 344-353, 2013a.
- _____. Interrelação entre frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e exames histopatológicos (hematoxilina-eosina e Warthin-Starry) em suínos abatidos no Semiárido Paraibano. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 80, n. 1, p. 27-34, 2013b.
- FIGUEIREDO, I. L. *Leptospirose em suínos de abate: estudo sorológico e histopatológico*. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2011.
- FRAGA T.R., BARBOSA A.S., ISAAC L. *Leptospirosis: aspects of innate immunity, immunopathogenesis and immune evasion from the complement system*. *Scand. J. Immunol.* 73:408-419; 2011.
- FREITAS, J. C. et al. Isolation of *leptospira* spp from dogs, bovine and swine naturally infected. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 853-856, 2004.
- GARCIA, M.; MARTINS, L. S. Zoonoses: leptospiroses. Disponível em <http://www.mgar.com.br/zoonoses/aulas/aula_leptospirose.htm> Acessado em out. 2016.
- GOMES, M. J. P. *Gênero Leptospira spp*. FAVET-UFRGS, 2013.
- GONÇALVES L.M.F., MINEIRO A.L.B.B., CARVALHO S.M., CAMPOS Â.P., MELO EVAN-GELISTA L.S., PINHO F.A., MOREIRA É.C., COSTA F.A.L. Pesquisa de aglutininas, antígeno de leptospirosas e apoptose em rim de suínos naturalmente infectados por *Leptospira* sp. *Pesq. Vet. Bras.* v. 31, p. 561-568, 2011.
- GONÇALVES, D. D. et al. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 48, n. 3, p. 135-140, 2006.
- GONÇALVES, L. M. F; COSTA, F.A.L. Leptospiroses em suínos no Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, v. 40, n. 1, p. 1-14, 2011.
- GONÇALVES, LARISSA MARIA FEITOSA. *Imunopatogenia da lesão renal na infecção por leptospirosas em suínos infectados naturalmente*. 2016.
- GRAVEKAMP C., VAN DE KEMP H., FRANZEN M., CARRINGTON D., SCHOONE G.J., VAN EYS G.J., EVERARD C.O., HARTSKEERL R.A. & TERPSTRA W.J. Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. *Gen. Microbiol.*, v. 139, p. 1691-1700, 1993.

- GUERRA, MARTA A. Leptospirosis: Public Health Perspectives, *Biologicals*, v. 41, p. 295-297, 2013.
- HAAKE, D. A. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology*, 146 (Pt 7), 1491-1504; 2000.
- HAANWINCKEL, M. C. S.; MEGID, J.; SOUZA, L. C. Avaliação da prova de imunoperoxidase como recurso diagnóstico na leptospirose animal. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 71, n. 3, p. 293-301, 2004.
- HASCHIMOTO, W. Y. ANZAI, E.K.; LIMA, B.A.C.; SILVA, F.G.; ALVES, L.A.; FREIRE, R.L.; TELES, P.S.; GARCIA, J.L.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. Associação entre leões renais microscópicas e a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigoríficos da região norte do Estado do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 29, n. 4, p. 875-880, 2008.
- HASHIMOTO, V. Y. et al. Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 77, n. 3, p. 521-524, 2010.
- HOWELL, D.; COLE, D. Leptospirosis: A waterborne zoonotic disease of global importance. *Georgia Epidemiology Report*, v. 22, n. 8, p. 1-2, 2006.
- IDO, Y., R. HOKI, et al. The Rat as a Carrier of *Spirochaeta Icterohaemorrhagiae*, the Causative Agent of Weil's Disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). *J Exp Med*, v.26, n.3, Sep 1, p.341-53. 1917.
- INADA, R., Y. IDO, et al. The Etiology, Mode of Infection, and Specific Therapy of Weil's Disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). *J Exp Med*, v.23, n.3, Mar 1, p.377-402. 1916.
- JORGE, R. S., F. FERREIRA, et al. Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.106, n.4, Jun, p.441-4. 2011.
- JUNG, L. R. C Caracterização das propriedades funcionais e probióticas de bactérias lácticas isoladas de cães para uso em vacinas orais contra leptospirose como adjuvante imune ou carreador antigênico. 2013. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais.
- LABARTHE, N. V.; MEC P.; Maria Eveline, C. P. Biossegurança na experimentação e na prática clínica veterinária: pequenos animais. 2008. LEVETT, P. N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, n.2, p.296-326, 2001.
- LEVETT, P. N; HAAKE, D. A. *Leptospira* Species (*Leptospirosis*): Part III Infectious Diseases and Their Etiologic Agents, 2009.
- LIMA COSTA, Francisco et al. O PAPEL DE IMUNOGLOBULINAS NA NEFROPATIA DA LEPTOSPIROSE EM SUÍNOS. *Archives of Veterinary Science*, v. 18, n. 3, 2013.
- LOUREIRO, A.N; MARTINS, G.; THOMÉ, S.; LILENBAUM, W. Laboratorial diagnosis of animal leptospirosis. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, Rio de Janeiro, v. 20, n. 3, p.119-126, 2013.
- Manual de leptospirose. Fundação Nacional de Saúde (Brasil). Brasília; Ministério da Saúde; 2 ed; 98 p; 1995.

- MARINHO, M. Leptospirose: fatores epidemiológicos, fisiopatológicos e imunopatogênicos. *Vet. e Zootec.* v.15, n.3, dez., p.428-434, 2008.
- MARTINEZ-LOPEZ D.G., FAHEY M., COBURN J. Responses of human endothelial cells to pathogenic and non-pathogenic leptospira species. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 4:918; 2010.
- MASCOLLI, ROBERTA et al. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose e brucelose na população canina da Estância Turística de Ibiúna, São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 83, p. 01-07, 2016.
- MATOS, ÉVELLIN CAROLINE ARAÚJO. Investigação da leptospirose canina nos bairros sapucaia e tabela: perfil epidemiológico. Cruz das Almas, Bahia, 2015.
- MATSUNAGA, J., BAROCCHI, M. A., CRODA, J., YOUNG, T. A., SANCHEZ, Y., SIQUEIRA, I., et al. (2003). Pathogenic *Leptospira* species express surface-exposed proteins belonging to the bacterial immunoglobulin superfamily. *Molecular Microbiology*, 49(4), 929-945.
- MELZ, LAÉRCIO JUAREZ; GASTARDELO, TIANE ALVES ROCHA. A SUINOCULTURA INDUSTRIAL NO MUNDO E NO BRASIL. *Revista UNEMAT de Contabilidade*, v. 3, n. 6, 2014.
- MERIEN, F., TRUCCOLO, J., ROUGIER, Y., BARANTON, G., & PEROLAT, P. In vivo apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae. *FEMS microbiology letters*, 169(1), 95-102; 1998.
- MICHEL, JEAN-FRANÇOIS et al. Modelling bovine trypanosomosis spatial distribution by GIS in an agro-pastoral zone of Burkina Faso. *Preventive veterinary medicine*, v. 56, n. 1, p. 5-18, 2002.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância Epidemiológica, 7 ed. Série A. Normas e Manuais Técnicos: Brasília – DF, 2009.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças parasitárias: guia de bolso. 8. ed. rev. Brasília. 2010.
- MIRAGLIA, F.; MORAES, Z. M.; MELVILLE, P. A.; DIAS, R. A.; VASCONCELLOS, S. A. EMJH medium with 5-fluorouracil and nalidixic acid associated with serial dilution technique used to recover *Leptospira* spp from experimentally contaminated bovine semen. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 189-193, 2009.
- MIRAGLIA, F., MORENO, A. M., GOMES, C. R., PAIXÃO, R., LIUSON, E., MORAIS, Z. M., VASCONCELLOS, S. A.. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* from pigs slaughtered in São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 39, n. 3, p. 501-507, 2008.
- MIRAGLIA, F.; MORENO, A. M.; Gomes, C. R.; PAIXÃO, R.; LIUSON, E.; MORAIS, MORENO AM, SOBESTIANSKY J, LOPEZ AC, SOBESTIANSKY AAB. Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico. Concórdia: Embrapa-CNPSA;1997.
- MORIKAWA, VIVIEN MIDORI. Estudo sorológico da infecção por *Leptospira* spp. em uma área de ocupação irregular e de alto risco para a doença em cães em Curitiba, PR. 2012.

- NDEYANELAO, Elisa Graciana Estanislau. Leptospirose humana na Província da Huíla: rastreio serológico e molecular de doentes assistidos no Hospital Central Dr. António Agostinho Neto, Lubango (Angola). 2014. Tese de Doutorado.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais. 3 ed., Guanabara Koogan, 2006.
- NOGUCHI, M.D., R.H. MULLER, et al. Experimental studies of yellow fever in northern Brazil, Monograph of the Rockefeller Institute for Medical Research, No.20.1924.
- OCHOA, JESÚS E.; SÁNCHEZ, ANTONIO; RUIZ, IVÁN. Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. 2000.
- OLIVEIRA FILHO, J.X.; DE PAULA, D.A.J.; MORÉS, N.; PESCADOR, C.A.; CIACCI-ZANELLA, J.R.; COLDEBELLA, A.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L. Interstitial nephritis of slaughtered pigs in the State of Mato Grosso, Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 32, n. 4, p. 303-318, 2012.
- OLIVEIRA, S.J. Leptospira. In: GUERREIRO, M.G. et.al. Bacteriologia Especial. Porto Alegre. RS: Sulina Cap. 39, p. 463-483, 1984.
- OLIVEIRA, S.J. Leptospirose. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. Doenças dos Suínos. 2 Ed. Goiânia: Cãnone Editorial, p. 194-200, 2007.
- OLIVEIRA, S.V; ARSKY, M.L.N.S.; CALDAS, E.P. Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica, Saúde, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 9-20, 2013.
- OLIVEIRA, SERGIO J. DE, Guia Bacteriológico Prático - Microbiologia Veterinaria, editora ULBRA, 3ed.; 2012.
- OLIVEIRA, SÉRGIO JOSÉ DE; LIMA, PAULO CÉZAR ROMERO DE LIMA. Leptospirose em suínos: etiologia, diagnóstico e controle (revisão). Pesquisa Agropecuária Gaúcha, v.2, n.1, p.119-128, 1996.
- OSAVA, Carolina Fonseca et al. Ocorrência de anticorpos anti-leptospira spp. em diferentes sistemas de criação de suínos. Bioscience Journal, v. 26, n. 2, 2010.
- PASQUALI, ALINE KUHN SBRUZZI et al. Cross-sectional study of Leptospira spp. and Brucella abortus in goat herds from Paraná state, Brazil. Acta Scientiae Veterinariae, v. 45, p. 01-09, 2017.
- PAULA, LUIZA GABRIELLA FERREIRA DE et al. Soroprevalência de anticorpos contra patógenos zoonóticos e percepção sobre biossegurança na comunidade interna do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. 2017.
- PELLISSARI, DANIELE MARIA et al. Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000-2009. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 20, n. 4, p. 565-574, 2011.
- PEROLAT, P., R. J. CHAPPEL, et al. Leptospira fainei sp. nov., isolated from pigs in Australia. Int J Syst Bacteriol, v.48 Pt 3, Jul, p.851-8. 1998.
- PEZERICO GB, PEZERICO SB, SILVA RC, et al. Ocorrência de 61. Anticorpos anti-Toxoplasma gondii e anti-Leptospira spp. Em suínos abatidos em três abatedouros dos Estados de Minas Gerais e São Paulo. Arq Inst Biol São Paulo. 2007; 74: 267-70.

PORTAL DA SAÚDE. Leptospirose: situação epidemiológica. Disponível em <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados> Acessado em jul. 2017.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas, Porto Alegre: Artmed, 2005. 512 p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P. Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pig and goats. 10 ed. Saunders Elsevier: St Louis, Cap. 20, p.1094 – 1109, 2006.

REICHMANN. M.L.A.B.; PINTO, H.B.F.; NUNES, V.F.P. Vacinação contra a raiva de cães e gatos. São Paulo: Instituto Pasteur, 1999. 32p. p. 11-12. Manuais, 3.

REITER, H. Beitrage zur actiologie der Weischen krankheit deuts. Med wchusche, v. 42, p. 1282-1284, 1916.

RICARDI, LIGIA MARIA PIASSI. Identificação de proteínas secretadas por duas espécies de *Leptospira*, uma patogênica e uma saprófita. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2013.

RIGO, VICTOR HENRIQUE BITTAR et al. OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA SPP. EM SUÍNOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICOS DE UBERLÂNDIA (MG) Occurrence of anti-*Leptospira* spp. antibodies in swine slaughtered in Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil. Revista Acadêmica: Ciência Animal, v. 11, n. 2, p. 185-190, 2017.

RODRIGUES, CLAUDIO MANUEL. ONE HEALTH: SUBSÍDIOS PARA UMA ANÁLISE AMPLIADA DA LEPTOSPIROSE COMO UMA ZOONOSE NEGLIGENCIADA. Revista Eletrônica Estácio Saúde, v. 4, n. 2, p. 103-116, 2015.

SANTOS, A. D. S. Infecção experimental em suínos por *Leptospira interrogans* sorogrupo icterohaemorrhagiae e pomona. 2014. Universidade Federal de Goiás Escola de Veterinária e Zootecnia. Tese, 2014.

SANTOS, ANDRÉIA CARVALHO DOS. Diagnóstico sorológico da leptospirose: benefício de amostra aguda tardia na confirmação de casos. Tese de Doutorado. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz; 2011.

SANTOS, T. N.; CARVALHO, F. S.; BEZERRA, R. A.; WENCESLAU. A. A.; ALBUQUERQUE, G. R.; COSTA-DIAS, R. Diagnóstico molecular de leptospirose em suínos abatidos clandestinamente no município de Itabuna-BA. Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 33, n. 4, p. 95-199, 2011.

SARMENTO AMC, AZEVEDO SS, MORAIS ZM, SOUZA GO, OLIVEIRA FCS, GONÇALVES AP, MIRAGLIA F. Emprego de estirpes *Leptospira* spp. isoladas no Brasil na microtécnica de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros. Pesq Vet Bras. 2012; 32:601-6.

SHIMABUKURO FH, DOMINGUES PF, LANGONI H, SILVA AV, PINHEIRO JP, PADOVANI CR. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospirose pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. Braz J Vet Res Anim Sci, v.40, p.243253, 2003.

- SILVA, F. J.; MATHIAS, L. A.; MAGAJEVSKI, F. S.; WERTHER, K.; ASSIS, N. A.; GIRIO, R. J. S. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, Unesp, Jaboticabal/SP. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 17-25, 2010.
- SILVA, FELIPE JORGE. Epidemiologia da Infecção por *Leptospira* spp. em áreas rurais nos biomas brasileiros. Jaboticabal, 2014. XV. 154 F. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, 2014.
- SILVA, HAGAMENON R. et al. Leptospirose-infecção e forma subclínica em crianças de Salvador, Bahia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Uberaba, v. 36, n. 2, abr. 2003.
- SILVA, PATRICIA LIZANDRA. Leptospirose: Fatores Ambientais Que Favorecem a Sua Ocorrência Em Humanos. *Acervo da Iniciação Científica*, n. 1, 2013.
- SIMON MC, ORTEGA C, ALONSO JL, MUZQUIZ JL, GIRONES O, GARCIA J. Risk factors associated with the seroprevalence of leptospirosis among students at the veterinary school of zaragoza University. *Vet Rec.* 144:287-91; 1999.
- Sistema de Informações Territoriais (<http://sit.mda.gov.br>). Acesso em 27 de julho de 2017.
- SOARES, T. S. M.; LATORRE, M. R. D. O.; LAPORTA, G. Z.; BUZZAR, M. R. Análise espacial e sazonal da leptospirose no município de São Paulo, SP, 1998 a 2006. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 283-291, 2010.
- SOTO FRM, VASCONCELLOS SA, PINHEIRO SR, BERNARSI F, CAMARGO SR. Leptospirose suína. *Arq Inst Biol São Paulo*, v.74, p.379-395, 2007.
- SOTO, F.R.M.; AZEVEDO, S.S.; MORAIS, Z.M.; PINHEIRO, S.R.; DELBEM A.C.B.; MORENO, A.M.; PAIXÃO, R.; VUADEN, E.R.; VASCONCELLOS, S.A. Detection of leptospires in clinically healthy piglets born from sows experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar Canicola. *Brazilian Journal Microbiology*, v.37, p.582-586, 2006.
- TIZARD, I.R. *Imunologia Veterinária: uma introdução*. 5. ed. São Paulo: Roca, 1998.
- TRIOLA, MÁRIO F. *Introdução à Estatística*. 7a. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999.
- VALENÇA, R. M. B., MOTA, R. A., CASTRO, V., ANDERLINI, G. A., PINHEIRO JUNIOR, J. W., BRANDESPIM, D. F., GUERRA, M. M. P. Prevalence and risk factors associated with leptospira spp. infection in technified swine farms in the state of Alagoas, Brazil risk factors associated with leptospira spp. in swine farms. *Transboundary and emerging diseases*, v. 60, n. 1, p. 79-86, 2013.
- VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose em animais domésticos e silvestres: prevenção e controle. *Oficina Estado da Arte e Prioridades para P&D em Leptospirose/FIOCRUZ*, p.12. Salvador, 2000.
- VASCONCELOS, CARLA GASPAROTTO CHANDE. Zoonoses ocupacionais: Inquérito soroepidemiológico em estudantes de Medicina Veterinária e Análise de Risco para Leptospirose, Brucelose e Toxoplasmose. 2003, 105f. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.
- VASCONCELOS, Cíntia Honório et al. Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001-2009. *Cad Saude Colet*, v. 20, n. 1, p. 49-56, 2012.

VIANA, Felipe José Costa et al. Abate clandestino de suínos e pequenos ruminantes na cidade de Teresina, Piauí: implicações na saúde ocupacional. *Revista Interdisciplinar Ciências e saúde - RICS*, v. 1, n. 1, 2014.

VIEGAS, S.S.; Tavares, C.H.T.; Oliveira, E.M.; Dias, A.R.; Mendonça, F.F.; Santos, M.F.O. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de Salvador – Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 2001.

VIEIRA, Mônica Larucci. Interação de *Leptospira interrogans* com o sistema proteolítico plasminogênio/plasmina: análise, caracterização e possíveis implicações na infecção. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

VIJAYACHARI, P., SUGUNAN, A. P., & SHRIRAM, A. N. (2008). Leptospirosis: an emerging global public health problem. *J Biosci*, 33(4), 557-569.

VILGES DE OLIVEIRA, Stefan; ARSKY, Maria de Lourdes Nobre Simões; DE CALDAS, Eduardo Pacheco. Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica. *Saúde (Santa Maria)*, v. 39, n. 1, p. 9-20, 2013.

WANG, ZHIJUN; JIN, LI; WĘGRZYN, ALICJA. Leptospirosis vaccines. *Microbial Cell Factories*, v. 6, n. 1, p. 39, 2007.

WASIŃSKI, B., Z. PEJSK, et al. Occurrence of leptospiral infections in swine population in Poland evaluated by ELISA and microscopic agglutination test. *Pol J Vet Sci*, v.13, n.4, p.695-9. 2011.

WHO, JOINT et al. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WH. 2003.

WILSON, R. T.; SWAI, E. S. Pig Production in Tanzania: a Critical Review. *Tropicultura*, v. 32, n. 1, 2014.

WILSON, R.T.; SWAI, E. A review of pig pathology in Tanzania *Tropical Animal Health and Production*, Livingstone, v. 45, n. 6, p. 1269–1275, 2013.