



unopar

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM SAÚDE E PRODUÇÃO DE RUMINANTES**

ALIEKSANDR KARNAUCHOVAS FRANCO

**MONITORAMENTO SOROLÓGICO EM OVINOS COM
LEPTOSPIROSE AGUDA**

ARAPONGAS
2017

ALIEKSANDR KARNAUCHOVAS FRANCO

**MONITORAMENTO SOROLÓGICO EM OVINOS COM
LEPTOSPIROSE AGUDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção de Ruminantes, Universidade Norte do Paraná - UNOPAR, como requisito final à obtenção do título de Mestre em Saúde e Produção de Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho

ARAPONGAS
2017

ALIEKSANDR KARNAUCHOVAS FRANCO

MONITORAMENTO SOROLÓGICO EM OVINOS COM LEPTOSPIROSE AGUDA

Dissertação apresentada à UNOPAR, no Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, área e concentração em Saúde e Produção de Ruminantes como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho
UNOPAR

Prof^a. Dra. Fabíola Cristine de Almeida Rêgo Grecco
UNOPAR

Prof^a. Dra. Lucienne Garcia Pretto Giordano
UEL

Arapongas, 23 de agosto de 2017.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus avós,
Edwiga e Nikalojus, pela perseverança,
exemplo de força e fé na vida.

À minha esposa, Maria Veronica e
minha filha Marina.

GRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, sempre presente em minha vida.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho, amigo de todas as etapas deste trabalho, que acreditou e confiou que seria possível, com palavras de incentivo e otimismo em momentos difíceis do Mestrado. Muito Obrigado!

Agradeço aos membros da banca de qualificação e de defesa (Prof^a Dr^a Fabíola Cristiane de Almeida Rêgo Grecco e Prof^a Dr^a Lucienne Garcia Pretto Giordano) por participarem deste momento importante da minha vida.

A Maria Carolina Ricciardi Sbizera, que dedicou seu tempo para auxiliar na confecção deste, com presteza e boa vontade, muito obrigado!

Ao Prof. Dr. Werner Okano, coordenador do Programa de Pós-graduação em Saúde e Produção de Ruminantes, pela amizade e organização do programa.

A Cristiane, técnica do Laboratório da UEL, por boa vontade e dedicação nas análises das amostras.

Não poderia deixar de agradecer a todos os funcionários e proprietários da cabanha, que confiaram em nosso trabalho e contribuíram para a obtenção dos resultados.

E a minha filha Marina e minha esposa Maria Veronica, por contribuírem nas coletas de dados e por fazerem parte deste momento.

“Não fales ao ouvido do tolo, porque desprezará a sabedoria das tuas palavras.
Provérbios 23:9

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado de titulação e sorovar predominante no primeiro teste (C0) de soroaglutinação microscópica (SAM) para *Leptospira* sp em rebanho ovino

Tabela 2. Monitoramento sorológico de cinco ovinos, com titulação e sorovar correspondente.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

SAM: Soroaglutinação Microscópica

DNA: Ácido Desóxiribonucleico

µm: Micrômetro

pH: potencia de hidrogênio

°C: Graus Celsius

OIE: Organização Internacional de Epizootia

LCR: Líquido céfalo raquidiano

ELISA: Ensaio imunoenzimático

PCR: Reação de cadeia da polimerase

IgM: Imunoglobulina M

IgG: Imunoglobulina G

mg: Miligrama

Kg: Quilograma

ml: Mililitro

MAT: Teste de aglutinação microscópica

INMET: Instituto nacional de meteorologia

PO: Puro de origem

DMVP: Departamento de Medicina Veterinária preventiva

UEL: Universidade Estadual de Londrina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO -----	10
2. REVISÃO DE LITERATURA-----	11
3. OBJETIVOS -----	20
3.1 Objetivo Geral -----	20
3.2 Objetivos Específicos -----	20
4. REFERÊNCIAS-----	21
5. ARTIGO: Monitoramento Sorológico em Ovinos com Leptospirose Aguda-----	26
Introdução-----	28
Material e Métodos-----	29
Resultados e Discussão-----	31
Conclusão-----	32
6. ANEXO-----	41

1 INTRODUÇÃO

Os pequenos ruminantes ovinos e caprinos representam uma criação importante para a economia (KOSGEY; OKEYO 2007).

No Brasil, o rebanho de ovinos foi de 18,41 milhões em 2015, com um crescimento de 4,5% em relação a 2014, 60,6% do rebanho nacional esta na Região Nordeste, 26,5% na Região Sul, acompanhada pelas Regiões Centro-Oeste (5,6%), Sudeste (3,8%) e Norte (3,6%) (IBGE, 2015).

Apesar do aumento da criação de ovinos, fatores associados à sanidade podem diminuir a produtividade dos rebanhos, principalmente as doenças infecciosas e parasitárias (RISSI et al., 2010).

A leptospirose é uma zoonose infecciosa, emergente e re-emergente mundial, causada por uma espiroqueta do gênero *Leptospira*, da família *Leptospiraceae* da ordem *Spirochaetales* (BHARADWAJ, 2004), levando a surtos epidemiológicos (BENSCHOP et al., 2009; TRUBO, 2001).

Seus reservatórios são animais domésticos, e os bovinos um dos principais hospedeiros para a persistência do foco da infecção, com a transmissão ocorrendo através da exposição direta ou indireta à urina infectada, associada a uma estação do ano específica ou a fatores ambientais que facilitam essa exposição (LILENBAUM et al., 2008).

Ovinos são menos suscetíveis à leptospirose que outras espécies domésticas, no entanto, a infecção em ovinos é comum, podendo servir como hospedeiro de manutenção (MELO et al., 2010) e ter a produtividade afetada (MARTINS et al., 2012) por falhas reprodutivas e abortamentos geralmente no terço final da gestação (NASCIMENTO; SANTOS, 2008) acarretando prejuízos econômicos.

A Soroaglutinação Microscópica (SAM) é a técnica mais utilizada para o diagnóstico da leptospirose, por apresentar sensibilidade e especificidade altas e permite a identificação dos sorovares presentes na propriedade (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

No Brasil, já foram descritos como responsáveis por reações sorológicas, os sorovares *Australis*, *Autumnalis*, *Bratislava*, *Butembo*, *Canicola*, *Castellonis*, *Grippotyphosa*, *Hebdomadis*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pyrogenes*, *Pomona* e *Tarassovi* (HERRMANN et al., 2004; FAVERO et al., 2002), porém, o sorovar *Hardjo* é o mais comum, em ovinos do mundo, sendo o principal responsável por problemas reprodutivos, em ovelhas, e de morte em cordeiros (HERRMANN et al., 2004).

2 REVISÃO DE LITERATURA

Histórico

A leptospirose foi descrita pela primeira vez por Hipócrates como “icterícia infecciosa”, provavelmente entre 400 e 300 anos antes de Cristo e no ano de 1800, Larry, um médico francês, observou a ocorrência da icterícia infecciosa em soldados da tropa de Napoleão durante uma batalha na cidade do Cairo, no Egito e, em 1803 William Whitman caracterizou a enfermidade como de início súbito com dores de cabeça, prostração, icterícia, derrame conjuntival, hemorragias petequiais, relacionou-a com a presença de ratos e, a diferenciou de doenças como, malária, sífilis e disenteria. Adolf Weil, em 1886, publicou o trabalho onde observou a doença como causadora de icterícia, nefrite e esplenomegalia e, a partir de então, a enfermidade ficou conhecida como “Doença de Weil”. No Japão, em 1915, Inada et al. (1916) isolaram o possível microrganismo causador da doença após inocular sangue de mineradores infectados em um porquinho da Índia, esse microrganismo foi chamado de *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* e, em 1917 propôs-se a criação do gênero *Leptospira*, pelo fato da bactéria possuir forma espiralada (FAINE et al., 1999).

Por muito tempo, o gênero *Leptospira* foi dividido em duas espécies: *L. biflexa*, que são consideradas saprófitas não patogênicas e *L. interrogans*, patogênicas (ADLER & DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

Essa divisão baseava-se em critérios relacionados ao crescimento das bactérias em diferentes condições de cultivo (QUINN et al., 2013). Com base na variabilidade de antígenos presentes no envelope externo das *Leptospira* constituídos por lipopolissacarídeos, sua identificação foi possível pelas características fenotípicas (sorológicas) e de virulência, o que possibilitou a classificação em sorogrupos e sorovares, com aproximadamente 300 sorovares de *Leptospira* distribuídos em 25 sorogrupos (AHMED et al., 2006).

Com o advento das técnicas de PCR (reação da cadeia de polimerase), as *Leptospira* foram reclassificadas em 19 genótipos, não correspondendo mais às duas espécies anteriores, já que os sorovares patogênicos e não patogênicos podem ocorrer dentro de uma mesma espécie (SOTO et al., 2007). Dessa forma, atualmente, existem 13 espécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffi*, com mais de 260 sorovares, e seis espécies não patogênicas saprófitas:

L. biflexa, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, com mais de 60 sorovares (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

O sorovar *Hardjo*, no mundo, tem sido responsabilizado como o mais frequente causador de problemas reprodutivos (abortamentos) em ovelhas e também pela morte de cordeiros (MELO et al. 2010; LILENBAUM et al. 2009).

Com relação à leptospirose em ovinos no Brasil, o primeiro relato ocorreu em 1963, no estado de São Paulo, quando Santa Rosa e Pestana de Castro (1963), ao estudarem 400 animais, obtiveram uma frequência de 43% de soropositividade para a bactéria e observaram-se os sorovares mais comuns, *Canicola*, *Pomona*, *Icterohaemorrhagiae* e *Sejroe* (SOUSA et al. 2014).

Nos ovinos, a enfermidade pode provocar a morte de cordeiros, inanição, infecção grave (RADOSTITS et al., 2002), febre, insuficiência hepática e/ou renal (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010), falhas reprodutivas e abortamentos geralmente no terço final da gestação (NASCIMENTO; SANTOS, 2008). Assim, perdas econômicas com a doença é uma realidade, uma vez que estão relacionadas não só a morte e reposição de animais, mas também a gastos com assistência veterinária, medicamentos, vacinas e testes laboratoriais (ANGELO; CICOTI; BELTRAN, 2009).

Etiologia

Leptospira sp. são bactérias espiraladas, muito delgadas (0,1 µm de diâmetro) e comprimento variando de 6 a 20 µm, tendo uma ou as duas extremidades em forma de gancho, são aeróbicas estritas, de multiplicação e crescimento lentos, com divisão celular em torno de 7 a 12 horas, a cultura em meio líquido leva de cinco a sete dias para atingir o nível de crescimento necessário para ser utilizada como antígeno (HAAKE, 2000).

É bactéria aeróbia obrigatória, sensível a dessecação, ao frio, água salgada e a variações de pH, inativada em pH abaixo de seis ou maior que oito, temperaturas menores que 7°C ou maiores que 36°C, calor úmido (121°C) por 15 minutos, pasteurização, por agentes químicos, solução de hipoclorito de sódio 1%, álcool etílico 70%, glutaraldeído, formaldeído, detergentes e ácidos (OIE, 2006).

Epidemiologia

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial, porém, sua ocorrência é maior em países de clima tropical e subtropical, principalmente nos períodos chuvosos, quando essas condições ambientais aumentam a sobrevivência da bactéria e conseqüentemente, o risco de exposição e infecção de animais susceptíveis e seres humanos se tornam maior. (OLIVEIRA et al., 2010).

Animais silvestres, sinantrópicos e domésticos podem ser considerados hospedeiros primários da *Leptospira* spp. (OLIVEIRA et al. 2009).

Entre os roedores domésticos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*) que abrigam a bactéria, o *Rattus norvegicus* é um clássico carreador, principalmente do sorovar mais patogênico para humanos, o sorovar *Icterohaemorrhagiae* (SHIMABUKURO et al., 2003) e o rato d'água (*Nectomys squamipes*) tem sido demonstrado o sorovar *Australis* (CORDEIRO et al. 1981).

Os animais domésticos menos suscetíveis são os ovinos, no entanto, estes animais sofrem com a infecção da *Leptospira*, com evolução assintomática (SOUSA et al. 2014).

Os ovinos atuam como hospedeiros acidentais, infectando-se por sorovariedade comumente encontradas em outros animais domésticos e silvestres encontrados na região (FAINE et al., 1999; ELLIS, 1994), por outro lado, as infecções nessa espécie são comuns, podendo servir como hospedeiro de manutenção, principalmente do sorovar *Hardjo* (COUSINS et al., 1989; COUSINS; ROBERTSON, 1986).

Animais que se recuperam da forma aguda podem adquirir a condição de portadores, nos quais *Leptospira* crescem e podem permanecer nos túbulos renais por dias ou anos, nesses casos, a doença não apresenta manifestações típicas e, geralmente, é inaparente (FAINE et al. 1999). No entanto, as formas inaparentes são muito mais frequentes do que as outras e desperta pouca atenção dos pesquisadores, devido à dificuldade de diagnóstico e é quando, a introdução de animais assintomáticos favorece a manutenção da infecção no rebanho acometido (CICERONI, et al. 2000).

A soropositividade para leptospirose em ovinos foi constatada em várias regiões do Brasil, sendo observada em estados como Rondônia, Piauí, São Paulo, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro (MARTINS et al., 2012; CARVALHO et al., 2011; AGUIAR et al., 2010; HERRMANN et al., 2004; FAVERO et al., 2002).

A prevalência da leptospirose no Brasil tem variado nos ovinos entre 13,7% e 47,4% (MARTINS et al., 2012; LILENBAUM et al., 2008), sendo que os principais sorovares envolvidos são *Hardjo*, *Patoc*, *Autumnalis*, *Pyrogenes*, *Icterohaemorrhagiae* e

Senot (MARTINS et al., 2012; AGUIAR et al., 2010; HASHIMOTO et al., 2010; HERRMANN et al., 2004).

A disseminação da leptospirose para o meio ocorre pela presença de animais doentes ou portadores, que eliminam a bactéria pela urina, descargas cérvico-vaginais, fetos abortados, placenta (FAINE et al., 1999), e sêmen (HAMOND et al., 2013; LILENBAUM et al., 2008).

Leptospira spp. pode permanecer no ambiente por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e sombreamento (HASHIMOTO et al., 2012), e pode ser transmitida por meio de água ou solo contaminado com material biológico de animais infectados (DOMINGUES; LANGONI, 2001; MUSSO; LA SCOLA, 2013), por meio do contato sexual ou pela inseminação artificial (LEVETT, 2001).

A bactéria penetra ativamente através da pele, mucosas, escoriações ou cortes, quando há o contato com urina e tecidos de animais infectados, água e aerossóis contaminados (MUSSO; LA SCOLA, 2013).

Patogenia

Após a penetração da *Leptospira* sp. nos tecidos, a bactéria espalha-se rapidamente para a corrente sanguínea, multiplicam-se ativamente no interstício e nos líquidos orgânicos, como sangue, linfa e líquido cefalorraquidiano (LCR), e então se encaminham para os diversos órgãos ou sistemas para produzir diferentes manifestações clínicas (ZUNINO; ROLANDO, 2007).

Na fase leptospirêmica, quando a bactéria circula na corrente sanguínea por até sete dias e, quando o número de *Leptospira* no sangue e nos tecidos alcança uma alta concentração, as lesões e os sinais clínicos começam a se manifestar, constituindo danos ao endotélio dos capilares sanguíneos, o que conduz a uma isquemia localizada em órgãos, podendo resultar em necrose tubular renal e hepatocelular, danos pulmonares, meningite, miosite e placentite (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

Leptospira spp. se caracteriza pela persistência nos rins sendo eliminada pela urina por vários meses após a infecção (FAINE, 1982).

As alterações histológicas em rins mostram um quadro variado de lesões, predominando as nefrites intersticiais conhecidas como "White spots", que se apresentam como focos branco-acinzentados de um a três milímetros de diâmetro, predominantemente corticais (OLIVEIRA, 1988). Provavelmente associada à presença de *Leptospira* no lume de túbulos renais e na forma de agregados aderidos às células

epiteliais tubulares, contribuindo para a manutenção da infecção por meio da eliminação pela urina, denominada fase de leptospirúria, que ocorre cerca de 10 dias após o aparecimento dos sinais clínicos (GROOMS; BOLIN, 2005).

Nas ovelhas, ocorrer vacuolização das superfícies das células endometriais no útero e geralmente os fetos abortados apresentam sangramento, icterícia, ou ambos, e podem estar altamente infectados (FAINE et al., 1999).

Vários sorovares de *Leptospira* spp. podem causar abortamentos, geralmente no terço final da gestação, com morte do feto de 24 a 48 horas antes de ser expelido, com o agente encontrado na placenta ou em cortes histológicos do fígado e dos rins do feto (NASCIMENTO; SANTOS, 2008).

Sinais clínicos

Em muitos casos a evolução da doença é assintomática, podendo ocorrer surtos com abortamento e morte de cordeiros (CARVALHO et al. 2011; CICERONI et al. 2000). Nesses animais, a leptospirose pode se manifestar de forma aguda, subaguda e crônica, com quadros clínicos de septicemia, hemorragia, nefrite, icterícia, hemoglobinúria, mastite sanguinolenta, retorno ao cio, abortamento nas ovelhas e anemia hemolítica nos cordeiros, com morte na primeira semana de vida (AZEVEDO, et al. 2004; CICERONI et al. 2000; BARBUDO FILHO et al. 1999).

As infecções clínicas que mostram sinais evidentes são muitas vezes causadas por sorovares não adaptados aos hospedeiros, mas todos os sorovares levam a mudanças em diferentes níveis (LEFEBVRE, 2003).

Nas ovelhas em confinamento para engorda, acometidas de infecção aguda, o sorovar *Grippotyphosa* é letal, e na forma crônica, pode ocorrer perda de peso corporal, porém, em ovelhas reprodutoras, abortos espontâneos é o único sinal clínico nas infecções pelo sorovar *Hardjo* e pelo sorovar *Pomona*, um dos mais frequentes e causador da leptospirose em ovinos, de forma aguda, manifesta-se por agalactia, oligolactia e manifestações clínicas de encefalite devido à presença de *Leptospira* sp.no tecido nervoso das ovelhas (RADOSTITS et al. 2007).

Diagnóstico

Devido à falta de sinais clínicos aparentes e lesões características na leptospirose em pequenos ruminantes, os testes laboratoriais são essenciais para obter um diagnóstico preciso da infecção (LIMMATHUROTSAKUL et al., 2012).

Os exames laboratoriais de leptospirose podem ser: indireto, como a soroaglutinação microscópica (SAM) e o ensaio imunoenzimático (ELISA), ou direto, como o exame de microscopia de campo escuro, imunofluorescência, cultivo bacteriano, histopatológico ou reação em cadeia da polimerase (PCR) em tecidos ou fluidos (GROOMS; BOLIN, 2005).

A soroaglutinação microscópica é o exame indicado e utilizado por pesquisadores para diagnóstico da leptospirose, sendo recomendado como melhor alternativa de diagnóstico (OIE, 2008; ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

Este teste utiliza culturas de bactérias vivas como antígenos, com sorovares de acordo com os exames epidemiológicos regionais, porém, a interpretação dos resultados se torna difícil, uma vez que a determinação dos sorovares infecciosos é limitada devido a reações cruzadas (COLE, et al. 1973; GALTON, et al. 1965).

Um animal infectado com um sorovar pode ter anticorpos contra outros sorovares durante o teste de aglutinação, sendo considerado, como causador da infecção, o sorovar que apresenta a maior titulação, onde é importante considerar que no início do curso de uma infecção aguda, pode ocorrer uma resposta acentuada de aglutinação para um sorovar diferente do sorovar infectante, demonstrado na investigação de abortamentos causados pelos sorovares *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Canicola*, e *Icterohaemorrhagiae*, em que o título de anticorpos é frequentemente 1:600 e os títulos de anticorpos para o sorovar *Hardjo* podem ser muito baixos ou negativos no momento do aborto e diante da ocorrência de natimortos, pode ser útil fazer o teste sorológico em soro fetal a partir de diluições 1:10, em contraste com os estudos em adultos, onde a diluição inicial habitual é de 1:100 (GROOMS; BOLIN, 2005).

Embora a sensibilidade e especificidade sejam altas, a SAM não diferencia os anticorpos da infecção, dos anticorpos provenientes da vacinação (titulação alta pode persistir por seis meses ou mais), causando problemas com relação à triagem da doença (FAINE et al., 1999).

O exame ELISA tem como vantagens a existência de *kits* comerciais, sendo de fácil execução em comparação com o SAM, pois não necessita de habilidades especiais, os reagentes podem ser estocados por longos períodos sem perderem a reatividade e a

capacidade de distinção entre uma infecção ocorrida no passado e uma recente por meio da detecção de imunoglobulinas específicas da classe IgM, e IgG. Porém, o teste, por ser gêneroespecífico, detecta somente a presença da bactéria, não sendo apropriado para a identificação do sorogrupo e da sorovariedade (WHO, 2003). A utilização do ELISA como método exclusivo de diagnóstico, substituindo o SAM, não é recomendado (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUM, 2010).

Com relação à microscopia de campo escuro, de três a sete dias da infecção, a *Leptospira* sp. pode ser encontrada em exame direto de urina, sangue, exudato peritoneal e pleural, com vantagens da rapidez na obtenção de bactérias viáveis e o curto período em obter um resultado; por outro lado, a interpretação subjetiva é uma desvantagem, visto que, coleções de fibrinas e proteínas podem ser confundidas com leptospira em preparações a fresco (FAINE et al., 1999).

A imunofluorescência identifica *Leptospira* sp. em tecidos (rins, fígado ou placenta) e no sedimento urinário, é um teste rápido, tem razoável sensibilidade e poder ser realizado em amostras congeladas, porém, o conjugado de anticorpo fluorescente não é sorotipo-específico, desta forma, o exame sorológico ainda é necessário para ajudar a indicar o sorovar infectante (GROOMS; BOLIN, 2005).

O cultivo bacteriano é o exame definitivo para a identificação da *Leptospira* sp., porém, apresenta baixa sensibilidade, necessitando de amostras recém-colhidas que devem ser observadas por um período mínimo de 42 dias (SCARCELLI et al., 2004). Faine et al. (1999) relataram as dificuldades de isolar *Leptospira* de animais assintomáticos, tanto por condições ao crescimento da bactéria, quanto pela da contaminação das amostras de urina, além disso, a excreção de bactérias pela urina ocorre somente durante um reduzido e incerto período após a contaminação. Estas são razões pelas quais a maioria dos estudos de leptospirose animal tem se apoiado apenas nos métodos sorológicos.

A utilização de corantes, no exame histopatológico, é eficaz para identificação de *Leptospira* sp., sendo a única técnica que utiliza tecidos fixados em formalina (rim de adultos e placenta, pulmão, fígado e rim no caso de abortos), mas a baixa sensibilidade com pequeno número de *Leptospira* nos tecidos afetados durante a fase crônica, com sorovar infectante não sendo determinado, é uma desvantagem desta técnica e estudos sorológicos também devem ser conduzidos (GROOMS; BOLIN, 2005).

O PCR de urina é mais confiável do que a análise de tecidos, mas não é capaz de determinar o sorovar infectante, tem uma técnica sensível e específica com um processo complexo e propenso à contaminação com DNA leptospiral exógeno, favorável a reações

falso-positivas (GROOMS; BOLIN, 2005).

Deste modo, diferentes técnicas de diagnóstico podem atuar conjuntamente em estudos epidemiológicos e contribuir significativamente para investigar esse microorganismo.

Tratamento

O primeiro antibiótico a ser utilizado para a terapia da leptospirose foi o sulfato de estreptomicina, e é considerada até hoje, uma das melhores opções de tratamento (GIRIO et al., 2005), por apresenta fácil penetração renal, destruindo a *Leptospira* presentes nos túbulos renais (GERRITSEN et al., 1994).

A administração intramuscular de 25 mg/kg/dia, durante 1 a 5 dias, de Dihidroestreptomicina, Oxitetraciclina 40 mg/kg/dia, Tilosina 44 mg/kg/dia, durante 3 a 5 dias, ou Tetraciclina 3 mg/kg/dia, durante sete dias, é uma terapia indicada junto com uma dieta adequada (RADOSTITS, et al. 2007).

A associação Dihidroestreptomicina e Penicilina G constitui o melhor tratamento, embora antibióticos como a Oxitetraciclina, o Tilmicosin e o Ceftiofur também apresentem bons resultados (ALT et al. 2001).

Saldanha et al. (2007), observou 92% dos bovinos acometidos por leptospirose, tratados com sulfato de estreptomicina, retornarem à vida reprodutiva normal.

Controle e prevenção

As medidas de controle destinadas a limitar a leptospirose são ações integradas aplicadas a cadeia de transmissão da zoonose, que incluem: diagnóstico e tratamento das fontes de infecção (animais de produção e companhia); combate aos reservatórios sinantrópicos; drenagem das áreas alagadiças; higiene das instalações e equipamentos; controle da inseminação artificial; e vacinação dos suscetíveis de modo a garantir imunidade nos rebanhos (BADKE, 2001).

É importante verificar a procedência de ovinos adquiridos de propriedades com comprovada eficiência reprodutiva e levar em consideração que o exame sorológico negativo não garante que o animal não esteja infectado, uma vez que a bactéria pode estar no período de incubação ou, como a produção a de anticorpos é intermitente, a coleta pode ter sido feita num período em que não seja possível sua detecção (MELO, 2009).

A identificação do sorovar da *Leptospira* sp. é importante, uma vez que a imunidade adquirida é sorovariedade específica, assim, a vacinação protege somente contra as sorovariedades homólogas ou semelhantes antigenicamente (LEVETT, 2001), não havendo imunidade cruzada. Quando um ou mais sorovares infectam os animais, é necessária a utilização de vacinas polivalentes (FAINE et al., 1999).

A vacinação produz imunidade nos animais, prevenindo os sinais da doença e o custo de cada dose de vacina é significativamente menor do que a dose do antibiótico utilizado no tratamento (HERRMANN, 2002).

Além da vacinação, deve ser realizado o tratamento dos animais doentes, pois, ao tentar fazer o controle de animais positivos para leptospirose com vacinação, corre-se o risco de haver o aumento do número de animais atingidos, uma vez que a vacinação não elimina o estado de portador (GIRIO et al., 2005).

No Reino Unido, a vacinação anual por um período de cinco anos, associada ao tratamento dos animais infectados com Diidroestreptomicina, foi suficiente para controlar e erradicar a doença (LITTLE et al., 1992).

A vacinação é capaz de induzir imunidade ao rebanho e diminuir o risco de infecção para os tratadores, quando acompanhada de programas educacionais e de higiene nas comunidades com o apoio das autoridades responsáveis pela saúde pública (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

Para o sucesso dos programas de vacinação, há a necessidade de estudos epidemiológicos contínuos, a fim de monitorar a ocorrência de diferentes sorovariedade de *Leptospira* sp. em uma população (WANG et al., 2007).

No Brasil, existem vacinas contra leptospirose disponíveis no mercado, porém são poucos os estudos com vacina em ovinos, sendo a maioria em bovinos, suínos e caninos, contudo, o controle da doença em ovinos, com vacinas comerciais é comum no país, porém geralmente são utilizadas bacterinas para a utilização em bovinos, sem haver uma avaliação da eficiência destas para ovinos (HERRMANN, 2002).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Monitorar, sorológicamente, um rebanho de ovinos positivos para leptospirose aguda.

3.2 Específico

- Monitorar um rebanho de ovinos positivo para leptospirose aguda, pelo teste de soroaglutinação microscópica;
- Avaliar a resposta dos animais ao tratamento.

4. REFERÊNCIAS

- ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. **Leptospira and leptospirosis**. *Veterinary Microbiology*, v. 149, n 3-4, p. 287-296, 2010.
- AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; VASCONCELLOS, S.A.; SOUZA, S.A., LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. **Anticorpos Anti-Leptospira spp em Ovinos do Município de Monte Negro, Estado de Rondônia de Rondônia**. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, n.3, p.529-532, 2010.
- AHMED, N.; DEVI, S.M.; VALVERDE, M.L.; VIJAYACHARI, P.; MACHANG'U, R.S.; ELLIS, W.A.; HARTSKEERL, R.A. **Multilocus Sequence Typing method for identification and genotypic classification of pathogenic Leptospira species**. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v.5, n.28, p.28, 2006.
- AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; ANDRADE, J.S.L.; BATISTA, C.S.A.; CLEMENTINO, I.J.; SANTOS, F.A. **Ocorrência de aglutininas anti-Leptospira em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil**. *Rev. Bras. Cienc. Vet.* v. 11, p. 167-170, 2004.
- BARBUDO FILHO, J.J.; GIRIO, R.J.S.; MATHIAS, L.A.; OLIVEIRA, A.V.; MARINHO, M. **Pesquisa de anticorpos contra Leptospira interrogans em soros de ovinos do Estado de São Paulo. Avaliação do sorotipo jiquitaia de Leptospira biflexa como antígeno de triagem sorológica**. *Ars. Vet.* v.15, p. 26-32, 1999.
- BHARADWAJ, R. **Leptospirosis, a reemerging disease?** *Indian J. Med. Res.* v.120,136-138, 2004.
- BHARTI, A.R. **Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance** *Lancet Infect. Dis.* v. 3, p. 757-771, 2003.
- BENENSON, A.S. **Controle das Doenças Transmissíveis no Homem**. 13ª ed. México: Organização Pan-Americana da Saúde, 1983.
- BENSCHOP, J.; HEUER, C.; JAROS, P.; EMERSON, J.C.; MIDWINTER, A.; WILSON, P. **Soro-prevalence of leptospirosis in workers at a New Zealand slaughterhouse** *N. Z. Med. J.* v.122, p. 39-47, 2009.
- CACCHIONE, R.A.; CEDRO, V.C.F.; BULGINI, M.J.D.; CASCELI, S.; MARTINEZ, E.S. **Leptospirose ovina. Investigación sobre su frecuencia en la Argentina. Aislamiento y clasificación de una cepa ovina**. Buenos Aires, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuária, Instituto de Zoonoses (Serie Técnica, 24), 1963.
- CARVALHO, S.M.; GONÇALVES, L.M.F.; MACEDO, N.A.; GOTO, H.; SILVA, S.M.M.S.; MINEIRO, A.L.B.B.; KANASHIRO, E.H.Y.; COSTA, F.A.L. **Infecção por Leptospira em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal**. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, n. 8, p. 637-642, 2011.
- CICERONI, L.; LOMBARDO, D.; PINTO, A.; CIARROCCHI, S.; SIMEONI, J. **Prevalence of antibodies to Leptospira serovars in sheep and goats in Alto Adige- South Tyrol**. *Journal of Veterinary Medicine*, v.47, n.3, p.217-223, 2000.

- COLE, JR. JR. et al. **Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test.** Appl Microbiol. v. 25, p. 976-980, 1973.
- CORDEIRO, F. et al. **Leptospira interrogans in several wildlife species in Southeast Brazil.** Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro. v. 1, p. 1929, 1981.
- COUSINS, D.V.; ROBERTSON, G.M. **Use of enzyme immunoassay in a serological survey of leptospirosis in sheep.** Australian Veterinary Journal, v.63, n.2, p.36-39, 1986.
- COUSINS, D.V. et al. **Evidence for sheep as a maintenance host for Leptospira interrogans sorovar Hardjo.** Veterinary Record, v.124, n.4, p.123-124, 1989.
- DOMINGUES, P. F.; LANGONI, H. **Manejo Sanitário de Bovinos.** in: _____. **Manejo sanitário animal.** Rio de Janeiro: EPUD, 2001. cap. 20, p.161-186.
- ELLIS, W.A. **Leptospirosis as cause of reproductive failure.** Veterinary Clinics of North America: Food and animal practice, v.10, n.3, p.463-478, 1994.
- FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis.** Geneva: World Health Organization, 1982.
- FAINE, S. et al. **Leptospira and leptospirosis.** Melbourne: MediSci, p.272, 1999.
- FAVERO, A. C. M. et al. **Sorovares de Leptospira predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros.** Ciência Rural, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.
- GALTON, M. M. et al. **Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies.** Appl Microbiol. v.13, p. 81-85, 1965.
- GENOVEZ, M.E. **Leptospirose: uma doença além da época das chuvas!** 2007. Artigo em Hypertext. Disponível em: http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/leptospirose/index.htm. Acesso em: 19/5/2017
- GIL, A.C. **Métodos e técnicas de pesquisa social.** 4 ed. São Paulo: Atlas, 1994. 207p.
- GIRIO R.J.S., LEMOS R.A.A. **Doenças Bacterianas, Leptospirose** In: RIET-CORREA F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos.** Santa Maria: Palotti, 2007. v.1, cap 3, p. 331-352.
- GROOMS, D. L.; BOLIN, C. A. **Diagnosis of Fetal Loss Caused by Bovine Viral Diarrhea Virus and Leptospira spp.** Veterinary Clinics: Food and animal practice, v. 21, p. 463-472, 2005.
- HAAKE, D.A. **Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis.** Microbiology, v.146, p.1491-1504, 2000.
- HAMOND, C. et al. **Presence of Leptospiral DNA in Semen Suggests Venereal Transmission in Horses.** Journal of Equine Veterinary Science, v. 33, p. 1157-1159, 2013.

HASHIMOTO, Vanessa Y. et al. **Associação Entre as Lesões Renais Microscópicas e a Presença de Anticorpos Contra Leptospira spp em suínos Aparentemente Sadios, Abatidos em Frigorífico da Região Norte do Estado do Paraná.** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 29, n. 4, p. 875-880, out./dez. 2008.

HASHIMOTO, Vanessa Y. et al. **Prevalência e fatores de risco associados à Leptospira spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná.** Pesq. Vet. Bras. 32(2): 99-105, fevereiro 2012.

HERRMANN, Geder Paulo et al. **Soroprevalência de aglutininas anti-Leptospira spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil.** Ciência Rural, v.34, n.2, mar-abr, 2004.

HIGINO, S. S. S. et al. **Frequência de Leptospirose em Ovinos Abatidos no Município de Patos, Paraíba.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.77, n.3, p.525-527, jul./set., 2010.

HORSCH, F. **Leptospirose** In: BERES, J., **Doenças Infecciosas em Animais Domésticos.** Roca, São Paulo, p. 305-326, 1999.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária 2015.** IBGE, Rio de Janeiro, v. 43, p.1-49, 2015. [Internet]http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf, acesso em 07/07/2017.

KOSGEY, I. S.; OKEYO, A. M., **Genetic improvement of small ruminants in low-input, smallholder production systems: Technical and infrastructural issues.** Small Ruminant Research, v.70, p.76–88, 2007.

LANGONI, L. **Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública.** Revista de Educação Continuada do CRMV – SP, v.2, n.1, p.52-58, 1999.

LEFEBVRE, R. B. **Leptospira.** In: **Hirsh DC, Zee YC.** Microbiologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 174-178, 2003.

LEVETT P.N. **Leptospirosis** *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, n. 2, p. 296–326, 2001.

LILENBAUM, W. et al. **Detection of Leptospira spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction.** Theriogenology v. 69, p. 837-842, 2008.

LIMA, R. C. **Leptospirose: um estudo epidemiológico e aplicação de medidas preventivas em uma região do município de Belém, Pará.** 2009. Disponível em: <http://fbm.ufpa.br/pdf/tcc/tcc19.pdf>. Acesso em: 15/05/2017.

LIMMATHUROTSAKUL, D. et al. **Why imperfect reference tests are undermining the evaluation of novel diagnostics: a reevaluation of 5 diagnostic tests for leptospirosis.** *Clinical Infectious Diseases*, v. 55, p. 322-331, 2012.

MARTINS, G. et al. **Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil.** Trop Anim Health Prod. v. 44, p. 773-777, 2012.

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

MINISTRO DA SAÚDE. **Guia de vigilância Epidemiológica.** 6 ed., p.502-520, Brasília, 2005.

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

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. **Patologias do Útero Gestante.** In: _____. **Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 6, p. 70-83, 2008.

OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, World Organization for Animal Health, Paris.** 2008.

OLIVEIRA, S. J. **Infecções no trato urinário em suínos.** Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desiderio Finamor, Guaíba, v. 1, n. 130, p. 71-85, 1988.

OLIVEIRA, D. S. C. et al. **Modelo produtivo para Leptospirose.** Revista de Patologia Tropical, v. 38, n.1, p.17-26, 2009.

OLIVEIRA, F. C. S. et al. **Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 30, n. 5, p. 398-402, 2010.

PASQUALI, A. K. S. et al. **Estudo Transversal de Leptospira spp. Em Caprinos do Estado do Paraná, Brasil 2016.** Disponível em <http://eduem.uem.br/ojs/index.php/RevCiVet/view/33255/pdf>. Acesso em 04 junho 2017.

PUGH, D.G. **Clínica de ovino e caprino São Paulo:** Roca, p. 203. 204, 2004.

QUINN, P. J. et al. **Clinical veterinary microbiology.** Virginia: Wolfe, p. 648, 1994.

RADOSTITS, O. M. et al. **Veterinary medicine.** Philadelphia: Saunders, p. 1877, 2000.

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos.** 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 874-87, 2007.

RISSI, D. R. et al. **Doenças de ovinos da região Central do Rio Grande do Sul: 361 casos.** Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, v. 30, n. 1, p. 21-28, 2010.

RODRIGUES, C. M. **O Círculo Vicioso da Leptospirose:** ampliando o conceito de negligência em saúde no Brasil, 2006.

SCARCELLI, E. et al. **Deteção de agentes bacterianos pelas técnicas de isolamento e identificação e PCR – Multiplex em fetos bovinos abortados.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.28, n.1, p.23-27, 2004.

SACSAQUISPE-CONTRERAS, R. et al. **Estúdio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en Salitral, Piura - 1999** Revta Peru. Med. Exp. Salud Pública v. 20, p. 39-40, 2003.

SEIXAS, L. S. et al. **Anti-Leptospira sp. agglutinins in ewes in the Federal District, Brazil.** Trop Anim Health Prod. 2011; 43:9- 11.

SHIMABUKURO, F. H. et al. **Pesquisa de suínos portadores renais de Leptospira pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose.** Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science, v.40, n.1, p.243-253, 2003.

SOTO, F. R. M. et al. **Leptospirose Suína.** Arquivos do Instituto Biológico, v.74, n.4, p.379-395, 2007.

SOUSA, S. A.P. et al. **Leptospirose e a infecção de ovinos.** Revista Científica de Medicina Veterinária, ano XII, v.23, 2014.

TRUBO, R. **Leptospira brings fresh challenge to adventure sports** Lancet Infect. Dis. v. 1, p.73, 2001.

VASCONCELLOS, José Luiz Faria; E GEWANDSZNAJDER, Fernando. **Programas de Saúde.** 6ª ed. São Paulo: Ática, 1983.

VIANA, João Garibaldi Almeida. **Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil.** Revista Ovinos, Ano 4, Nº 12, Porto Alegre, Março de 2008.

VIEGAS, E. A. et al. **Emprego de Estirpes de Leptospira biflexa na Prova de Soroaglutinação Microscópica Aplicada ao Diagnóstico da Leptospirose Caprina e Ovina.** São Paulo, v.3J, n.1, p.25-30, 1994.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control.** 2003. Acessado em: 20 abr. 2017. Online. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002_23.pdf>.

YANAGAWA, R.; KAWASHIMA, H.; HIROTA, E. **Studies on the bovine leptospirosis in Japan.** Journal of the Japan Veterinary Medical Association, v. 29, p. 261-275, 1955.

ZUNINO, E. M.; ROLANDO, P. P. **Leptospirosis: puesta al día.** Revista Chilena de Infectología, v.24, n.3, p. 220-226, 2007.

5. ARTIGO

MONITORAMENTO SOROLÓGICO EM OVINOS COM LEPTOSPIROSE AGUDA

SOROLOGICAL MONITORING IN SHEEP WITH ACUTE LEPTOSPIROSIS.

Alieksandr Karnauchovas Franco¹; Luiz Fernando Coelho da Cunha Filho²; Maria Carolina Ricciardi Sbizera³; Marcela Lucas de Lima⁴; José Victor Pronievicz Barreto⁵

1 Médico Veterinário, Discente do Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Arapongas, PR, Brasil. E-mail: aliekstrandfranco@gmail.com

2 Médico Veterinário, Prof. Doutor, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção de Ruminantes, Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Arapongas, PR, Brasil. E-mail: vtluiz.cunha@gmail.com

3 Médica Veterinária, Discente do Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Arapongas, PR, Brasil. E-mail: carolsbizera@hotmail.com

4 Médica Veterinária, Discente do Mestrado em Saúde e Produção de Ruminantes, Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Arapongas, PR, Brasil. E-mail: marcelaveterinaria01@gmail.com

5 Aluno de Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Arapongas, PR, Brasil. E-mail: jose.proni@hotmail.com

Resumo

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial, de ocorrência maior em países de clima tropical e subtropical, principalmente nos períodos chuvosos, quando essas condições ambientais aumentam a sobrevivência da bactéria. Nos ovinos, a enfermidade pode provocar falhas reprodutivas e abortamentos, morte de cordeiros, inanição, infecção grave, febre e insuficiência hepática e/ou renal. O trabalho teve como objetivo realizar o monitoramento sorológico, através do teste de soroaglutinação microscópica (SAM), de um rebanho ovino acometido por leptospirose aguda. O estudo foi realizado em uma propriedade encontrada em um fundo de vale, localizada no município de Rolândia, Paraná, composta por 49 ovinos da raça Dorper. Em fevereiro de 2016, após período de intensa chuva, os animais começaram a apresentar febre, apatia, mucosa pálida e baixos índices reprodutivos. Colheu-se soro sanguíneo para realização de detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp., onde se constatou que 100% dos animais apresentavam titulação para o sorovar *Australis*, que incluía títulos de 1:12800. Foi realizado o tratamento com sulfato de Estreptomicina na dose de 25mg/kg e controle de roedores. Em seguida, escolheram-se aleatoriamente cinco animais, para serem monitorados quanto à *Leptospira*, por um período de 12 meses entre fevereiro de 2016 a fevereiro de 2017 através da coleta de sangue, para realização da SAM. Os resultados demonstraram que ao final do monitoramento de 12 meses, e depois de adotadas as medidas de controle, não havia titulação de anticorpos para *Leptospira* sp. Assim, o tratamento foi eficaz para o retorno dos animais a reprodução.

Palavras-chave: aborto, *Leptospira* sp., prevalência, soroaglutinação microscópica.

Abstract

Leptospirosis is a zoonosis of worldwide distribution occurring in tropical and subtropical countries, especially in rainy periods, when these environmental conditions increase the survival of the bacteria. In sheep, the disease can lead to reproductive failure and abortion, death of lambs, starvation, severe infection, fever, and hepatic and or renal failure. The objective of this study was to perform the serological monitoring, through the microscopic serumagglutination test (MAT), of a sheep herd affected by acute leptospirosis. The study was carried out in a property located in a valley bottom, located in the city of Rolândia, Paraná, composed of 49 Dorper sheep. In February 2016, after a period of intense rain, the animals began to present fever, apathy, pale mucosa and low reproductive rates. Blood serum was collected for the detection of anti-*Leptospira spp.* antibody. The results showed that 100% of the animals had high anti-*Leptospira spp.* titers for *Australis* serovar, which included titers of 1:12800. The treatment with streptomycin sulphate at a dose of 25mg/kg and control the rodents. Then, five animals were randomly selected to be monitored for *Leptospira* for a period of 12 months between February 2016 and February 2017 through blood collection for SAM. The results demonstrated that at the end of the 12-month monitoring, and after the control measures were adopted, there was no antibody titration to *Leptospira spp.* Thus, the treatment was effective for the return of the animals to reproduction.

Key words: abortion, *Leptospira spp.*, microscopic serumagglutination test, prevalence.

Introdução

Os pequenos ruminantes ovinos e caprinos, representam uma criação importante para a economia, em particular nos países em desenvolvimento (KOSGEY; OKEYO 2007). Apesar do aumento da criação de ovinos, os fatores associados à sanidade podem diminuir a produtividade dos rebanhos, principalmente as doenças infecciosas e parasitárias (RISSI et al., 2010).

A leptospirose é uma enfermidade de distribuição mundial, porém, sua ocorrência é maior em países de clima tropical e subtropical, principalmente nos períodos chuvosos, quando essas condições ambientais aumentam a sobrevivência da bactéria e conseqüentemente, o risco de exposição e infecção de animais susceptíveis (OLIVEIRA et al., 2010).

Nos ovinos, a enfermidade pode provocar falhas reprodutivas e abortamentos geralmente no terço final da gestação (NASCIMENTO; SANTOS, 2008), morte de cordeiros, inanição, infecção grave (RADOSTITS et al., 2002), febre e insuficiência hepática e/ou renal (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

Animais silvestres, sinantrópicos e domésticos podem ser considerados hospedeiros primários da *Leptospira* sp. (OLIVEIRA et al. 2009). Entre os roedores domésticos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*) que abrigam a bactéria, o *Rattus norvegicus* é um clássico carreador do sorovar *Icterohaemorrhagie* (SHIMABUKURO et al., 2003) e no rato d'água (*Nectomys squamipes*) tem sido demonstrado o sorovar *Australis* (CORDEIRO et al. 1981).

Os ovinos atuam como hospedeiros acidentais, infectando-se por sorovariedade comumente encontradas em outros animais domésticos e silvestres encontrados na região (FAINE et al., 1999; ELLIS, 1994.). A disseminação da leptospirose para o meio ocorre pela presença de animais doentes ou portadores, que eliminam a bactéria pela urina, descargas cérvico-vaginais, fetos abortados, placenta (FAINE et al., 1999), e sêmen (HAMOND et al., 2013; LILENBAUM et al., 2008).

Leptospira sp. pode permanecer no ambiente por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e sombreamento (HASHIMOTO et al., 2012), e pode ser transmitida por meio de água ou solo contaminado com material biológico de animais infectados (MUSSO; LA SCOLA, 2013; DOMINGUES; LANGONI, 2001), por meio do contato sexual ou pela inseminação artificial (LEVETT, 2001).

Devido à falta de sinais clínicos aparentes e lesões características na leptospirose em pequenos ruminantes, os testes laboratoriais são essenciais para obter um diagnóstico preciso da

infecção (LIMMATHUROTSAKUL et al., 2012). A soroprecipitação microscópica é o exame indicado e utilizado por pesquisadores para diagnóstico da leptospirose, sendo recomendado como melhor alternativa de diagnóstico (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010; OIE, 2008).

A administração intramuscular de 25 mg/kg/dia durante 1 a 5 dias de Dihidroestreptomicina, ou Oxitetraciclina 40 mg/kg/dia por 3 a 5 dias, ou Tilosina 44 mg/kg/dia durante 3 a 5 dias, ou Tetraciclina 3 mg/kg/dia durante 7 dias, é uma terapia indicada junto com uma dieta adequada (RADOSTITS, et al. 2007).

As medidas de controle destinadas a limitar a leptospirose são ações integradas aplicadas, que incluem: diagnóstico e tratamento das fontes de infecção (animais de produção e companhia); combate aos reservatórios sinantrópicos; drenagem das áreas alagadiças; higiene das instalações e equipamentos; controle da inseminação artificial; e vacinação dos suscetíveis de modo a garantir imunidade nos rebanhos (BADKE, 2001).

Este trabalho teve como objetivo realizar o monitoramento sorológico, através do teste de soroprecipitação microscópica, de um rebanho ovino acometido por leptospirose aguda.

Materiais e Métodos

Caracterização da propriedade e dos animais.

Em dezembro de 2015, após período de intensa chuva com precipitação de 391mm, quando a média histórica foi de 207mm, devido ao fenômeno El Niño (FERREIRA, et al. 2016), alguns animais começaram a apresentar febre, apatia, mucosa pálida e baixos índices reprodutivos, com taxas de prenhez após inseminação artificial de 15% e duas matrizes apresentaram abortos.

O estudo foi realizado em uma propriedade, situada próxima a um vale, onde se encontra uma mata ciliar com o rio Bandeirante do norte, localizada no município de Rolândia, latitude 23° 18' 35" S e longitude 51° 22' 09" W, na mesorregião norte central do Paraná. O clima na região caracteriza-se com verões quentes úmidos e invernos secos, com temperatura anual entorno de 22°C e a pluviosidade alcança 1300 mm anuais (INMET, 2017).

A propriedade era composta por 49 ovinos da raça Dorper puros de origem (PO), em formação de rebanho, sendo 36 fêmeas em fase reprodutiva e 13 machos reprodutores, com idade média entre 12 e 36 meses.

Teste diagnóstico.

Foram coletado sangue de todos os 49 animais, após correta antissepsia e punção da veia jugular, e as amostras permaneceram em repouso por 24 horas em temperatura ambiente para a decantação das células sanguíneas e a separação do soro, e foram mantidos em freezer a -20° C até a realização sorológica, pelo teste de soroaglutinação microscópica (SAM).

As amostras foram transportadas em gelo até o Laboratório de Leptospirose, no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), onde foram processadas de acordo com o protocolo estabelecido para a realização dos testes, utilizando uma bateria com 22 antígenos vivos: *Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Castellonis*, *Bataviae*, *Canicola*, *Whitcomb*, *Cynopteri*, *Fortbragg*, *Grippotyphosa*, *Hebdomadis*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Panama*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Hardjo*, *Wolffi*, *Shermani*, *Sentot* e *Tarassovi*.

Diluições em séries das amostras positivas foram testadas para determinar o título de anticorpos (FAINE, 1982), e as leituras foram realizadas em microscópio de campo escuro com objetiva de 20x. O sorovar registrado foi aquele que apresentou maior título. O título final foi aquele que apresentou 50% ou mais de aglutinação, sendo o ponto de corte da reação, o título de 1:100.

Após o resultado, decidiu-se então o tratamento com sulfato de Estreptomicina na dose de 25mg/kg a cada 24h, durante cinco dias, em todos os animais e monitoramento sorológico.

Monitoramento Sorológico

Após o tratamento foram escolhidos a cada mês, de forma aleatória, cinco animais para o teste de soroaglutinação microscópica (SAM), para o monitoramento do rebanho quanto à *Leptospira* sp., por um período de 12 meses, entre fevereiro de 2016 a fevereiro de 2017, através da coleta de sangue em intervalos de 30 dias, ou seja, C0 primeira coleta, C1, C2, C3, C4 e C8 como segunda, terceira, quarta, quinta e sexta coleta respectivamente.

Foram introduzidas medidas de manejo na propriedade, tais como: controle de roedores através de iscas comerciais, isolamento dos animais com manifestações clínicas, intensificação da limpeza das instalações, especialmente dos depósitos de armazenamento de rações, para evitar a presença de roedores, separação do rebanho do convívio com outros animais domésticos, como cães, e precauções com as práticas de manejo dos animais pelos empregados da propriedade para evitar uma possível contaminação.

Analises estatística

A organização da base de dados e a confecção de tabelas e gráficos foram realizadas em planilhas do programa Microsoft Excel, versão 2010. Na base de dados, cada amostra de soro sanguíneo era acompanhada pelos seguintes dados: data de colheita, sorovar utilizado na bateria de antígenos, resultado das reações a SAM e títulos.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos na primeira coleta (C0) de sangue, para o teste de SAM, foram de 100% positivos para o sorovar *Australis*, indicando que a bactéria estava presente no rebanho, causando um quadro agudo de leptospirose com titulações variando entre 1:800, 1:12800 e seis animais apresentaram titulação de 1:100 para os sorovares *Butembo*, *Canicola* e *Bratislava* (Tabela 1).

Martins et al. (2012), verificaram a ocorrência variando entre 13,7% e 47,4% dos animais com *Leptospira* sp., sendo que os principais sorovares envolvidos foram *Hardjo*, *Patoc*, *Autumnalis*, *Pyrogenes*, *Icterohaemorrhagiae*, *Senot*. Carvalho et al. (2011) relataram ocorrência de 28,6% dos ovinos com anticorpos anti-leptospira. Higino et al. (2010) em seu experimento, encontraram 6,25% soropositivos para o sorovar *Autumnalis*, na SAM. Araújo Neto (2005) avaliou 100 ovelhas e encontrou 9% de soropositividade para *Leptospira*. No entanto, Herrmann et al. (2004), trabalhando com ovinos na região sul do Brasil, encontraram 34,26% de positividade para *Leptospira*. Frequências inferiores foram encontradas por Zamora et al. (1999), que observaram 5,7% de prevalência para a leptospirose em ovelhas no Chile, demonstrando desta forma, prevalência baixa em comparação ao encontrado no presente trabalho, em que todos os animais apresentaram-se reagentes à *Leptospira*.

Segundo Ferreira et al. 2016, fatores relacionados ao El Niño permitiram que a média pluviométrica em novembro de 2015 se elevasse para 516 mm, se comparado ao histórico médio de 169 mm para o mesmo período de anos anteriores. O mesmo ocorreu com os meses de dezembro, onde foi constatado que a média histórica se elevou de 207 mm para 391 mm, e para o mês de janeiro de 2016, onde se observou elevação média de pluviosidade de 216 mm para 419 mm, assim, possivelmente, devido a estes elevados índices pluviométricos ocorridos a partir de novembro de 2015, o rio que se encontra ao fundo da propriedade, provavelmente teve seu nível de água aumentado, acarretando no desalojamento de roedores para áreas mais secas da propriedade, como as instalações onde permaneciam os ovinos, aumentando o risco de contaminação do rebanho pela *Leptospira* sp.

Alves *et al.* (2012) examinaram 1.275 ovinos e encontraram 5,41% de animais soropositivos e 1,44% pertencendo ao sorovar *Australis*. A prevalência encontrada por Aguiar *et al.* (2010) para *Leptospira* sp. foi de 33% de 47 animais avaliados, e destes, 4,2% positivos para do sorovar *Australis* com titulação de 1:200 e 1:400 (2/47). Lilenbaum *et al.* (2009) examinaram 248 caprinos e 92 ovinos, encontraram 52 caprinos (20,9%) e 40 ovinos (13,7%) soropositivos, com o sorovar *Australis* presente em dois caprinos. Herrmann *et al.* (2004), avaliando 1360 ovinos, encontraram 34,26% dos animais reagentes para *Leptospira* sp. onde somente 1,6% eram positivos para o sorovar *Australis*. Estes estudos demonstram que o sorovar *Australis* encontra-se presente em várias pesquisas, entretanto, com uma prevalência menor que a do presente trabalho, onde foram observados 100% dos ovinos acometidos pelo sorovar *Australis*.

No C1 os animais não apresentaram positividade no SAM, porém no C2, três animais apresentaram uma titulação de 1:100 para os sorovares *Bratislava*, *Wolffi* e *Butembo*. Em C3 e C4 os resultados foram negativos e na última coleta (C8) apenas três animais apresentaram uma titulação de 1:100 para o sorovar *Australis*, indicando também, que a antibióticoterapia foi eficaz como tratamento, com a taxa de prenhes retornando a 60% (Tabela 2).

De acordo com Bolin (1996), os sorovares de *Leptospira* sp. presentes em uma determinada região estão associados à presença de um ou mais hospedeiros de manutenção, e Caldas *et al.* (1991) pesquisando o comportamento de sorotipos apatogênicos no diagnóstico de triagem da leptospirose em animais, constataram nos cães, a presença do sorovar *Australis*, e CORDEIRO *et al.* (1981) demonstrou o sorovar *Australis* no rato d'água (*Nectomys squamipes*), o que reforça a hipótese de contaminação dos ovinos por este sorovar, uma vez que foi confirmada a presença de roedores nas instalações da propriedade e cães fazem parte dos animais da cabana, porém, a aquisição de animais oriundos de propriedades diversas, sem o devido teste sorológico e quarentena é uma prática corriqueira da propriedade, o que favorece a manutenção com animais portadores assintomáticos.

Conclusão

O monitoramento sorológico, através do teste de soroaglutinação microscópica, em um rebanho ovino acometido por leptospirose aguda, foi eficaz para avaliar a enfermidade na propriedade e a antibióticoterapia, juntamente com medidas de controle e prevenção da doença, se fazem práticas obrigatórias.

Tabela 1. Resultado de titulação e sorovar predominante no primeiro teste (C0) de microaglutinação microscópica (SAM) para *Leptospira* sp em rebanho ovino.

Identificação animal	Raça	Sexo (M/F)	Idade (meses)	Título	Sorovar	Observação
1	Dorper	F	> 36	1:3200	<i>Australis; Butembo</i>	Comprado
2	Dorper	F	> 36	1:6400	<i>Australis</i>	Comprado
3	Dorper	M	24	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
4	Dorper	F	24	1:3200	<i>Australis</i>	Origem
5	Dorper	M	24	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
6	Dorper	F	24	1:1600	<i>Australis</i>	Comprado
7	Dorper	F	12 a 24	1:800	<i>Australis</i>	Origem
8	Dorper	F	24 a 36	1:6400	<i>Australis; Butembo</i>	Comprado
9	Dorper	F	24 a 36	1:6400	<i>Australis</i>	Origem
10	Dorper	F	24 a 36	1:6400	<i>Australis</i>	Origem
11	Dorper	F	24 a 36	1:6400	<i>Australis</i>	Origem
12	Dorper	F	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Origem
13	Dorper	F	12 a 24	1:1600	<i>Australis</i>	Origem
14	Dorper	F	> 36	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
15	Dorper	F	> 36	1:6400	<i>Australis; Canicola</i>	Comprado
16	Dorper	F	24 a 36	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
17	Dorper	M	12 a 24	1:6400	<i>Australis</i>	Origem
18	Dorper	F	24 a 36	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
19	Dorper	M	6	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
20	Dorper	F	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
21	Dorper	F	12 a 24	1:6400	<i>Australis</i>	Comprado
22	Dorper	M	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
23	Dorper	F	24 a 36	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
24	Dorper	F	> 36	1:1600	<i>Australis</i>	Comprado
25	Dorper	F	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
26	Dorper	F	12 a 24	1:1600	<i>Australis</i>	Comprado
27	Dorper	F	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Origem
28	Dorper	M	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
29	Dorper	M	12 a 24	1:6400	<i>Australis</i>	Comprado
30	Dorper	M	12 a 24	1:6400	<i>Australis</i>	Comprado
31	Dorper	F	> 36	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
32	Dorper	F	12 a 24	1:6400	<i>Australis; Bratislava; Canicola</i>	Comprado
33	Dorper	F	> 36	1:6400	<i>Australis</i>	Comprado
34	Dorper	F	12 a 24	1:6400	<i>Australis</i>	Comprado
35	Dorper	F	> 36	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado
36	Dorper	M	< 6	1:800	<i>Australis</i>	Comprado
37	Dorper	F	12 a 24	1:1600	<i>Australis</i>	Comprado
38	Dorper	F	12 a 24	1:800	<i>Australis; Butembo</i>	Comprado
39	Dorper	F	12 a 24	1:1600	<i>Australis</i>	Comprado
40	Dorper	F	24 a 36	1:6400	<i>Australis</i>	Comprado
41	Dorper	M	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Origem
42	White Dorper	M	12 a 24	1:3200	<i>Australis; Bratislava</i>	Comprado
43	White Dorper	F	> 36	1:1600	<i>Australis</i>	Origem

44	White Dorper	F	12 a 24	1:3200	<i>Australis</i>	Origem
45	White Dorper	M	12 a 24	1:6400	<i>Australis</i>	Origem
46	White Dorper	F	> 36	1:1600	<i>Australis</i>	Comprado
47	White Dorper	F	> 36	1:12800	<i>Australis</i>	Comprado
48	White Dorper	M	12 a 24	1:1600	<i>Australis</i>	Origem
49	White Dorper	F	> 36	1:3200	<i>Australis</i>	Comprado

Tabela 2. Monitoramento sorológico de cinco ovinos, com titulação e sorovar correspondente.

Coleta Data	C1 03/16		C2 04/16		C3 06/16		C4 07/16		C8 02/17	
	T	S	T	S	T	S	T	S	T	S
Animal										
19	N	N	1:100 <i>Brat</i>		N	N	N	N	-	-
20	N	N	1:100 <i>Wolf</i>		N	N	N	N	1:100 <i>Aust</i>	
28	N	N	N	N	N	N	N	N	1:100 <i>Aust</i>	
33	N	N	1:100 <i>Brat</i> 1:100 <i>Bute</i>		N	N	N	N	-	-
35	N	N	N	N	N	N	N	N	1:100 <i>Aust</i>	

Legenda: T: título; S: Sorovar; *Aust*: sorovar *Australis*; *Brat*: sorovar *Bratslava*; *Wolf*: sorovar *Wolffi*; *Bute*: sorovar *Butembo*; N: negativo; -: não realizado

Referencias

- ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, v. 149, n 3-4, p. 287-296, 2010.
- AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; VASCONCELLOS, S.A.; SOUZA, S.A.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. Anticorpos Anti-*Leptospira* spp em Ovinos do Município de Monte Negro, Estado de Rondônia de Rondônia. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, n.3, p.529-532, 2010.
- AHMED, N.; DEVI, S.M.; VALVERDE, M.L.; VIJAYACHARI, P.; MACHANG'U, R.S.; ELLIS, W.A.; HARTSKEERL, R.A. Multilocus Sequence Typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v.5, n.28, p.28, 2006.
- ALVES, C.J.; ALCINDO, J.F.; FARIAS, A.E.M.; HIGINO, S.S.S.; SANTOS, F.A.; AZEVEDO, S.A.; COSTA, D.F.C.; SANTOS, C.S.A.B. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslançados do semiárido brasileiro. *Pesq. Vet. Bras.* v.32, p. 523-528, 2012.
- AMORIM, R.M.; NASCIMENTO, E.M.; SANTAROSA, B.P.; DANTAS, G.N.D.; FERREIRA, D.O.L.; GONÇALVES, R.C.; ULLMANN, L.S.; LANGONI, H. Soroprevalência da leptospirose em ovinos da região Centro-Oeste do estado de São Paulo. *Vet. e Zootec.* v. 23, p. 297- 305, 2016.
- ARAÚJO NETO, J.O. Isolamento de *Leptospira* spp. a partir do trato genital de ovelhas abatidas no Matadouro Público de Patos/PB, Estado de Paraíba, Brasil. *Monografia de Conclusão de Curso de Graduação em Medicina Veterinária*, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB. 58p., 2005.
- AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; ANDRADE, J.S.L.; BATISTA, C.S.A.; CLEMENTINO, I.J.; SANTOS, F.A. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev Bras Cienc Vet.* v. 11, p. 167-170, 2004.
- BARBUDO FILHO, J.J.; GIRIO, R.J.S.; MATHIAS, L.A.; OLIVEIRA, A.V.; MARINHO, M. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira interrogans* em soros de ovinos do Estado de São Paulo. Avaliação do sorotipo jequitaiá de *Leptospira biflexa* como antígeno de triagem sorológica. *Ars Vet.* v.15, p. 26-32, 1999.
- BHARADWAJ, R. Leptospirosis, a reemerging disease? *Indian J. Med. Res.* v.120,136-138, 2004.
- BENENSON, A.S. Controle das Doenças Transmissíveis no Homem. 13ª ed. México: *Organização Pan-Americana da Saúde*, 1983.
- BENSCHOP, J.; HEUER, C.; JAROS, P.; EMERSON, J.C.; MIDWINTER, A.; WILSON, P. Sero-prevalence of leptospirosis in workers at a New Zealand slaughterhouse. *N. Z. Med. J.* v.122, p. 39-47, 2009.
- CACCHIONE, R.A.; CEDRO, V.C.F.; BULGINI, M.J.D.; CASCELI, S.; MARTINEZ, E.S. Leptospirose ovina. Investigación sobre su frecuencia en la Argentina. Aislamiento y clasificación de una cepa ovina. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Zoonosis (Serie Técnica, 24)*, Buenos Aires, Argentina, 1963.

CALDAS, E.M.; VIEGAS, E.A.; MASSA, L.F.M.; REIS, R. Comportamento de estirpes apatogênicas no diagnóstico sorológico de leptospirose em animais. *Arq Esc Med Vet, UFBA*, v.14, n.1, p.3-24, 1991.

CARVALHO, S.M.; GONÇALVES, L.M.F.; MACEDO, N.A.; GOTO, H.; SILVA, S.M.M.S.; MINEIRO, A.L.B.B.; KANASHIRO, E.H.Y.; COSTA, F.A.L. Infecção por leptospirose em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, n. 8, p. 637-642, 2011.

CICERONI, L.; LOMBARDO, D.; PINTO, A.; CIARROCCHI, S.; SIMEONI, J. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige- South Tyrol. *Journal of Veterinary Medicine*, v.47, n.3, p.217-223, 2000.

COLE JR, J.R.; SULZER, C.R.; PURSELL, A.R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl Microbiol.* v. 25, p. 976-980, 1973.

CORDEIRO, F.; SULZER, C.R.; RAMOS, A.A. *Leptospira interrogans* in several wildlife species in Southeast, Brazil. *Pesqui Vet Bras.* v.1, p. 19-29, 1981.

COUSINS, D.V.; ELLIS, T.M.; PARKINSON, J.; McGLASHAN, C.H. Evidence for sheep as a maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. *Veterinary Record*, v.124, n.4, p.123-124, 1989.

COUSINS, D.V.; ROBERTSON, G.M. Use of enzyme immunoassay in a serological survey of leptospirosis in sheep. *Australian Veterinary Journal*, v.63, n.2, p.36-39, 1986.

DOMINGUES, P. F.; LANGONI, H. Manejo Sanitário de Bovinos. in: _____. Manejo sanitário animal. *Rio de Janeiro: EPUD*, cap. 20, p.161-186, 2001.

ELLIS, W.A. Leptospirosis as cause of reproductive failure. *Veterinary Clinics of North America: Food and animal practice*, v.10, n.3, p.463-478, 1994.

FAINE, S. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: *World Health Organization*, 1982.

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

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

FERREIRA, L.G.B.; CARAMORI, P.H.C.; MORAIS, H.; NITSCHKE, P.R.; COSTA, Â.B.F. O Fenômeno El Niño de 2015/2016 e seus impactos nas chuvas do Paraná. *Boletim informativo IAPAR* 2016.

GALTON, M. M.; SULZER, C.R.; SANTA ROSA, C.A.; FIELDS, M.J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Appl Microbiol.* v.13, p. 81-85, 1965.

GENOVEZ, M.E. Leptospirese: uma doença além da época das chuvas!. 2007. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2007_1/leptospirese/index.htm>. Acesso em: 19/5/2017

GIRIO, R.J.S.; LEMOS, R.A.A. Doenças Bacterianas, Leptospirese In: RIET-CORREA F. et al. Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. Santa Maria: *Palotti*, v.1, cap 3, p. 331-352, 2007.

GROOMS, D. L.; BOLIN, C. A. Diagnosis of Fetal Loss Caused by Bovine Viral Diarrhea Virus and *Leptospira* spp. *Veterinary Clinics: Food and animal practice*, v. 21, p. 463-472, 2005.

HAAKE, D.A. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology*, v.146, p.1491-1504, 2000.

HAMOND, C.; MARTINS, G.; MEDEIROS, M.A.; LILENBAUM, W. Presence of Leptospiral DNA in Semen Suggests Venereal Transmission in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 33, p. 1157-1159, 2013.

HASHIMOTO, V.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 as Lesões Renais Microscópicas e a Presença de Anticorpos Contra *Leptospira* spp em suínos Aparentemente Sadios, Abatidos em Frigorífico da Região Norte do Estado do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 29, n. 4, p. 875-880, 2008.

HASHIMOTO, V.Y.; DIAS, J.A.; SPOHR, K.A.H.; SILVA, M.C.P.; ANDRADE, M.G.B.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.*, v.2, n.32, p. 99-105, 2012.

HERRMANN, G.P.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C.; HADADD, J.P.A.; RESENDE, J.R.; RODRIGUES, R.O.; LEITE, R.C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v.34, n.2, p.443-448, 2004.

HIGINO, S.S.S.; AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; FIGUEIREDO, S.M.; SILVA, M.L.C.R.; BATISTA, C.S.A. Frequência de Leptospirese em Ovinos Abatidos no Município de Patos, Paraíba. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, n.3, p.525-527, jul./set., 2010.

HORSCH, F. Leptospirese In: BERES, J. Doenças Infecciosas em Animais Domésticos. *Roca*, São Paulo, p. 305-326, 1999.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária 2015. *IBGE*, Rio de Janeiro, v. 43, p.1-49, 2015. [Internet] http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf, acesso em 07/07/2017.

KOSGEY, I. S.; OKEYO, A. M., Genetic improvement of small ruminants in low-input, smallholder production systems: Technical and infrastructural issues. *Small Ruminant Research*, v.70, p.76–88, 2007.

LANGONI, L. Leptospirese: aspectos de saúde animal e de saúde pública. *Revista de Educação Continuada do CRMV – SP*, v.2, n.1, p.52-58, 1999.

LEFEBVRE, R. B. Leptospiras. In: Hirsh DC, Zee YC. *Microbiologia veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 174-178, 2003.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, n. 2, p. 296–326, 2001.

LILENBAUM, W.; VARGES, R.; BRANDÃO, F.Z.; CORTEZ, A.; SOUZA, S.O.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; VASCONCELLOS, S.A. Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. *Theriogenology*, v.69, p.837-842, 2008.

LIMA, R. C. Leptospirose: um estudo epidemiológico e aplicação de medidas preventivas em uma região do município de Belém, Pará. 2009. Disponível em: <http://fbm.ufpa.br/pdf/tcc/tcc19.pdf>. Acesso em: 15/05/2017.

LIMMATHUROTSAKUL, D.; TURNER, E.L.; WUTHIEKANUM, V.; THAIPADUNGPANIT, J.; SUPUTTAMONGKOL, Y.; CHIERAKUL, W.; SMYTHE, L.D.; DAY, N.P.J.; COOPER, B.; PEACOCK, S.J. Fool's gold: Why imperfect reference tests are undermining the evaluation of novel diagnostics: a reevaluation of 5 diagnostic tests for leptospirosis. *Clinical Infectious Diseases*, v. 55, n.3, p. 322-331, 2012.

MARTINS, G.; PENNA, B.; HAMOND, C.; LEITE, R.C.K.; SILVA, A.; FERREIRA, A.; BRANDÃO, F.; OLIVEIRA, F.; LILENBAUM, W. Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Anim Health Prod*. v. 44, p. 773-777, 2012.

MELO, L.S.S.; CASTRO, M.B.; LEITE, R.C.; MOREIRA, E.C.; MELO, C.B. Principais aspectos da infecção por *Leptospira* sp em ovinos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.40, n.5, p.1235-1241, 2010.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Guia de vigilância Epidemiológica*. 6 ed., p.502-520, Brasília, 2005.

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

NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. Patologias do Útero Gestante. In: _____. Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 6, p. 70-83, 2008.

OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. *World Organisation for Animal Health*, Paris. 2008.

OLIVEIRA, F.C.S.; AZEVEDO, S.S.; PINHEIRO, S.R.; BATISTA, C.S.A.; MORAES, Z.M.; SOUZA, G.O.; GONÇALES, A.P.; VASCONCELLOS, S.A. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 5, p. 398-402, 2010.

OLIVEIRA, D.S.C.; GUIMARÃES, M. J. B.; MEDEIROS, Z. Modelo produtivo para Leptospirose. *Revista de Patologia Tropical*, v. 38, n.1, p.17-26, 2009.

OLIVEIRA, S. J. Infecções no trato urinário em suínos. *Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor*, Guaíba-RS, v. 1, n. 130, p. 71-85, 1988.

PASQUALI, A. K. S.; CHIDEROLI, R.T.; BENITEZ, A.N.; CALDART, E.T.; EVERS, F.; FORTES, M.S.; FERREIRA, F.P.; MONTEIRO, K.C.; GIORDANO, L.G.P.; FREIRE, R.L.;

FREITAS, J.C.; NAVARRO, I.T. Estudo Transversal de *Leptospira* spp. em Caprinos do Estado do Paraná, Brasil 2016. Disponível em <http://eduem.uem.br/ojs/index.php/RevCiVet/view/33255/pdf>. Acesso em 04 junho 2017.

PUGH, D.G. Clínica de ovinos e caprinos São Paulo: *Roca*, p. 203-204, 2004.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.; CARTER, M.; CARTER, G.R. Clinical veterinary microbiology. St Louis, United States: *Mosby*, 2nd Revised edition, p. 720, 2013.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Veterinary medicine. Philadelphia: *Saunders*, p.1877, 2000.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W.. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9ª ed. Rio de Janeiro: *Guanabara Koogan*, p. 874-887, 2007.

RISSI, D. R.; PIEREZAN, F.; OLIVEIRA FILHO, J.C.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; KOMMERS, G.D.; BARROS, C.S.L. Doenças de ovinos da região Central do Rio Grande do Sul: 361 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 30, n. 1, p. 21-28, 2010.

SCARCELLI, E.; PIATTI, R.M.; CARDOSO, M.V.; MIYASHIRO, S.; CAMPOS, F.R.; TEIXEIRA, S.; CASTRO, V.; GENOVEZ, M.E. Detecção de agentes bacterianos pelas técnicas de isolamento e identificação e PCR - Multiplex em fetos bovinos abortados. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.28, n.1, p.23-27, 2004.

SACSAQUISPE-CONTRERAS, R.; GLENNY, A.M.; CÉSPEDES, Z.M. Estudio preliminar de leptospirosis en roedores y canes en Salitral, Piura - 1999 *Revta Peru. Med. Exp. Salud Pública* v. 20, n.1, p. 39-40, 2003.

SEIXAS, L. S.; MELO, C.B.; MOREIRA, E.C.; MCMANUS, C.M.; CASTRO, M.B. Anti-Leptospira sp. agglutinins in ewes in the Federal District, Brazil. *Trop Anim Health Prod.* v. 43, p.9-11, 2011.

SHIMABUKURO, F. H.; DOMINGUES, P.F.; LANGONI, H.; SILVA, A.V.; PINHEIRO, J.P.; PADOVANI, C.R. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospirosas pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. *Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science*, v.40, n.1, p.243-253, 2003.

SOTO, F. R. M.; VASCONCELLOS, S.A.; PINHEIRO, S.R.; BERNASI, F.; CAMARGO, S.R. Leptospirose Suína. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.74, n.4, p.379-395, 2007.

SOUSA, S.A.P.; PEREIRA JUNIOR, R.A.; MARTINS, N.É.X.; ALMEIDA, K.S. Leptospirose e a infecção de ovinos. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, ano XII, v.23, 2014.

TRUBO, R. Leptospira brings fresh challenge to adventure sports. *Lancet Infect. Dis.* v. 1, p.73, 2001.

VASCONCELLOS, J.L.F.; GEWANDSZNAJDER, F. Programas de Saúde. 6ª ed. São Paulo : *Ática*, 1983.

VIANA, J.G.A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. *Revista Ovinos*, Ano 4, n. 12, Porto Alegre, 2008.

VIEGAS, E. A.; YANAGUITA, R.M.; VIEGAS, S.A.R.A.; SILVA, L.A.; VASCONCELLOS, S.A. Emprego de Estirpes de *Leptospira Biflexa* na Prova de Soroaglutinação Microscópica Aplicada ao Diagnóstico da Leptospirose Caprina e Ovina. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.* São Paulo, v. 31. n. I, p. 25-30. 1994.

WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION. Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003. Acessado em: 20 abr. 2017. Online. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf>.

YANAGAWA, R.; KAWASHIMA, H.; HIROTA, E. Studies on the bovine leptospirosis in Japan. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, v. 29, p. 261-275, 1955.

ZAMORA, J.; RIEDEMANN, S.; TADICH, N.A. A serological survey of leptospirosis in sheep in Chile. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, v.41, n.2, p.73-76, 1999.

ZUNINO, E.M.; ROLANDO, P.P. Leptospirosis: puesta al día. *Revista Chilena de Infectología*, v.24, n.3, p. 220-226, 2007.

ANEXO

Normas para Sêmima: Ciências Agrárias

FOR THE VETERINARY FIELD, THE MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED IN CASE OF THE FOLLOWING:

a) Publication of case reports is restricted; only articles with great relevance and originality that make a real contribution to the advance of knowledge in the field will be selected for processing.

Work Categories

- a) Scientific articles: maximum of 20 pages, including figures, tables, and bibliographic references
- b) Scientific communications: maximum of 12 pages, with bibliographic references limited to 16 citations and a maximum of two tables, two figures, or a combination of one table and one figure
- c) Case reports: maximum of 10 pages, with bibliographic references limited to 12 citations and a maximum of two tables, two figures, or one table and one figure
- d) Review articles: maximum of 25 pages, including figures, tables, and bibliographic references

Presentation of the Work

Complete original articles, communications, case reports, and reviews should be written in Portuguese or English using Microsoft Word for Windows, on A4-size paper, with lines numbered per page, 1.5 spacing between lines, Times New Roman font, size 11 normal, 2 cm margins on all sides, with pages numbered on the upper right corner and following the guidelines for the maximum number of pages according to the category of the work.

Figures (drawings, graphics, and photographs) and tables should be numbered with Arabic numerals, should be included at the end of the work immediately after the bibliographic references, and should be cited within the text. In addition, the figures must be of good quality and must be attached in their original format (JPEG, TIFF, etc.) in Docs Sup on the submission page. Figures and tables will not be accepted if they do not comply with the following specifications: width of 8 cm or 16 cm with maximum height of 22 cm. If the figure has greater dimensions, it will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions.

Note: Figures (Ex. **Figure 1.** Title) and tables (**Table 1.** Title) should have a width of 8 cm or 16 cm with maximum height of 22 cm. Those with greater dimensions will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions. For any tables and figures that are not the author's original work, a citation to the source consulted is mandatory. Place this citation below the table or figure and indicate using a smaller font (Times New Roman 10).

Ex: "**Fonte**": IBGE (2017), or **Source**: IBGE (2017).

Manuscript preparation**Scientific article:**

Scientific articles should report results of original research on the related areas, with the sections organized in the following way: Title in English; Title in Portuguese; Abstract in English with keywords (maximum six words, in alphabetic order); Abstract in Portuguese with keywords (maximum six words, in alphabetical order); Introduction; Materials and Methods; Results and Discussion, with Conclusions at the end of the Discussion or Results (Discussion and Conclusions should be written separately); Acknowledgements; Suppliers, if applicable; and Bibliographic References. The headings should be in boldface without numbering. If there is a need to include a sub-heading within a section, it should be placed in italics, and if there are further sub-topics to include under a sub-heading, these should be numbered with Arabic numerals. (Example: **Materials and Methods, Areas of study, 1. Rural area, 2. Urban area.**)

The submitted work cannot have been published elsewhere with the same content, except in the form of an Abstract in Scientific Events, Introductory Notes, or Reduced Format.

The work should be presented in the following order:

- 1. Title of the work**, accompanied by its translation in Portuguese, if appropriate.

2. Abstract and Keywords: An informative abstract with a minimum of 200 words and a maximum of 400 words must be included, in the same language used in the text of the article, accompanied by an English translation (*Abstract and Keywords*) if the text has not been written in English.

3. Introduction: The introduction must be concise and contain only the review that is strictly necessary to introduce the topic and support the methodology and discussion.

4. Materials and Methods: This section may be presented in a continuous, descriptive way or with sub-headings to allow the reader to understand and be able to repeat the methodology cited with or without the support of bibliographic citations.

5. Results and Discussion: *This section* must be presented in a clear way, with the aid of tables, graphs, and figures, so that it does not raise any questions for the reader with regard to the authenticity of the results and points of view discussed.

6. Conclusions: *These* must be clear and presented according to the objectives proposed in the work.

7. Acknowledgements: People, institutions, and companies that contributed to the work should be mentioned at the end of the text, before the Bibliographic References section.

Note:

Notes: Each note regarding the body of the text must be indicated with a superscripted symbol immediately after the phrase it concerns and must be included as a footnote at the end of the page.

Figures: The figures that are deemed essential will be accepted and should be cited in the text by their numeric order, in Arabic numerals. If any submitted illustrations have already been published, the source and permission for publication should be stated.

Tables: Tables should be accompanied by a header that will allow understanding of the data collected without the need to use the body of the text for reference.

Quantities, units, and symbols:

- a) Manuscripts should be in agreement with the criteria established in the International Codes for each subject area.
- b) Use the International System of Units in all text.
- c) Use the negative power format to note and present related units: e.g., kg ha⁻¹. Do not use the forward slash symbol to relate units: e.g., kg/ha.
- d) Use a simple space between units: g L⁻¹, not g.L⁻¹ or gL⁻¹.
- e) Use 24-hour time representation with four digits for the hours and minutes: 09h00, 18h30.

8. In-text author citations

Citations must be followed by the year of publication, and multiple citations should follow the alphabetical order system, according to the following examples:

- a) The results by Dubey (2017) confirmed that
- b) According to Santos et al. (2017), the effect of nitrogen
- c) Beloti et al. (2017b) assessed the microbiological quality
- d) [...] and inhibit the test for syncytium formation (BRUCK et al., 2017).
- e) [...] compromising the quality of its derivatives (AFONSO; VIANNI, 2017).

Citations with two authors

In citations of sources that have two authors, the authors' names are separated by a semicolon when citing them within parentheses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2017).

Use *and* when the authors are included in the sentence rather than cited in parentheses.

Ex: Pinheiro and Cavalcanti (2017).

Citing more than two authors

Indicate the first author followed by the expression et al.

Within parentheses, separate references with a semicolon when more than one reference is cited.

Ex: (RUSSO et al., 2017) or Russo et al. (2017); (RUSSO et al., 2017; FELIX et al., 2017).

Citing multiple documents by the same author, published in the same year

Add lowercase letters, in alphabetical order, after the date and without a space.

Ex: (SILVA, 2017a, 2017b).

Citing multiple documents by the same author, published in different years

Separate the dates with a comma.

Ex: (ANDRADE, 2015, 2016, 2017).

Citing various documents by various authors, mentioned simultaneously

Place the citations in alphabetical order, separated by a semicolon.

Ex: (BACARAT, 2017; RODRIGUES, 2017).

9. References: The references, according to the standard NBR 6023, Aug. 2000, and reformulation number 14.724 of the Brazilian Technical Standards Association (ABNT), 2011, must be listed in alphabetical order at the end of the manuscript. **All the authors participating in a referenced study must be mentioned, regardless of the number of participants.** The accuracy and adequacy of references for works that have been consulted and mentioned in the text of the article, as well as opinions, concepts, and statements, are entirely the responsibility of the authors.

Note: Consult recently published issues of *Semina: Ciências Agrárias* for more details about how to format references in the article.

The remaining categories of works (Scientific Communication, Case Report, and Review) must follow the above-mentioned standards but with the following additional directions for each category:

Scientific communication

Scientific communications must be presented in a concise manner but with a complete description of the term research or ongoing research (Introductory note), with complete bibliographic documentation and methodologies, similar to a regular scientific article. Scientific communications must contain the following sections: Title (in Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; and Body of the text. The body of the text should not be divided into sections but should follow this sequence: introduction, methodology, results and discussion (tables and figures may be included), conclusion, and bibliographic references.

Case report

A case report should be a brief description of clinical and pathological cases, unprecedented results, reporting of new species, or studies on the occurrence or incidence of plagues, microorganisms, or parasites of agronomic, zootechnical, or veterinary interest. The case report must contain the following sections: Title (Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; Introduction with a literature review; case report(s), including results, discussion, and conclusion; and bibliographic references.

Bibliographic review articles

Review articles must involve relevant topics within the scope of the journal. The number of review articles per issue is limited, and authors can only write review articles of interest to the journal, following an invitation by the editorial board members of the journal. If a review article is submitted by an author, the inclusion of relevant results from the author or from the group involved in the study is required, along with bibliographic references demonstrating experience and knowledge about the topic.

A review article must contain the following sections: Title (Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; Development of the proposed topic (the text may be divided into sections, but this is not required); Conclusions or Final Considerations; Acknowledgements (if applicable); and Bibliographic References.

Other important information

1. The publication of articles depends on the favorable opinion of ad hoc advisors and the approval of the *Semina: Ciências Agrárias* UEL Editorial Board.
2. Reprints will not be given to the authors, since the issues will be available online at the journal's website (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
3. Copyright transfer: The authors agree with the transfer of publication rights of the manuscript to the journal. Reproduction of the articles is only allowed when the source is cited. Commercial use of the information is forbidden.
4. Unforeseen questions about or problems in the present standards will be addressed by the Editorial Board of the subject area in which the article was submitted for publication.
5. *Number of authors*: There is no limit to the number of authors, but people included as co-authors should have effectively participated in the study. People with limited participation in the study or the article preparation should be cited in the Acknowledgements section, as should institutions that granted scholarships and other financial resources.