

**ACIDÁLIA CLAUDINO MACHADO**

**ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO POR *LEPTOSPIRA*  
SPP. EM PEQUENOS RUMINANTES NO AGRESTE E NO SERTÃO  
PERNAMBUCANO**

**GARANHUNS-PE**

**2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E**  
**REPRODUÇÃO DE RUMINANTES**

**ACIDÁLIA CLAUDINO MACHADO**

**ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO POR *LEPTOSPIRA***  
**SPP. EM PEQUENOS RUMINANTES NO AGRESTE E NO SERTÃO**  
**PERNAMBUCANO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior

Coorientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

**GARANHUNS-PE**

**2013**

Ficha catalográfica  
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Setorial UFRPE/UAG

M149a Machado, Acidália Claudino  
Análise epidemiológica da infecção por *Leptospira*  
spp. em pequenos ruminantes no Agreste e no Sertão  
Pernambucano/ Acidália Claudino Machado. – Garanhuns,  
2013.

f

Orientador: José Wilton Pinheiro Júnior  
Dissertação (Mestrado em Sanidade e Reprodução de  
Ruminantes) - Universidade Federal Rural de Pernambuco  
– Unidade Acadêmica de Garanhuns, 2013.  
Inclui Anexos e Bibliografias

CDD 370

CDD: 636.089

- Epidemiologia
  - Pequenos ruminantes
  - *Leptospira* spp
  - Estudos quantitativos
- I. Pinheiro Júnior, José Wilton  
II. Título

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E**  
**REPRODUÇÃO DE RUMINANTES**

**ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DA INFECÇÃO POR *LEPTOSPIRA***  
**SPP. EM PEQUENOS RUMINANTES NO AGRESTE E NO SERTÃO**  
**PERNAMBUCANO**

Dissertação elaborada por  
**ACIDÁLIA CLAUDINO MACHADO**

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Júnior  
Presidente da banca – Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

Prof. Dr. Luis Antonio Mathias  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal/UNESP

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota  
Universidade Federal Rural de Pernambuco/Campus Recife

Prof. Dr. Daniel Friguglietti Brandespim  
Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

## DEDICATÓRIA

Àqueles que infelizmente não tive a oportunidade de conhecer, meus avós paternos:  
Acidália Pereira Machado (*in memorian*) e Antônio Marques Machado (*in memorian*).

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda a experiência vivida.

A minha família, Marcos Antônio (pai), Maria Consuelo (mãe), Yaçanan Claudino e Talyta Claudino (irmãs), por serem os maiores incentivadores em todos os meus passos.

Ao Professor Júnior, pelo imensurável aprendizado e inenarrável honra em ser orientada por ele.

Aos Professores Daniel Brandespim e Rinaldo Mota, por toda a contribuição em minha vida acadêmica e para a realização deste trabalho.

Aos que colaboraram com as coletas, Luenda de Meneses, Leandro e Leonando, Sandra Santos, Bruno Alves, André Mota, Givanildo Silva, Júnior Mario, Érica Chaves e Juliana Pimentel.

A todos que fazem parte do Laboratório de Diagnóstico de Brucelose e Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. Em especial aos Professores Raul José da Silva Giro e Luis Antônio Mathias, pela oportunidade em processar minhas amostras com vocês. E ao Nivaldo Assis, técnico do laboratório, por toda sua disponibilidade e paciência em me ensinar a técnica de diagnóstico.

Aos coleguinhas do Laboratório LARICA, Adalberto Leite, Breno Santana, Érica Chaves, Gésika Maria, Juliana de Lima, Júnior Mario, Saruanna Millena e Pollyanne Fernandes, pelos momentos de trabalho, estudo, cooperação, descobertas e divertidos ao lado de vocês.

Aos colegas de mestrado Elâne Cordeiro, Francisco David, Catiucia Maia, Pábola Santos, Jomel Francisco, Luis Eduardo, Jobson Filipe, por toda a experiência convvida com ou absorvida de vocês.

As amigas mais que queridas Renata Pimentel, Marcela Samico, Lauana Muniz, Ana Paula Xavier, Elâne Cordeiro, Angélica Martina e Ana Rebeca. As amigas ir Fernanda Barbosa, Vanessa Anny, Camila Cardoso, Joyci d'Paula. As que se fazem as que me faço perto não importa a distância nem a circunstância.

A CAPES, pela concessão da bolsa durante o período de realização do mestrado.



Ao PROCAD/CAPES pela possibilidade de intercambio com a UNESP/ Jabotical.

A todos que, mesmo não citados, por falha de memória, fizeram parte dos desafios e das conquistas alcanças durante essa caminhada. Muitíssimo Obrigada.

## RESUMO

Objetivou-se com este estudo caracterizar a situação epidemiológica da infecção por *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes nas mesoregiões Agreste e do Sertão do Estado de Pernambuco, Brasil. O inquérito soro-epidemiológico foi realizado em 902 animais (476 caprinos e 426 ovinos) com idade superior a um ano, em 23 propriedades. Utilizou-se a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), empregando-se 23 sorovares patogênicos de *Leptospira* spp. como antígenos; o ponto de corte utilizado foi 1:100. Para o estudo de fatores de risco aplicou-se um questionário investigativo padronizado, constituído por perguntas objetivas ao criador, referentes às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário. Das 902 amostras analisadas, 213 (23,6%; I.C. 20,9% - 26,5%) foram positivas, sendo 27,3% (130/476; I.C. 23,4% - 31,6%) caprinos e 19,5% (83/426; I.C. 15,9% - 23,6%) ovinos. Os sorovares mais prevalentes em caprinos foram Autumnalis (54,1%), Icterohaemorrhagiae (15,0%) e Copenhageni (10,8%), enquanto nos ovinos foram Autumnalis (32,4%), Icterohaemorrhagiae (14,0%) e Castellonis (9,8%). Houve maior dispersão do sorovar Autumnalis em caprinos e do Icterohaemorrhagiae em ovinos. Em relação ao número de focos, observou-se que para a espécie caprina 87,5% (14/16) das propriedades foram consideradas focos, enquanto para ovinos foram 92,8% (13/14). Foi possível ainda identificar áreas de maior densidade de focos, apontadas como de maior risco, sendo para caprinos o Sertão e para ovinos as três microrregiões estudadas. Quanto aos fatores de risco, foram observadas diferenças significativas entre sexo para caprinos (OR=0,40; I.C. 0,18 – 0,88) e ovinos (OR=0,38; I.C. 0,14 – 0,99); sistema de criação (OR=2,03; I.C. 1,07 – 3,84), tipo de rebanho (OR=2,28; I.C. 1,39 – 3,72), ausência do acesso de ratos a ração (OR=0,55; I.C. 0,34 – 0,91) e restrição a águas de superfície (OR=0,60; I.C. 0,37 – 0,99) para a espécie ovina. São múltiplos os fatores que podem influenciar a ocorrência da leptospirose nos rebanhos de pequenos ruminantes do Agreste e do Sertão de Pernambuco. A implantação de programas de educação em saúde e o treinamento da mão de obra em métodos de prevenção e controle da leptospirose e outras doenças infecciosas podem ser úteis na redução dos casos de infecção e na minimização das perdas econômicas causadas por esta enfermidade.

**Palavras-chave:** epidemiologia, leptospirose, caprinos, ovinos, Pernambuco.

## ABSTRACT

The aim of the present study was to characterize the epidemiological situation and spatial distribution of *Leptospira* spp. infection of small ruminants in the *Agreste* and *Sertão* regions of the state of Pernambuco (Brazil). The search for antibodies was conducted with 902 animals (476 goats and 426 sheep), which were at least a year old, on 23 separate properties. The microscopic agglutination test (MAT) was applied, using 23 pathogenic serovars of *Leptospira* spp. as antigens. The cutoff point used was 1:100. A standardized investigative questionnaire was used to study the risk factors. This questionnaire contained objective questions for the breeder related to the general characteristics of the property, as well as reproduction and sanitary conditions on the property. Of the 902 samples analyzed, 213 (23.6% C.I. 20.9% - 26.5%) were positive, which included 27.3% (130/476 C.I. 23.4% - 31.6%) of goats and 19.5% (83/426 C.I. 15.9% - 23.6%) of sheep. The most common serovars were Autumnalis (54.1%), Icterohaemorrhagiae (15.0%) and Copenhageni (10.8%) among goats and Autumnalis (32.4%), Icterohaemorrhagiae (14.0%) and Castellonis (9.8%) among sheep. The most widespread serovar was Autumnalis in goats and Icterohaemorrhagiae in sheep. There was at least one positive animal (from one or both species) on all of the properties. In total, 87.5% (14/16) of the properties were considered to contain foci associated with goats. This figure was 92.8% (13/14) for sheep. It was possible to identify areas of a greater density of foci, which were higher risk areas, such as the *Sertão* for goats and three of the micro-regions studied for sheep. In terms of the risk factors, significant differences were found for the gender of goats (OR=0.40; C.I. 0.18 – 0.88) and sheep (OR=0.38; C.I. 0.14 – 0.99), the breeding system used (OR=2.03; C.I. 1.07 – 3.84), the type of herd (OR=2.28; C.I. 1.39 – 3.72), an absence of rats in food (OR=0.55; C.I. 0.34 – 0.91) and restricted surface water (OR=0.60; C.I. 0.37 – 0.99) for sheep. Many factors can affect the occurrence of leptospirosis in herds of small ruminants in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco. Health education and employee training programs related to prevention and control methods for leptospirosis and other infectious diseases could help to reduce the number of infections and consequently, the economic losses caused by this disease.

**Keywords:** epidemiology; leptospirosis; goats; sheeps; Pernambuco

## LISTA DE FIGURAS

### Artigo 2

- Figura 1. Prevalence of *Leptospira* spp. infection in goats superimposed on the pluviometric precipitation 60
- Figura 2. Distribution of serovars of *Leptospira* spp. by property with seropositive goats in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco 60
- Figura 3. Kernel prevalence of *Leptospira* spp. infection in goats in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco 61
- Figura 4. Foci of the prevalence of *Leptospira* spp. infection in sheep superimposed on the pluviometric precipitation 61
- Figura 5. Distribution of serovars of *Leptospira* spp. by property with seropositive sheep in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco 62
- Figura 6. Kernel prevalence of *Leptospira* spp. infection in sheep in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco 62

## LISTA DE TABELAS

### Revisão de Literatura

- Tabela 1. Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e principais variantes sorológicas em caprinos nas diversas unidades federativas do Brasil 18
- Tabela 2. Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e principais variantes sorológicas em ovinos nas diversas unidades federativas do Brasil 19

### Artigo 1

- Tabela 1. Distribuição dos sorovares de *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes, no Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco, Brasil, 2012 41
- Tabela 2. Regressão logística dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp, em caprinos, no Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco, 2012 41
- Tabela 3. Regressão logística dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp, em ovinos, no Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco, 2012 41

# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>14</b>
	<b>2.1 Geral</b>	<b>14</b>
	<b>2.2 Específicos</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>15</b>
	<b>3.1 Agente Etiológico</b>	<b>15</b>
	<b>3.2 Epidemiologia</b>	<b>15</b>
	<b>3.3 Patogenia e Sinais Clínicos</b>	<b>20</b>
	<b>3.4 Diagnóstico</b>	<b>21</b>
	<b>3.5 Controle e Profilaxia</b>	<b>22</b>
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGOS CIENTÍFICOS</b>	<b>29</b>
	<b>5.1 Artigo 1</b>	<b>29</b>
	<b>5.2 Artigo 2</b>	<b>42</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>APENDICE A. Questionário Investigativo</b>	<b>64</b>
<b>8</b>	<b>APENDICE B. Termos de Autorização de Dados</b>	<b>67</b>
<b>9</b>	<b>ANEXO A. Normas para Publicação de Periódico Transboundary and Emerging Diseases</b>	<b>68</b>
<b>10</b>	<b>ANEXO B. Normas para Publicação de Periódico Geospatial health</b>	<b>73</b>
<b>11</b>	<b>ANEXO C. Licença para Uso de Animais em Pesquisa</b>	<b>76</b>
<b>12</b>	<b>ANEXO D. Comprovante de Submissão do Artigo 2</b>	<b>78</b>

# 1 INTRODUÇÃO

A caprinovinocultura tem se destacado no agronegócio brasileiro como atividade de grande alcance social e econômico (BORBA, 2004). O rebanho nacional de caprinos tem aproximadamente nove milhões de cabeças, enquanto o de ovino é 16 milhões. A maior concentração deste efetivo está localizada na Região Nordeste (68,8%), e no Estado de Pernambuco os valores efetivos de caprinos e ovinos são, respectivamente, 1.638.514 e 1.487.228 cabeças, distribuídas em cinco mesorregiões (Sertão, São Francisco, Agreste, Mata e Região Metropolitana do Recife) (IBGE, 2011).

Apesar da importância dos pequenos ruminantes nos sistemas de produção, em países em desenvolvimento a produtividade de leite e carne permanece insatisfatória. Algumas doenças infecciosas podem contribuir para este cenário (MARTINS et al., 2012b).

A leptospirose em caprinos e ovinos normalmente apresenta-se de forma assintomática, e é considerada a mais importante, pois garante a permanência de animais portadores, favorece a disseminação do agente nos rebanhos e aumenta o risco de infecção de outros animais e humanos, mantendo a doença enzoótica na propriedade (HERRMANN et al., 2004; ARAÚJO NETO et al., 2010).

A interação entre os elementos da tríade ecológica, isto é, agente, hospedeiro e ambiente, é um fator importante no estudo das doenças infecciosas, como a leptospirose (FONZAR, 2010). Alguns fatores que contribuem para a ocorrência da infecção nos rebanhos, são aqueles relacionados ao ambiente e/ou manejo que, direta ou indiretamente, contribuem para a introdução, manutenção e disseminação da *Leptospira* spp. nos rebanhos (RADOSTITS et al., 2002).

A atualização de indicadores epidemiológicos, a identificação dos fatores de risco e a caracterização da distribuição espacial da leptospirose fornece alternativas para a elaboração de planos de prevenção e controle desta infecção e desta forma contribui para um aumento na produtividade dos rebanhos. Além disso, por esta enfermidade se tratar de uma zoonose, é importante que se conheça o *status* sanitário do rebanho, uma vez que o manejo inadequado de caprinos e ovinos infectados pode oferecer riscos às pessoas envolvidas na cadeia produtiva da caprinovinocultura.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Estudar os aspectos epidemiológicos relacionados à infecção por *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes nas mesorregiões Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco.

### 2.2 Específicos

- Verificar a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em caprinos e ovinos nas mesorregiões Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco, por meio da técnica de soroaglutinação microscópica.
- Verificar a soroprevalência dos diferentes sorovares de *Leptospira* spp. em caprinos e ovinos nas mesorregiões Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco.
- Identificar os fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em caprinos e ovinos;
- Caracterizar a distribuição espacial da infecção por *Leptospira* spp. e dos sorovares em caprinos e ovinos nas mesorregiões Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Agente etiológico

A leptospirose é causada por espécies patogênicas de *Leptospira* spp. (LEVETT, 2001). As leptospirosas são organismos móveis, unicelulares e espiralados (BERNARD, 1993). Possuem dois flagelos inseridos em cada polo da célula, que são responsáveis por sua mobilidade, medem cerca de 0,25 µm de diâmetro por 6-25µm de comprimento. São aeróbias obrigatórias, catalase e oxidase positivas, possuem crescimento ótimo à temperatura de 20 a 30°C, e faixa de pH ideal entre 6,8 e 7,4 (BHARTI et al., 2003; ADLER; de la PEÑA MOCTEZUMA, 2010). Pertencente à família *Leptospiraceae*, este gênero possui espécies patogênicas e saprófitas, classificadas em mais de 200 sorovares (FRAGA; BARBOSA; ISAAC, 2011).

Todas as leptospirosas patogênicas eram anteriormente classificadas como membros da espécie *Leptospira interrogans*, no entanto, o gênero foi recentemente reorganizado pelo Subcomitê de Taxonomia da Leptospirose, e as leptospirosas patogênicas são agora identificadas em 13 espécies: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii*, *L. wolffii*, com mais de 260 sorovares. As espécies saprófitas incluem: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, que contem mais de 60 sorovares (OIE, 2009; ADLER; de la PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

#### 3.2 Epidemiologia

A doença é registrada nos cinco continentes, variando sua prevalência consideravelmente entre rebanhos, regiões, países e condições edafoclimáticas (BORBA, 2004).

A pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em caprinos e ovinos conduzida pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) tem sido realizada em diversos países.

Rocha (1998) analisou os resultados sorológicos obtidos no Laboratório Nacional de Pesquisa Veterinária, em Portugal, no período de janeiro de 1987 a dezembro de 1993. Dos 1.631 caprinos examinados, 5,0% apresentaram resultados positivos, principalmente para os sorovares Grippytyphosa, Canicola, Pomona, Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. No Tyrol do Sul, província da Itália, foram pesquisados anticorpos anti-*Leptospira* na espécie caprina (n=95), obtendo-se a soroprevalência de 2,1%. Títulos para o sorovar Poi foram os únicos encontrados (CICERONI et al., 2000). Em 2007, na Polônia, foi pesquisada a soroprevalência em 736 caprinos, sendo verificada positividade bastante elevada (89,8%), e os sorovares Zaroni, Bratislava, Autumnalis, Australis e Javanica foram detectados com maior frequência (CZOPOWICZ et al., 2011).

Em Trindade, de um total de 180 soros caprinos analisados, 3,3% foram soropositivos, para os sorovares Copenhageni, Mankarso e Icterohaemorrhagiae (SUEPAUL et al., 2011). Em estudo realizado no norte do Irã em 150 caprinos, detectou-se soroprevalência de 13,3%, sendo o sorovar Grippytyphosa (80,0%) o mais reagente, seguido apenas pelo Pomona (HASSANPOUR et al., 2012). Na Venezuela foi verificada em caprinos a soroprevalência de 77,8% para a leptospirose, tendo como sorovares prevalentes: Hebdomadis, Mini, Javanica, Wolffii e Grippytyphosa (VALERIS-CHACÍN et al., 2012).

Na Itália, província Tyrol do Sul, foram pesquisados anticorpos em soros de 313 ovinos, obtendo-se a soroprevalência de 6,1%, observadas as reações aos sorovares Castellonis, Poi e Sejroe (CICERONI et al., 2000). Em análise retrospectiva em Portugal, abrangendo o período de janeiro de 1987 a dezembro de 1993, verificou-se que das 5.298 amostras de soro de ovinos analisadas 3,3% obtiveram positividade. Os sorovares predominantes envolvidos foram Canicola, Pomona, Cynopteri, Sejroe e Icterohaemorrhagiae (ROCHA, 1998). Na Tunísia, a soroprevalência encontrada em 183 soros de ovinos foi de 25,0%, a maior parte dela pelo sorovar Copenhageni (98,0%) (KHBOU; HAMMAMI; KODJO, 2010). Suepaul et al. (2011), analisando 222 soros ovinos da Trindade, verificaram a soroprevalência em 5,0%, sendo os mais frequentes os sorovares Autumnalis e Icterohaemorrhagiae.

No Brasil, a infecção em bovinos por *Leptospira* spp. foi diagnosticada pela primeira vez em 1957 em São Paulo (HERRMANN, 2002), e em caprinos e ovinos em 1963 por Santa Rosa e Castro nesse mesmo Estado (SANTA ROSA; CASTRO, 1963).

Em um estudo retrospectivo analisando o banco de dados do Laboratório de Zoonoses Bacterianas da USP entre os anos de 1984 e 1997, Favero et al. (2002) citam as médias de proporções de animais positivos a pelo menos um sorovar, sendo em ovinos 0,7% (n=284), todos oriundos do Estado de São Paulo, enquanto para espécie caprina a média foi de 5,61% (n=1.941), originados dos estados de São Paulo (2,4%), Ceará (1,5%) e Paraíba (5,1%). Os sorovares mais frequentes foram: para ovinos o Icterohaemorrhagie em São Paulo; em caprinos o Icterohaemorrhagie no Ceará, Icterohaemorrhagie e Panama na Paraíba e Pyrogenes em São Paulo.

Estudos realizados pela técnica de soroaglutinação microscópica em alguns estados do Brasil têm revelado a presença de anticorpos anti-*Leptospira* no soro de caprinos (Tabela 1) e ovinos (Tabela 2). Verifica-se que há uma ampla variação na soroprevalência encontrada e diferença entre as variantes sorológicas encontradas nas regiões analisadas.

O principal modo de transmissão das leptospirosas é a água contaminada pela urina de animais infectados, principalmente, águas de superfície, como lagoas, lagos e açudes, onde os microrganismos podem permanecer por várias semanas. Solos úmidos, com pH neutro ou levemente alcalinos, também são favoráveis à manutenção do agente no ambiente (BROD; FEHLBERG, 1992). Também podem ser consideradas vias de transmissão a transplacentária e a mamária (GUIMARÃES et al., 1982/83). Desde que o trato genital foi identificado como sítio extraurinário da infecção por *Leptospira* spp., tem sido sugerida a possibilidade de infecção venérea. Em pequenos ruminantes, foi identificado o DNA do agente em fluido vaginal e sêmen e a partir dessa observação infere-se que possa haver potencial transmissão por esses materiais biológicos (LILENBAUM et al., 2008a).

Alguns fatores contribuem para a ocorrência da infecção nos rebanhos, como os relacionados ao ambiente e/ou manejo que, direta ou indiretamente, contribuem para a introdução, manutenção e disseminação da *Leptospira* spp. entre os animais, tais como: temperatura, aquisição de animais infectados, além do acesso dos animais a fonte de água contaminada, como riachos, rios ou alagamentos (RADOSTITS et al., 2002).

Informações de caráter epidemiológico, tais como baixa eficiência reprodutiva, elevada infestação de roedores, tipo de criação e exploração e criações consorciadas, entre outras, são variáveis de grande importância no estudo da prevalência e disseminação do agente (BORBA, 2004).

Tabela 1. Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e principais variantes sorológicas em caprinos nas diversas unidades federativas do Brasil

Autor (es)	Estado	Ano	N Amostral	Soroprevalência (%)	Variantes Sorológicas
Abuchaim; Schmidt	RS	1991	500	14,2	Icterohaemorrhagiae (10,6%) Pomona (1,4%) Castelloni; Hardjo (0,8%)
Caldas et al.	BA	1995/ 96	146	70,5	Jequitiaia (13,6%) Autumnalis (12,2%) Icterohaemorrhagiae (12,2%)
Cunha et al.	PE	1999	213	33,3	Canicola (77,4%) Autumnalis (36,6%) Pomona (8,4%)
Schmidt et al.	RS	2002	354	3,4	Icterohaemorrhagiae (2,5%) Hardjo (0,6%) Pomona (0,3%)
Lilenbaum et al.	RJ	2007	1000	11,1	Hardjo (72,1%) Wolffi (21,6%) Bratislava (4,5%)
Lilenbaum et al.	RJ	2008 b	248	20,8	Hardjo (36,5%) Shermani (30,8%) Icterohaemorrhagiae (9,6%)
Araújo Neto et al.	RN	2010	366	14,5	Autumnalis (73,6%) Australis (11,3%) Icterohaemorrhagiae (7,5%)
Higino et al.	PB	2012a	975	8,7	Autumnalis (1,7%) Sentot (1,7%) Whitcomb (1,3%)
Santos et al.	MG	2012	230	31,3	Autumnalis (30,3%) Tarassovi (19,2%) Pyrogenes (13,1%)
Martins et al.	RJ	2012 b	343	25,9	Hardjo (47,2%) Icterohaemorrhagiae (31,5%) Grippotyphosa (20,2%)

Segundo Langoni et al. (1995), os casos em ovinos estão associados a propriedades que adotam sistemas de criação consorciada com outras espécies. Mota et al. (1999) ressaltaram a relação existente entre o índice de positividade observado nos ovinos criados em sistema de criação semi-intensivo.

Tabela 2. Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp e principais variantes sorológicas em ovinos nas diversas unidades federativas do Brasil

Autor (es)	Estado	Ano	N Amostrai	Soroprevalência (%)	Variante Sorológicas
Langoni et al.	SP	1995	356	44,6	Icterohaemorrhagiae (51,2%) Castellonis (20,6%) Hardjo (19,6%)
Caldas et al.	BA	1995/96	105	63,8	Autumnalis (16,3%) Jequitaiia (15,2%) Buenos Aires (3,0%)
Mota et al.	PE	1999	173	57,8	Bratislava (72%) Canicola (23%) Castellonis (17%)
Herrmann et al.	RS	2004	1.360	30,1	Hardjo (28,4%) Sentot (16,8%) Hardjoprajtino (14,5%)
Aguiar et al.	RO	2010	141	33,3	Patoc (29,7%) Autumnalis (14,8%) Pyrogenes (10,6%)
Hashimoto et al.	PR	2010	70	38,5	Icterohaemorrhagiae (77,2%) Castellonis (9,0%)
Higino et al.	PB	2010	80	7,5	Autumnalis (6,2%) Icterohaemorrhagiae (1,2%)
Carvalho et al.	PI	2011	119	28,6	Autumnalis (29,4%) Castellonis (17,6%) Grippythosa (5,9%)
Salaberry et al.	MG	2011	334	22,2	Hardjo (23,6%) Autumnalis (22,4%) Grippythosa (14,4%)
Alves et al.	PB	2012	1275	28,2	Autumnalis (49,3%) Andamana (27,53%) Sentot (17,3%)
Martins et al.	RJ	2012b	308	47,4	Hardjo (51,4%) Icterohaemorrhagiae (32,2%) Grippythosa (11,6%)

Salaberry et al. (2011), em Minas Gerais, analisando rebanhos ovinos, observaram que alguns fatores relacionados a falhas de manejo apresentaram diferença significativa, principalmente no que diz respeito à introdução de animais no rebanho sem realização de quarentena ou conhecimento do *status* sanitário e a presença de reservatórios na propriedade.

Alves et al. (2012), estudando os fatores de risco em rebanhos ovinos do semiárido da Paraíba, verificaram que os animais criados em propriedades com mais de 48 animais têm duas vezes mais chances de se infectarem (OR=2,26), assim como animais que participavam de exposições tinham nove vezes mais chances que os que não participavam (OR=9,05). Esses mesmos autores citam que essas variáveis refletem as condições de aglomerações de animais, que são sabidamente favoráveis à disseminação de agentes infecciosos para os susceptíveis dentro das populações.

Analisando rebanhos de cabras leiteiras do Rio de Janeiro, Lilenbaum et al. (2008b) verificaram que animais de rebanhos em clima tropical têm 2,63 mais chances de serem sororreagentes do que os animais de rebanhos em clima temperado, e que a baixa frequência de supervisão veterinária também é fator de risco para leptospirose (OR = 2,35).

Em Uberlândia, MG, a idade foi associada com maiores níveis de ocorrência da infecção na espécie caprina. O risco relativo associado a este fator foi de 3,1, indicando que animais adultos têm três vezes mais risco de se infectarem quando comparados com animais mais jovens. Foram encontradas também diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre animais de raças definidas (37,50%) e mestiços (23,53%) (OR = 1,59) (SANTOS et al., 2012).

### **3.3 Patogenia e Sinais Clínicos**

A penetração do micro-organismo ocorre de forma ativa pelas mucosas (ocular, digestiva, respiratória), através da pele escarificada ou pele íntegra. O período médio de incubação é de 7 a 14 dias (BRASIL, 2005). Na fase de leptospiremia, que pode durar de poucas horas a sete dias, as bactérias se multiplicam na corrente sanguínea e em órgãos, especialmente no fígado, no baço e nos rins. Durante essa fase as leptospiros podem ser isoladas de vários órgãos e do fluído cerebrospinal. A doença aguda coincide com essa fase, que culmina com o surgimento de anticorpos circulantes, usualmente detectáveis no final da primeira semana após a infecção (GUIMARÃES et al., 1982/83; ELLIS, 1994).

Os micro-organismos que escapam da ação do sistema imune migram para o tecido renal e localizam-se principalmente nos túbulos contorcidos proximais e no trato genital de machos e fêmeas. Nos túbulos proximais, ocorre multiplicação, e a eliminação do agente

pela urina caracteriza o período de leptospiúria, de duração e intensidade variáveis, dependente da espécie animal e do sorovar infectante (GUIMARÃES et al., 1982/83; ELLIS, 1994).

Nos pequenos ruminantes, a enfermidade geralmente cursa de forma assintomática, embora os ovinos possam desenvolver síndrome hemorrágica associada com hemoglobinúria, anemia, distúrbios respiratórios ou sinais neurológicos (ANDRE-FONTAINE; GANIERE, 1990). Na forma aguda ainda observa-se: hipertermia, anorexia, depressão e icterícia (ADLER; de la PEÑA MOCTEZUMA, 2010; MARTINS et al., 2012b). No entanto, a forma crônica é caracterizada por infertilidade, óbitos neonatais, abortos, reabsorção embrionária e diminuição da produção de leite (LILENBAUM et al., 2009; MARTINS et al., 2012b).

### **3.4 Diagnóstico**

O diagnóstico laboratorial da leptospirose pode ser complexo e envolve testes que se enquadram em dois grupos. Um grupo de testes é empregado para detectar anticorpos anti-*Leptospira* spp. e um segundo grupo para identificar as leptospiplas, antígenos das leptospiplas, ou ácido nucleico nos tecidos ou fluídos corporais (OIE, 2009).

Na fase aguda, durante o período febril, as leptospiplas podem ser encontradas em sangue, linfa, urina, sêmen, leite, líquido cerebrospinal, fluído peritoneal e torácico, bem como em fragmentos de órgãos recolhidos na necropsia (rim, fígado, pulmão) e em produtos de aborto, tais como feto ou placenta (LUCHEIS; FERREIRA JÚNIOR, 2011). Os principais métodos diretos empregados no diagnóstico são a cultura bacteriana, a imunofluorescência direta, a histopatologia com corantes especiais à base de prata, e a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). A cultura bacteriana é o método definitivo de diagnóstico (OIE, 2009). Entretanto, tem como desvantagens baixas taxas de isolamento e crescimento microbiano lento, além de ser laborioso (LILENBAUM et al., 2008a; ADLER; de la PEÑA MOCTEZUMA, 2010; LUCHEIS; FERREIRA JÚNIOR, 2011). Pode ainda ser realizada a visualização direta do agente pela microscopia de campo escuro e o isolamento por inoculação em animais de laboratório. Entretanto, todas essas técnicas

são trabalhosas e geralmente aplicadas a casos individuais (LUCHEIS; FERREIRA JÚNIOR, 2011).

Vários protocolos de PCR para a detecção do DNA leptospírico no material clínico têm sido desenvolvidos desde a década de 1990, e a maioria deles relatam alta sensibilidade (ADLER; de la PEÑA MOCTEZUMA, 2010). Estudos têm demonstrado sua eficiência no diagnóstico quando feitas análises de fluidos vaginais e sêmen de caprinos (LILENBAUM et al., 2008a), tecidos renais de ovinos (SILVA et al., 2007) e amostras de urina em ambas as espécies (LILENBAUM et al., 2009).

A maioria dos casos de leptospirose é diagnosticada por sorologia (LEVETT, 2004). A soroaglutinação microscópica (SAM) é o teste de diagnóstico mais utilizado, por possuir elevada sensibilidade e especificidade, além de ser específico para sorovares, ou pelo menos sorogrupos, entretanto não pode diferenciar os anticorpos induzidos pela infecção daqueles induzidos pela vacinação (ADLER; de la PEÑA MOCTEZUMA, 2010). Essa técnica é considerada como a melhor prova para se empregar em pesquisas epidemiológicas, uma vez que pode ser utilizada em amostras de diversas espécies animais, e porque a variedade de antígenos utilizados pode ser aumentada ou diminuída, conforme necessário (LEVETT, 2004).

### **3.5 Controle e Profilaxia**

Para um programa de controle contra a leptospirose ser bem-sucedido deve incluir uma investigação completa das práticas de manejo do rebanho, que poderiam influenciar a ocorrência da infecção (LILENBAUM et al., 2008b).

Não é possível a erradicação das leptospiras do ambiente, no entanto é necessário conhecer o ciclo epidemiológico e os fatores de risco envolvidos em uma determinada região, para que sejam implementadas medidas de prevenção e controle adequadas (ANDRE-FONTAINE; GANIERE, 1990).

Ações gerais são aplicadas: a) as fontes de infecção: envolvem o diagnóstico e o tratamento de espécies domésticas (GUIMARÃES et al., 1982/83; BRASIL, 2005; LUCHEIS; FERREIRA JÚNIOR, 2011); combate aos reservatórios silvestres, principalmente os representantes da família Muridae (GUIMARÃES et al., 1982/83),

através de ações de antirratização e desratização (BRASIL, 2005); b) aos comunicantes: isolamento daqueles com sorologia desconhecida até que sejam testados (LUCHEIS, FERREIRA JÚNIOR, 2011); vigilância epidemiológica dos doadores de sêmen animal e controle sanitário da inseminação artificial (GUIMARÃES et al., 1982/83; BRASIL, 2005); c) ao meio ambiente: higienização de instalações, incluindo a remoção e destino adequado de excretas de animais e desinfecção local; coleta, condicionamento e destino adequado do lixo, principal fonte de alimento para roedores; armazenamento apropriado dos alimentos em locais inacessíveis a roedores (BRASIL, 2005); d) aos suscetíveis: imunização do rebanho com vacinas preparadas com os sorovares circulantes da região (BRASIL, 2005; LUCHEIS, FERREIRA JÚNIOR, 2011); seleção de animais de reposição quando negativos em exames laboratoriais (LUCHEIS, FERREIRA JÚNIOR, 2011).

A realização do controle de animais positivos para leptospirose apenas com vacinação não é totalmente eficaz, pois pode haver o aumento no número de animais atingidos uma vez que a vacinação não elimina o estado de portador (GIRIO et al., 2005). Além da vacinação é recomendado que se realize o tratamento dos portadores (LUCHEIS, FERREIRA JÚNIOR, 2011).

## 4 REFERÊNCIAS

ABUCHAIM, D.M.; SCHMIDT, V. Prevalência da leptospirose em caprinos provenientes de propriedades da Grande Porto Alegre. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**, v.19, p.15-19, 1991.

ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v.140, p.287-296, 2010.

AGUIAR, D.M. et al. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em ovinos do Município de Monte Negro, Estado de Rondônia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.529-532, 2010.

ALVES, C.J. et al. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslanados do semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.6, p. 23-528, 2012.

ANDRE-FONTAINE, G.; GANIERE, J.P. New topics on leptospirosis. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.13, n.3, p.163-168, 1990.

ARAÚJO NETO, J.O. et al. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.47, n.2, p.150-155, 2010.

BERNARD, W.D. Leptospirosis. **Veterinary Clinics of North America: Equine practice**, v.9, n.2, 435-444, 1993.

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

BORBA, M.A.C. **Estudo soroepidemiológico da leptospirose em caprinos e ovinos do Estado de Pernambuco**. 56f. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. Brasília, 2005. 816p.

BROD, C.S.; FEHLBERG, M.F. Epidemiologia da leptospirose em bovinos. **Ciência Rural**, v.22, n.2, p.239-245, 1992.

CALDAS, E.M. et al. Aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos e caprinos na região Nordeste do Estado da Bahia. **Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal da Bahia**, v.18, n.1, p.126-140, 1995/96.

CARVALHO, S.M. et al. Infecção por leptospirosas em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.8, p.637-642, 2011.

CICERONI, L.A. et al. 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.

CUNHA, E.L.P. et al. Pesquisa de aglutininas anti-leptospirosas em soro de caprinos no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.21, n.1, p.38-40 1999.

CZOPOWICZ, M. et al. Leptospiral antibodies in the breeding goat population of Poland. **Veterinary Record**, v.169, n.9, p.230, 2011.

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

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

FONZAR, U.J.V. **Análise geográfica da ocorrência da leptospirose em humanos e em cães na cidade de Maringá, Paraná, Brasil**. 104f. 2010. Tese (Doutorado em Doenças Tropicais) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2010.

FRAGA, T.R.; BARBOSA, A.S.; ISAAC, L. Leptospirosis: aspects of innate immunity, immunopathogenesis and immune evasion from the complement system. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.73, p.408-419, 2011.

GIRIO, T.M.S. et al. Uso de estreptomicina na eliminação da leptospirose em touros (*Bos taurus indicus*) naturalmente infectados pelo sorovar hardjo. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.161-170, 2005.

GUIMARÃES, M.C. et al. Epidemiologia e controle da leptospirose em bovinos, papel do portador e seu controle terapêutico. **Comunicação Científica Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.6/7, n.1/4, p.21-34, 1982/83.

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 dos Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.521-524, 2010.

HASSANPOUR, A. et al. Seroepidemiologic study of goats leptospirosis in Khoy-Iran. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.11, n.2, p.229-233, 2012.

HERRMANN, G.P. **Leptospira sp. em ovinos do Rio Grande do Sul soroprevalência e avaliação da imunogenicidade da bacterina *Leptospira hardjo***. 41f. 2002. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

HERRMANN, G.P. 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, p.443-448, 2004.

HIGINO, S.S.S. et al. Frequência de leptospirose em ovinos abatidos no município de Patos, Paraíba. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.3, p.525-527, 2010.

HIGINO, S.S.S. et al. Flock-level risk factors associated with leptospirosis in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. **PREVET**, 2012a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.005>>. Acesso em: 01 fev. 2013.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA- IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal. **Efetivo dos Rebanhos (ano 1974 a 2009)**. Brasil. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=73&z=t&o=24>>. Acesso em: 06 out. 2011.

KHBOU, M.K.; HAMMAMI, S.; KODJO, A. Anti-leptospiras antibodies seroprevalence in sheep from the Fahs region, Tunisia. **Revue de Medecine Veterinaire**, v.161, n.4, p.185-192, 2010.

LANGONI, H. et al. Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em soros ovinos do Estado de São Paulo, Brasil, utilizando provas de macroaglutinação em placa e soroaglutinação microscópica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.17, n.6, p.264-268, 1995.

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

LEVETT, P.N. Leptospirosis: A forgotten zoonosis? **Clinical and Applied Immunology Reviews**, v.4, p.435-448, 2004.

LILENBAUM, W. et al. A serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis-encephalitis vírus and *Leptospira* in dairy goats in Rio de Janeiro, Brasil. **The Veterinary Journal**, v.173, p.408-412, 2007.

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, 2008a.

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

LILENBAUM, W. et al. Identification of *Leptospira* spp. carriers among seroreactive goats and sheep by polymerase chain reaction. **Research in Veterinary Science**, v.87, p.16-19, 2009.

LUCHEIS, S.B.; FERREIRA JÚNIOR, R.S. Ovine leptospirosis in Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.17, n.4, p.394-405, 2011.

MARTINS, G. et al. Leptospirosis as the most frequente infectious disease imparinhg productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v.44, p.773-777, 2012b.

MOTA, R.A. et al. Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em soros de ovinos no Estado de Pernambuco-Brasil. **Pesquisa em Foco**, v.7, n.9, p.107-114, 1999.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE ANIMAL –OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. 2009. Disponível em:  
<[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.01.09\\_LEPTO.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.09_LEPTO.pdf)>.  
Acesso em: 26 mai. 2012.

RADOSTITS, O.M. et al.. **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 1737 p.

ROCHA, T. A review of leptospirosis in farm animals in Portugal. **Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)**, v.17, n.3, p.699-712, 1998.

SALABERRY, S.R.S. et al. Seroprevalence and risk factors of antibodies against *Leptospira* spp. in ovinos from Uberlândia municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.42, n.4, p.1427-1433, 2011.

SANTA ROSA, C.A.; PESTANA DE CASTRO, A.F. Presença de aglutininas anti-*Leptospira* em soros de ovinos e caprinos no Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.30, p.93-98, 1963.

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

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

SILVA, E.F. et al. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. **Veterinary Microbiology**, v.121, n.1-2, p.144-149, 2007.

SUEPAUL, S.M. et al. Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. **Tropical Animal Health and Production**, v.43, n.2, p.367-375, 2011.

VALERIS-CHACÍN, R. et al. Seroprevalence of leptospirosis and brucellosis in goat farms from Mauroa County, falcon state, Venezuela. **Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia**, v.22, n.3, p.231-237, 2012.

## **5 ARTIGOS CIENTÍFICOS**

### **5.1 Artigo 1**

**SOROPREVALÊNCIA E ANÁLISE DOS FATORES DE RISCO DE INFECÇÃO  
POR *LEPTOSPIRA* SPP. EM PEQUENOS RUMINANTES DO AGRESTE E DO  
SERTÃO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

(artigo a ser encaminhado ao periódico *Transboundary and Emerging Diseases*)

## **Soroprevalência e análise dos fatores de risco de infecção por *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes do Agreste e do Sertão de Pernambuco, Brasil**

### **RESUMO**

Objetivou-se com este trabalho analisar os aspectos epidemiológicos relacionados à infecção por *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes no Agreste e do Sertão do Estado de Pernambuco, Brasil. Para compor a amostra de estudo coletaram-se 902 amostras (476 caprinos, 426 ovinos) de animais com idade igual ou superior a um ano, não vacinados. A pesquisa de anticorpos foi realizada pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Para o estudo dos fatores de risco aplicou-se um questionário investigativo padronizado, constituído por perguntas objetivas ao criador, referentes às características gerais da propriedade, ao manejo produtivo, reprodutivo e sanitário. Das 902 amostras analisadas, 213 (23,6%; I.C. 20,9% - 26,5%) foram positivas, com título mínimo 1:100, sendo 27,3% (130/476; I.C. 23,4% - 31,6%) para caprinos e 19,5% (83/426; I.C. 15,9% - 23,6%) para ovinos. Foram observadas diferenças significativas entre sexo para caprinos (OR=0,40; I.C. 0,18 – 0,88) e ovinos (OR=0,38; I.C. 0,14 – 0,99), o sistema de criação (OR=2,03; I.C. 1,07 – 3,84), tipo de rebanho (OR=2,28; I.C. 1,39 – 3,72), ausência do acesso de ratos a ração (OR=0,55; I.C. 0,34 – 0,91) e restrição a águas de superfície (OR=0,60; I.C. 0,37 – 0,99) para a espécie ovina. São múltiplos os fatores que podem influenciar a ocorrência da infecção nos rebanhos de pequenos ruminantes do Agreste e do Sertão de Pernambuco. A implantação de programas de educação em saúde e o treinamento da mão de obra em métodos de prevenção e controle da leptospirose e outras doenças infecciosas podem ser úteis na redução dos casos de infecção e na diminuição das perdas econômicas causadas por esta enfermidade.

**Palavras-chaves:** epidemiologia, leptospirose, caprinos, ovinos.

### **INTRODUÇÃO**

A leptospirose é uma doença infectocontagiosa, que determina perdas econômicas em animais pecuários, caracterizadas principalmente pela redução do desempenho reprodutivo nos rebanhos (Aguiar et al, 2010).

A leptospirose em pequenos ruminantes geralmente apresenta-se de forma assintomática, esta é considerada a mais importante, pois garante a permanência de animais

portadores, favorecendo a disseminação do agente nos rebanhos e aumenta os riscos de infecção (Heremann et al, 2004; Araújo Neto et al, 2010).

Estudos realizados pela técnica de soroprecipitação microscópica em alguns estados do Brasil tem revelado a presença de anticorpos anti-*Leptospira* no soro de caprinos e ovinos, verificando-se ampla variação de soroprevalência e sorovares identificados (Cunha et al, 1999; Mota et al, 1999; Schimidt et al, 2002; Herrmann et al, 2004; Araújo Neto et al, 2010; Santos et al, 2012, Martins et al, 2012).

A infecção por *Leptospira* spp. em animais de produção tem sido associada a fatores ambientais, como temperatura, umidade, pH da água e do solo e presença de matéria orgânica (Escócio et al, 2010) e/ou fatores relacionados ao manejo, como: criação consorciada (Langoni et al, 1995), sistema de criação semi-intensiva (Mota et al, 1999), presença de reservatórios, não realização de quarentena na introdução de animais ao rebanho (Salaberry et al, 2011) e a participação em eventos de animais (Alves et al, 2012). Desta forma, objetivou-se com este trabalho analisar os aspectos epidemiológicos relacionados à infecção por *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes nas mesorregiões do Agreste e do Sertão do Estado de Pernambuco, Brasil.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo transversal foi realizado no período de janeiro a março de 2012. Os animais foram procedentes de 23 propriedades situadas em quatorze municípios das mesorregiões Agreste - Vale do Ipanema (Águas Belas, Itaíba, Pedra e Venturosa); e Sertão Pernambucano - Itaparica (Belém do São Francisco, Carnaubeira da Penha, Floresta, Itacuruba, Itaíba) e Sertão do Moxotó (Arcoverde, Custódia, Ibimirim, Inajá, Sertânia).

Para compor a amostra do estudo foi considerada uma prevalência da infecção por *Leptospira* spp. de 33,8% e 33,7% para caprinos e ovinos, respectivamente (Borba, 2004), o que determinou uma amostragem mínima de 344 animais para cada uma das espécies, considerando o nível de confiança de 95% e erro estatístico de 5% (Thrusfield, 2005). Como margem de segurança foram coletadas 902 amostras (476 – caprinos; 426 – ovinos).

Antes do procedimento da colheita de material biológico, aplicou-se um questionário investigativo padronizado, constituído por perguntas objetivas direcionadas ao

criador, referentes às características gerais da propriedade, manejo produtivo, reprodutivo e sanitário, para o estudo dos fatores de risco.

Para o diagnóstico sorológico empregou-se a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) (Galton et al, 1965; Cole et al, 1973), na qual utilizaram-se como antígenos 23 sorovares de leptospiros vivos cultivadas em meio EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris), livres de contaminação e autoaglutinação, sendo eles: Andamana, Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Canicola, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Hardjo, Hebdomadis, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Sentot, Shermani, Tarassovi, Whitcombi e Wolffi. Consideraram-se positivos os soros que apresentaram aglutinação de pelo menos 50% das leptospiros no campo microscópico a partir da diluição 1:100 (Galton et al, 1965; Cole et al, 1973; Silva et al, 2012).

Para identificar os fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. foi realizada uma análise univariada das variáveis de interesse pelo teste qui-quadrado de Pearson, ou Exato de Fisher, quando necessário, e posteriormente uma análise multivariada pelo modelo de regressão logística considerando como variável dependente o *status* sorológico do animal (positivo ou negativo). As variáveis independentes ou explanatórias consideradas no modelo foram aquelas que apresentaram significância estatística  $<0,20$ . Estipulou-se essa probabilidade para que possíveis fatores de risco do evento não fossem excluídos da análise. O programa EpiInfo 3.5.1. foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos.

## RESULTADOS

A prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em pequenos ruminantes foi de 23,6% (213/902; I.C. 20,9% – 26,5%). Em relação às espécies, observou-se uma prevalência de 27,3% (130/476; I.C. 23,4% – 31,6%) para caprinos e 19,5% (83/426; I.C. 15,9% – 23,6%) para ovinos. Os sorovares identificados por espécie e suas respectivas titulações encontram-se na tabela 1. Não foi possível identificar o sorovar infectante em 24 amostras (10 caprina e 14 ovina), pois houve reação de coaglutinação para dois ou mais sorovares.

Na análise univariada dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. para caprinos, as variáveis que apresentaram associação significativa foram: região ( $p=0,0049$ ), sistema de criação ( $p=0,009$ ), tipo de exploração ( $p=0,009$ ), sexo ( $p=0,0011$ ),

fornecimento de silagem ( $p=0,0042$ ), realização de isolamento ao adquirir animais ( $p=0,0034$ ). A única variável que apresentou associação significativa na regressão logística para esta espécie foi o sexo (Tabela 2).

Na análise univariada dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. para ovinos, as variáveis que apresentaram significância estatística foram: região ( $p=0,003$ ), sistema de criação ( $p=0,016$ ), sexo ( $p=0,0026$ ), acesso a água de superfície ( $p=0,030$ ), tipo de rebanho ( $p<0,001$ ), presença de cães na propriedade ( $p=0,047$ ), acesso de roedores a ração ( $p=0,013$ ). Na regressão logística (Tabela 3) foram identificados como fatores de risco: sistema de criação (OR=2,03;  $p=0,029$ ) e tipo rebanho (OR=2,28;  $p=0,001$ ); e como fatores de proteção: ausência de ratos na ração (OR=0,55;  $p=0,020$ ), restrição do acesso a águas de superfície (OR=0,60;  $p=0,047$ ) e sexo (OR=0,38;  $p=0,049$ ).

Não foi verificada associação entre ocorrência de distúrbios reprodutivos (presença de abortos, crias fracas, retenção placentária e natimortalidade) e infecção por *Leptospira* spp. nas espécies caprina ( $p=0,052$ ) e ovina ( $p=0,122$ ).

## DISCUSSÃO

Os valores de soroprevalência para caprinos semelhantes aos encontrados por Lilenbaum et al (2008) e Martins et al (2012) no Rio de Janeiro (20,8 e 25,9% respectivamente). Entretanto, resultados superiores foram encontrados em Pernambuco por Cunha et al (1999) e Borba (2004) (33,3% e 33,8%, respectivamente). A soroprevalência para ovinos foi semelhante à observada por Salaberry et al (2011) em Minas Gerais e Marinho et al (2012) em São Paulo, contudo, quando comparado aos registros anteriores no estado de Pernambuco, verificou-se também resultados inferiores aos descritos por Mota et al (1999) e Borba (2004), que relataram prevalência de 57,8% e 33,7%, respectivamente. Cunha et al (1999) utilizaram amostras colhidas na Zona da Mata e Agreste do estado, enquanto Mota et al (1999) amostraram, além dessas, a cidade do Recife, nenhum desses trabalhos contemplou o Sertão. Já a amostragem realizada por Borba (2004) abrangeu a Região Metropolitana, a Zona da Mata, o Agreste e o Sertão pernambucano, no entanto no Agreste foram coletadas amostras apenas no município de Gravatá, e no Sertão, em Floresta. A diferença dos resultados obtidos neste estudo, em relação aos já registrados no estado, pode estar relacionada às diferentes regiões em estudo,

aos planos amostrais adotados nesses estudos, os quais não foram citados e a medidas de controle que podem ter sido tomadas até a realização deste estudo.

Os sorovares infectantes em animais variam entre os países e regiões (Schmidt et al, 2002). Neste estudo, houve predominância do sorovar Autumnalis em ambas as espécies. No Brasil este sorovar tem sido identificado principalmente na região Nordeste (Borba, 2004; Araújo Neto et al, 2010; Higino et al, 2010; Carvalho et al, 2011; Alves et al, 2012; Higino et al, 2012a; Higino et al, 2012b). Já foi relatado em animais de vida livre, especialmente em roedores e isolado de tatus (Silva et al, 2008; Santos et al, 2012). Em 2007 foi isolada a espécie *L. nouguchii* de ovinos aparentemente saudáveis, apontando que estes podem atuar como hospedeiros de manutenção para o sorovar Autumnalis (Silva et al, 2007). Até o presente momento não há vacina comercial em cuja formulação esteja presente este sorovar e que não há imunidade cruzada entre os diferentes sorovares (Salaberry et al, 2011; Higino et al, 2012a). O segundo sorovar mais prevalente foi o Icterohaemorrhagiae, que está relacionado principalmente à presença de roedores, o que reforça a necessidade da implementação de programas visando à desratização nas propriedades (Araújo Neto et al, 2010).

Na análise univariada, observou-se que as variáveis região e sistema de criação mostraram-se significativas para as duas espécies. Registrou-se prevalência mais elevada nas propriedades do Agreste (caprinos: 34,3%; ovinos: 26,8%), comparadas às do Sertão (caprinos: 25,4%; ovinos: 15,2%). Prevalência mais elevada ocorre em regiões tropicais onde há maior precipitação pluviométrica (Brod and Fehlberg, 1992). O Agreste e o Sertão possuem clima tropical, entretanto o Agreste é classificado como semiúmido e o Sertão como semiárido, segundo a quantidade de meses secos (IBGE, 2013). As condições de clima do Agreste contribuem para a sobrevivência das leptospiros no ambiente, portanto cuidados adicionais nesta região são necessários para diminuir a disseminação do agente para outros animais.

Quanto ao sistema de criação observou-se maior prevalência no semi-intensivo (caprinos: 31,4%; ovinos: 21,9%), o risco de infecção calculado para ovinos foi de 2,03 (OR). O mesmo foi relatado por Mota et al (1999) em criações de ovinos no município de Bezerros/PE. A maior densidade de animais em um espaço propicia o contato entre a urina de animais infectados e os susceptíveis, favorecendo novas infecções. Assim como é provável que a concentração do agente nessa área seja maior, oferecendo um maior desafio de infecção aos animais. Isso também explica a elevada prevalência encontrada na

exploração leiteira de caprinos (38,1%), comparada às criações de carne (22,7%) e mista (26,9%). Na primeira foi observado que os apriscos onde os animais eram criados possuíam alta densidade populacional. Como alternativas para a resolução dos problemas gerados por esses fatores pode ser reduzida a lotação de animais e adotado manejo higiênico rotineiro das instalações.

O fornecimento de silagem afetou significativamente a frequência de caprinos soropositivos, diferente do resultado encontrado por Lilembaum et al (2008). O *Rattus rattus*, rato de telhado ou rato de silo, como também é chamado, tem como *habitat* forros de construções, sótãos, paióis, armazéns e silos (Brasil, 2002), mas não só esta espécie de roedor, como outras que possuem acesso às fontes de alimentação dos animais domésticos podem utilizar-se dela, contaminando e tornando-as fontes de contaminação para os animais a que elas sejam oferecidas. Neste estudo foi verificado ainda que nos rebanhos ovinos em que os roedores não possuíam acesso à ração, o risco de infecção foi menor (OR= 0,55). É, portanto, recomendado o armazenamento da ração em locais fechados e suspensos, para evitar o acesso de roedores (Brasil, 2002; Fiocruz, 2004).

O isolamento de caprinos em piquetes para tratamento de enfermidades foi apontado como fator de risco, fato que pode estar relacionado a proximidade desses às residências dos proprietários ou tratadores, onde é frequente a observação de roedores em busca de alimento (Brod and Fehlberg, 1992; Brasil, 2002).

Em ovinos, verificou-se ainda significância em relação à presença de cães na propriedade, na análise univariada. Apesar de o roedor ser o principal reservatório de *Leptospira* spp. (Brasil, 2005), outras espécies de animais, podem atuar como fontes de infecção (Guimarães et al, 1982/83). Vários inquéritos sorológicos realizados em cães no Brasil mostraram a variabilidade dos sorovares de *Leptospira* spp. predominantes nas diferentes localidades (Batista et al, 2005). O sorovar Autumnalis, apontado como o mais frequente em estudos realizados cães em Patos-PB (Batista et al, 2005) e em Monte Negro-RO (Aguiar et al, 2007), coincidiu com os resultados encontrados em ovinos nas mesmas localidades por Higino et al (2010) e Aguiar et al (2010), respectivamente. É possível que a relação interespecie tenha contribuído para a manutenção do agente e a transmissão entre as espécies.

Na regressão logística, a variável sexo apresentou significância nas duas espécies em estudo; nos machos observou-se razão de chance de 0,40 para caprinos e 0,38 para ovinos, ou seja, foi considerado um fator de proteção. As fêmeas enfrentam constantes

períodos de baixa imunológica, relacionados ao período de gestação e lactação, fato este possivelmente associado à maior frequência no sexo em questão (Uzêda et al, 2004).

Para os ovinos foram ainda considerados fatores de risco: o tipo de rebanho, acesso de ratos a ração e o acesso à água de superfície.

Verificou-se que nos rebanhos fechados, os ovinos têm 2,28 maiores chances de infecção. Os rebanhos fechados, em sua grande parte, eram criados semi-intensivamente (72,5%), o que pode estar relacionado a este achado, visto que o sistema de criação também foi considerado um fator de risco. Além disso, é sabida a possibilidade de infecção através do sêmen e transplacentária. A utilização de reprodutores e matrizes sem o devido conhecimento de seu *status* sanitário e a não realização da antibióticoterapia podem ter contribuído com a infecção da prole e o aumento na frequência relativa a esta variável. Recomenda-se a utilização para a reprodução apenas de animais negativos para a leptospirose.

Neste estudo, aqueles rebanhos em que os animais não possuíram acesso a água estagnada apresentaram um menor risco de infecção (OR= 0,60). Segundo Andre-Fontain e Ganiere (1990), a água é o fator epidemiológico mais importante para a leptospirose. As águas de superfície podem permanecer contaminadas por várias semanas se as condições forem favoráveis (Brod and Fehlberg, 1992).

De maneira geral, observou-se que parte dos fatores de risco identificados estão relacionados ao sistema de criação e ao manejo higiênico-sanitário do ambiente. E devido à complexidade da cadeia epidemiológica da leptospirose, deverão ser dirigidas ações para a intervenção nesse ciclo, em cada um dos elos que a compõem (Brod and Fehlberg, 1992).

## CONCLUSÃO

São múltiplos os fatores que podem influenciar a ocorrência da leptospirose nos rebanhos de pequenos ruminantes do Agreste e no Sertão de Pernambuco, estando eles relacionados principalmente ao sexo e ao sistema de criação. A realização de programas de educação em saúde e o treinamento dos produtores em métodos de prevenção e controle da leptospirose e outras doenças infecciosas podem reduzir de forma significativa os casos de infecção e minimizar as perdas econômicas causadas por esta enfermidade.

## REFERÊNCIAS

Adler, B., A.P. De La Peña Moctezuma, 2010: *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 40, 287-296.

Aguiar, D.M., G.T. Cavalcanti, M.F.V. Marvulo, J.C.R. Silva, A. Pinter, S.A. Vasconcellos, Z.M. Morais, M.B. Labruna, L.M.A. Camargo, L.M.A. Gennari, 2007: Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59, 70-76.

Aguiar, D.M., G.T. Cavalcanti, S.A. Vasconcellos, G.O. Souza, M.B. Labruna, L.M.A. Camargo, S.M. Gennari, 2010: Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em ovinos do Município de Monte Negro, Estado de Rondônia. *Arq. Inst. Biol.* 77, 529-532.

Alves, C.J., J.F. Alcino, A.E.M. Farias, S.S.S. Higino, F.A. Santos, S.S. Azevedo, D.F. Costa, C.S.B.A. Santos, 2012: Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslanados do semiárido brasileiro. *Pesq. Vet. Bras.* 32, 23-528.

Andre-Fontaine, G., J.P. Ganiere, 1990: New topics on leptospirosis. *Comp. Immunol. Microbiol.* 13, 163-168.

Araújo Neto, J.O, C.J. Alves, S.S. Azevedo, M.L.C.R. Silva, C.S.A. Batista, 2010: Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 47, 150-155.

Batista, C.S.A., C.J. Alves, S.S. Azevedo, S.A. Vasconcellos, Z.M. Morais, I.J. Clementino, F.A.L. Alves, F.S. Lima, J.O. Araújo Neto, 2005: Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 57, 179-185.

Borba, M.A.C. 2004: Estudo soroepidemiológico da leptospirose em caprinos e ovinos do Estado de Pernambuco. MSc thesis, University Federal Rural of Pernambuco, Recife, Brazil.

Brasil, 2002: Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle de roedores. - Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde.

Brasil, 2005: Ministério da Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica. 6 ed. Brasília: Ministério da Saúde.

Brod, C.S.; J.A.G. Aleixo, S.D.D. Jouglard, C.P.H. Fernandes, J.L.R. Teixeira, O.A. Dellagostin, 2005: Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito sorológico. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38, 294-300.

Carvalho, S.M., L.M.F. Gonçalves, N.A. Maceddo, H. Godo, S.M.M.S. Silva, A.L.B.B. Mineiro, E.H.Y. Kanashiro, F.A.L. Costa, 2011: Infecção por leptospirose em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. *Pesqu. Vet. Bras.* 31, 637-642.

Cole, J.R., C.R. Sulzer, A.R. Pursell, 1973: Improved Microtechnique for the Leptospiral Microscopic Agglutination Test. *App. Microbiol.* 25, 976-980.

Cunha, E.L.P., R.A. Mota, L. Meireles, A.C.C. Silva, A.V. Silva, H. Langoni, 1999. Pesquisa de Aglutininas anti-leptospirose em soro de caprinos no Estado de Pernambuco, Brasil. *Rev. Bras. Med. Vet.* 21, 38-40.

Escócio, C., M.E. Genovez, V. Castro, R.M. Piatti, F.H.L. Gabriel, D.P. Chibão, S.S. Azevedo, S.R. Vieira, M. Chiba, 2010: Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP. *Arq. Inst. Biol.* 77, 371-379.

Fiocruz. 2004. Fundação Oswaldo Cruz. Controle de roedores. Recomendações à população. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infol=1007&sid=12>. Acessado em: 03 jun 2013.

Galton M.M., C.R. Sulzer, C.A. Santa Rosa, M.J. Fields, 1965: Application of a Microtechnique to the Agglutination Test for Leptospiral Antibodies. *App. Microbiol.* 13, 81-85.

Guimarães, M.C., J.A. Cortês, S.A. Vasconcellos, F.H. Ito, 1982/83: Epidemiologia e controle da leptospirose em bovinos, papel do portador e seu controle terapêutico. *Comun. Cient. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo.* 6/7, 21-34.

Herrmann, G.P., A.P. Lage, E.C. Moreira, J.P.A. Haddad, J.R. Resende, R.O. Rodrigues, R.C. Leite, 2004: Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciê. Rural*, 34, 443-448.

Higino, S.S.S., S.S. Azevedo, C.J. Alves, S.M. Figueiredo, M.L.C.R. Silva, C.S.A. Batista, 2010: Frequência de leptospirose em ovinos abatidos no município de Patos, Paraíba. *Arq. Inst. Biol.*, 77, 525-527.

Higino, S.S.S., F.A. Santos, D.F. Costa, C.S.A.B. Santos, M.L.C.R. Silva, C.J. Alves, S.S. Azevedo, 2012a. Flock-level risk factors associated with leptospirosis in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. PREVET. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.005> (accessed 01 February 2013).

Higino, S.S.S. C.J. Alves, C.S.A.B. Santos, S.A. Vasconcellos, M.L.C.R. Silva, A.W.L. Brasil, S.S. Azevedo, 2012b: Prevalência de leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido paraibano. *Pesqu. Vet. Bras.* 32, 199-203.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. Mapa de Clima do Brasil. Available: [ftp://geoftp.ibge.gov.br/mapas\\_tematicos/mapas\\_murais/clima.pdf](ftp://geoftp.ibge.gov.br/mapas_tematicos/mapas_murais/clima.pdf). (accessed 01 June 2013).

Langoni, H., M. Marinho, S. Baldoni, A.V. Silva, K.G. Cabral, E.D. Silva, 1995: Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em soros ovinos do Estado de São Paulo, Brasil, utilizando provas de macroaglutinação em placa e soroaglutinação microscópica. *Rev. Bras. Med. Vet.* 17, 264-268.

Lilenbaum W., R. Vargas, L. Medeiros, A.G. Cordeiro, A. Cavalcanti, G.N. Souza, L.J. Richtznhain, S.A. Vasconcellos, 2008: Risk factors associated with leptospirosis in dairy goats under tropical conditions in Brazil. *Res. Vet. Sci.* 84, 14–17.

Marinho M., C.N. Kaneto, C.V. Taparo, J.O.R. Bernardes, A.L. Lombardi, S.H.V. Perri, A.B. Baldosso, M.M. Ribeiro, 2012. Perfil de aglutininas anti-*Leptospira* e anti-*Brucella* e condições sanitárias de ovinos da região noroeste do estado de São Paulo, Brasil. *Vet. Zootec.* 19, 593-600.

Martins, G., B. Penna, C. Hamond, R.C.K. Leite, A. Silva, A. Ferreira, F. Brandão, F. Oliveira, W. Lilenbaum, 2012: Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. *Tropic. Anim. Health Pro.* 44, 773-777.

Mota, R.A., E.L.P. Cunha, S. Gottshalk, A.C.C. Silva, A.V. Silva, H. Langoni, 1999: Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em soros de ovinos no Estado de Pernambuco-Brasil. *Pesqui. Foco.* 7, 107-114.

Salaberry S.R.S., V. Castro, A.F.C. Nassar, J.R. Castro, E.C. Guimarães, A.M.C. Lima-Ribeiro, 2011: Seroprevalence and risk factors of antibodies against leptospira spp. in ovinos from Uberlândia municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 42, 1427-1433.

Santos, J.P., A.M.C. Lima-Ribeiro, P.R. Oliveira, M.P. Santos, A.F. Júnior, A.A. Medeiros, T.C.F. Tavares, 2012: Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Tropic. Anim. Health Pro.* 44, 101-106.

Schmidt, V., A. Arosi, A.R. Santos, 2002: Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul. *Cien. Rural* 32, 609-612.

Silva, E.F., C.S. Brod, G.M. Cerqueira, D. Bourscheid, N. Seuffert, A. Queiroz, C.S. Santos, A.I. Ko, O.A. Dellagostin, 2007: Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. *Vet. Microbiol.*, 121, 144-149.

Silva, R.C., C.B. Zetun, S.M.G. Bosco, E. Bagogli, P.S. Rosa, H. Langoni, 2008: *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. *Vet. Parasitol.* 157, 291-293.

Silva, F.J., W.F.L. Conceição, J.J. Fagliari, R.J.S. Girio, R.A. Dias, M.R. Borba, L.A. Mathias, 2012: Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. *Pesqu. Vet. Bras.* 32, 303-312.

Thrusfield, M, 2005: *Veterinary Epidemiology*, 3th edn. Blackwell Science: Oxford.

Uzêda, R.S., S.X. Fernandez, E.W. Jesus, A.M. Pinheiro, M.C.C. Ayres, S. Spinola, H.V. Barbosa Junior, M.A.O. Almeida, 2004: Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 5, 1-8.

Tabela 1. Distribuição dos sorovares de *Leptospira* spp. em pequenos ruminantes, no Agreste e no Sertão do Estado de Pernambuco, Brasil, 2012

Sorovar	Titulação										Total	
	100		200		400		800		1600		Cap	Ovi
	Cap	Ovi	Cap	Ovi	Cap	Ovi	Cap	Ovi	Cap	Ovi		
Australis	2	1	2	-	1	-	2	-	-	-	7	1
Autumnalis	47	18	12	3	5	1	1	1	-	-	65	23
Butembo	6	2	-	2	-	-	-	-	-	-	6	4
Castellonis	-	4	-	3	-	-	-	-	-	-	0	7
Copenhageni	12	2	1	2	-	-	-	-	-	-	13	4
Grippotyphosa	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	1	3
Hebdomadis	4	3	1	-	-	-	-	-	-	-	5	3
Icterohamorrhagiae	14	9	3	1	1	-	-	-	-	-	18	10
Panama	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	0	1
Pyrogenes	4	1	-	2	-	-	-	-	-	-	4	3
Sentot	-	1	-	1	-	-	-	1	-	-	0	3
Shermani	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	0	1
Wolffi	-	4	-	1	-	1	-	-	1	-	1	6
<b>Total</b>	<b>89</b>	<b>48</b>	<b>20</b>	<b>17</b>	<b>7</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>120</b>	<b>69</b>	

Convenções: Cap – caprinos; Ovi – ovinos.

Tabela 2. Regressão logística dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp, em caprinos, no Agreste e no Sertão do Estado de Pernambuco, 2012

VARIÁVEL	Valor de p	OR <sup>a</sup>	IC 95% <sup>b</sup>
Sexo (Macho/Fêmea)	0,023	0,40	0,18 – 0,88

<sup>a</sup> Odds ratio (Razão de chance), <sup>b</sup> Intervalo de confiança de 95%

Tabela 3. Regressão logística dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp, em ovinos, no Agreste e Sertão do Estado de Pernambuco, 2012

VARIÁVEL	Valor de p	OR <sup>a</sup>	IC 95% <sup>b</sup>
Criação (Semi-intensivo/Extensivo)	0,029	2,03	1,07 – 3,84
Rebanho (Fechado/Aberto)	0,001	2,28	1,39 – 3,72
Acesso de ratos a ração (Não/Sim)	0,020	0,55	0,34 – 0,91
Água de superfície (Não/Sim)	0,047	0,60	0,37 - 0,99
Sexo (Macho/Fêmea)	0,049	0,38	0,14 – 0,99

<sup>a</sup> Odds ratio (Razão de chance), <sup>b</sup> Intervalo de confiança de 95%

## 5.2 Artigo 2

**Spatial distribution of *Leptospira* spp. infection among small ruminants in the *Agreste*  
and *Sertão* regions of Pernambuco, Brazil  
(artigo enviado para o periódico Geospatial Health)**

**Spatial distribution of *Leptospira* spp. infection among small ruminants in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco, Brazil**

Acidália Claudino Machado<sup>1</sup>, Júnior Mário Baltazar de Oliveira<sup>1</sup>, Juliana de Lima Pimentel<sup>1</sup>, Luenda de Menezes e Sá<sup>2</sup>; José Lopes da Silva Júnior<sup>3</sup>; Daniel Friguglietti Brandespim<sup>1</sup>, Nivaldo Aparecido de Assis<sup>4</sup>; Raul José Silva Girio<sup>4</sup>, Rinaldo Aparecido Mota<sup>1</sup>, José Wilton Pinheiro Júnior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Federal Rural of Pernambuco, Brazil; <sup>2</sup>MSc Ruminant Health and Reproduction, Floresta, Pernambuco, Brazil; <sup>3</sup>Agency Agriculture Defense of Pernambuco, Brazil; <sup>4</sup>Departament of Preventive Veterinary Medicine and Animal Reproduction, Faculty of Agriculture and Veterinary Sciences, Jaboticabal, São Paulo, Brazil;

**ABSTRACT**

The aim of the present study was to spatially characterize *Leptospira* spp. infection in small ruminants in the *Agreste* and *Sertão* regions of the state of Pernambuco (Brazil). A total of 902 blood samples were collected from small ruminants (476 goats and 426 sheep) on 23 properties. All of the ruminants were over one year old. The Microscopic Agglutination Test (MAT) was used to diagnose the *Leptospira* spp. infection. A titer  $\geq$  1:100 was considered positive. A general prevalence of 23.6% was recorded (213/902) (CI 95% 20.9% - 26.5%), which included 27.3% (130/476) of goats and 19.4% (83/426) of sheep. The most prevalent serovars among goats were Autumnalis (54.1%), Icterohaemorrhagiae (15.0%) and Copenhageni (10.8%), whereas the most common serovars among sheep were Autumnalis (32.4%), Icterohaemorrhagiae (14.0%) and Castellonis (9.8%). The present study also enabled a characterization of the dispersion of serovars, identifying Autumnalis and Icterohaemorrhagiae as the most widespread among goats and sheep, respectively. It was also possible to identify areas with a greater density of foci, which were highlighted as the greatest risk areas. The adoption of measures to control and reduce environmental contamination, as well as risks to the health of the general public, is of the utmost importance.

Keywords: spatial analysis; leptospirosis; goats; sheep

## Introduction

Leptospirosis is an infectious-contagious zoonosis that leads to economic losses related to farm animals, particularly due to reduced reproductive performance in herds (AGUIAR et al., 2010). It is caused by the genus *Leptospira* and includes a large number of serovars, the prevalence of which depends on the study area in question (LANGONI et al., 1995).

Widely distributed in the world, the occurrence of antibodies to *Leptospira* spp. in goats, diagnosed through the microscopic agglutination test (MAT), has been confirmed in Italy (CICERONI et al., 2000), Portugal (ROCHA, 2008), Poland (CZOPOWICZ, 2011), Trinidad (SUEPAUL et al., 2011), Iran (HASSANPOUR et al., 2012) and Venezuela (VALERIS-CHACÍN et al., 2012), with prevalence rates of 2.1%, 5.0%, 89.8%, 3.3%, 13.3% and 77.8%, respectively. Studies have also been conducted with sheep in Italy (CICERONI et al., 2000), New Zealand (DORJEE et al., 2008), Portugal (ROCHA, 2008), Tunisia (KHBOU et al., 2010) and Trinidad (SUEPAUL et al., 2011), with prevalence rates of 6.1%, 5.7%, 3.3%, 25.0% and 5.0%, respectively.

In certain Brazilian states, studies of the presence of antibodies to *Leptospira* spp. in goat and sheep serum have reported variations ranging from 3.4% to 33.3% prevalence for goats (CUNHA et al., 1999; SCHIMIDT et al., 2002; ARAÚJO NETO et al., 2010; SANTOS et al., 2012, MARTINS et al., 2012) and from 30.1% to 57.8% prevalence for sheep (MOTA et al., 1999; HERMANN et al., 2004; MARTINS et al., 2012).

The geographical distribution of leptospirosis is associated with environmental factors (FONZAR, 2010) that enable the survival of leptospirosis in the environment. In

order to clarify the differences of incidence and to identify risk areas, ecological studies have been conducted (CARVALHO and SOUZA-SANTOS, 2005), which analyzed data from population groups and compared these data to the frequency of infection in time and space (BARCELLOS et al., 2003).

The distribution pattern of a determined disease in space facilitates certain procedures, such as contagion and distribution in a certain location (SILVA et al., 2009). Spatial analysis, which involves the use of environmental software, enables the visualization, exploration and modeling of geo-referenced data (GATRELL and BAILEY, 1996), while also enabling the planning of preventative action and health surveillance (FONZAR and LANGONI, 2012).

The aim of the present study was to spatially characterize the distribution of *Leptospira* spp. infection in small ruminants in the *Agreste* and *Sertão* regions of the state of Pernambuco (Brazil) and to identify risk areas for the occurrence of leptospirosis cases.

## **Materials and Methods**

A prevalence of 33.8% and 33.7%, for goats and sheep, respectively, was considered to compose the study sample (BORBA, 2004). This resulted in minimal sampling of 344 animals of each species, with a confidence interval (CI) of 95% and a statistical error rate of 5% (THRUSFIELD, 2004). Win Episcope 2.0 software was used to calculate the sample and the number of samples required for each property. In total, 902 samples were obtained, with 476 goat serum samples and 426 sheep serum samples. All of the animals were at least one year old and had not been vaccinated between January and March 2012.

Samples were collected from 23 properties, nine of which bred goats exclusively. Seven properties only bred sheep and seven others contained both. The properties were located in 14 municipalities of the *Agreste* - Vale do Ipanema (Águas Belas, Itaíba, Pedra and Venturosa), *Sertão Pernambucano* - Itaparica (Belém do São Francisco, Carnaubeira da Penha, Floresta, Itacuruba, Itaíba) and *Sertão do Moxotó* micro-regions (Arcoverde, Custódia, Ibimirim, Inajá, Sertânia).

Microscopic agglutination was used for the serological diagnosis. The following twenty-three serovars of live leptospire, cultivated in EMJH, free from contamination and autoagglutination, were used as antigens: Andamana, Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Canicola, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Hardjo, Hebdomadis, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Sentot, Shermani, Tarassovi, Whitcombi and Wolffi. Samples with an initial dilution of 1:100 that were agglutinated by 50% or more by one serovar were considered positive (GALTON et al., 1965; COLE et al., 1973).

Epiinfo<sup>TM</sup> software (version 7) was used to calculate prevalence, considering the confidence interval to be 95%. The prevalence of the properties was considered to be null if there were no reagent animals, low if the number of reagents was under 25%, medium when between 25% and 50% were reagents and high when this figure was above 50%. The probable infecting serovar on the property was the one with the highest titer.

Each property was georeferenced using the Global Positioning System (GPS) to obtain plane coordinates and to spatialize maps of the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco. The map was configured to provide the positions with plane coordinates in Universal Transverse Mercator (UTM) projection and the SAD-69 (South American Datum, 1969) system, corresponding to the coordinates system of the cartographic base of the regions in question. Annual rainfall data for the year of the sampling were obtained

from the *Instituto Agronômico de Pernambuco* (IPA, 2012) website. The rainfall value used involved the monthly sum of rainfall found in each municipality. The georeferenced data were uploaded to TerraView 3.1.3 software (BRAZIL, 2006) to map and identify spatial clusters, based on Kernel's intensity estimator, which is a non-parametric technique that enables filtration of the variability of a set of data, retaining the essential local characteristics of the data (BAILEY and GATRELL, 1995).

## Results

Of the 902 samples analyzed, 213 were positive in the MAT, with a seroprevalence of positive animals of 23.6% (CI 95% = 20.9% - 26.5%). A prevalence of 29.7% (CI 95% = 24.2% to 35.7%) was found in the *Agreste* whereas this figure was 21.15% (CI 95% = 18.1% - 24.5%) in the *Sertão*.

Seroprevalence in goats was confirmed as 27.3% (CI 95% = 23.4% - 31.5%). Of the 16 goat properties, 14 were considered to be foci properties (87.5%). The prevalence by property can be seen superimposed on the pluviometric precipitation in Figure 1. The following were the most commonly identified serovars: *Autumnalis* (54.1%); *Icterohaemorrhagiae* (15.0%) and *Copenhageni* (10.8%). *Autumnalis* was the most widespread in the study area (Figure 2). The seroprevalence of goats was greater in the *Sertão* (73.0%) than in the *Agreste* (26.9%). The Kernel density estimator for *Leptospira* spp. infection in goats can be seen in Figure 3.

Seroprevalence among sheep was 19.4% (CI 95% = 15.8% - 23.65) which was divided into 49.4% in the *Agreste* and 50.6% in the *Sertão*. Foci were confirmed on 92.8% of the properties (13/14), as displayed in Figure 4, which superimposes the pluviometric precipitation of the municipalities onto the prevalence per property. The most commonly found serovar was also *Autumnalis* (32.4%), followed by *Icterohaemorrhagiae* (14.0%),

and Castellonis (9.8%). However, the serovar Icterohaemorrhagiae was the most widely distributed among sheep in the study area (Figure 5). The Kernel density estimator for *Leptospira* spp. infection in sheep can be seen in Figure 6.

With regard to the prevalence of goat infection by property, one (6.2%) exhibited a high prevalence, whereas seven (43.8%) had a medium prevalence, six (37.5%) had a low prevalence and two (12.5%) exhibited a null prevalence. For sheep, three properties (21.4%) exhibited a medium prevalence, ten (71.4%) had a low prevalence and one property had a null prevalence (7.2%).

## Discussion

Previous studies have been conducted in Pernambuco to identify the serological profile of leptospirosis in small ruminants (CUNHA et al., 1999; MOTA et al., 1999; BORBA, 2004). However, the present study is the first to include spatial distribution of *Leptospira* spp. infection in the *Agrreste* and *Sertão* regions of the state. The serological analysis through MAT, which diagnosed leptospirosis in 476 goat serum and 426 sheep serum from 23 properties, enabled a visualization of the prevalence of antibodies to *Leptospira* spp., as well as the identification of the predominant serovars in the areas studied.

All of the 23 properties studied were considered to contain foci for one or both of the species. This result (100%) corroborates the findings of other studies that were conducted in different regions of Brazil: Herrman et al. (2004) in Rio Grande do Sul (83.09%); Lilenbaum et al. (2007) in Rio de Janeiro (100%); Aguiar et al. (2010) in Rondônia (80%); Escócio et al. (2010) in São Paulo (100%); Genovez et al. (2011) in São Paulo (100%); Moraes et al. (2012) in Pará (75.0%) and Santos et al. (2012) in Minas Gerais (100%). Also in Minas Gerais, Salaberry et al. (2011) confirmed that 10/12 (83.3%)

properties contained positive animals and reported that the animals had been vaccinated on the remaining two properties. The high prevalence of foci suggests that the infection is well distributed throughout the region, which could favor the permanency of the agent in the environment and the emergence of further cases in animals, or perhaps even in humans. Therefore, intensive control measures should be implemented to reduce environmental contamination and public health risks.

The prevalence of foci, as well as the variations of prevalence by property, could be associated with the breeding system adopted in the region (HERRMAN et al., 2004), the management systems used (HIGINO et al., 2012a), topography, temperature, humidity, pluviometric precipitation and contact with other wild or domestic infected animals (AGUIAR et al., 2010; ARAÚJO NETO et al., 2010).

In the present study, the superimposition of the prevalence by property data onto the pluviometric index of the municipalities studied confirmed that there was no correlation between these factors, although this was only confirmed visually. The associations were not tested. However, other factors may be involved in the prevalence rates recorded, such as the type of management system adopted on each property or the presence of slurry and the animal's access to it. The possibility of superimposing data using maps circumvents the difficulties in working with data from different administrative entities (CARVALHO et al., 2000), strengthening the associations between environmental factors (pluviometric precipitation) and the explanatory variables (prevalence and distribution of serovars). This perspective aims to clarify geographical space in terms of the distribution of the disease and to locate inter-relationships between biological and ecological components (FONZAR and LANGONI, 2012).

Through the construction of intensity maps, it was possible to establish the regions with the greatest risk of *Leptospira* spp. infection. Despite the fact that the *Sertão* offers

unfavorable climactic and light conditions for the survival of *Leptospiras* spp. in the environment (AZEVEDO et al., 2004), goats were at a greater risk in this region (Itaparica micro-region), which contained the high-prevalence property. Three high intensity locations were identified in the three micro-regions studied for sheep. Thus, the entire area can be considered high-risk for sheep infection. Preventive and control measures, such as herd vaccinations, should be undertaken in these high-risk areas.

The most commonly found serovar in the present study was Autumnalis, both in terms of the general sampling by species, and for each property in isolation. This result was also reported by Borba (2004) in Pernambuco, as well as in other regions of Brazil: Rio Grande do Norte (ARAÚJO NETO et al., 2010), Piauí (CARVALHO et al., 2011), Paraíba (HIGINO et al., 2010; ALVES et al., 2012; HIGINO et al., 2012a; HIGINO et al., 2012b) and Minas Gerais (SANTOS et al., 2012). This variant has been reported in wild animals, particularly rodents, and has been isolated in armadillos (SILVA et al., 2008; SANTOS et al., 2012). It is assumed that close contact between infected wild animals and small ruminants spreads the infection. The second most common serovar in the present study was Icterohaemorrhagiae for both species, followed by Copenhageni for goats, both of which are mainly associated with rodents. This reinforces the need to implement pest control programs on these properties (BATISTA et al., 2005; ARAÚJO NETO et al., 2010). The serovar Castellonis, the third most prevalent among sheep, has often been reported in association with horses, although it normally affects cattle, suggesting a possible proximity of these species in breeding areas (HASHIMOTO et al., 2010).

Among sheep, Icterohaemorrhagiae was the most widespread serovar, whereas the most widespread serovar among goats was Autumnalis. This ample distribution of the serovar Autumnalis is worrying since cross-immunity does not exist between the different serovars and this is not included in the vaccines available on the market: Andamana;

Bataviae; Canicola; Grippotyphosa; Hardjo; Icterohaemorrhagiae; Pomona; Tarassovi and Wolfii (HIGINO et al., 2012a). This emphasizes the importance of studies that identify the representative serovars by region, as well as the requirement for new vaccines for leptospirosis that include specific serovars, thus increasing the effectiveness of vaccines used in the region.

## **Conclusion**

The present study is the first to characterize the spatial distribution of *Leptospira* spp. infection in small ruminants in Pernambuco, thus contributing to the epidemiological characterization of the disease in the region. Georeferencing was also effective in identifying the locations where intensive control measures are needed, as well as the importance of new vaccines to protect local herds.

## **References**

Aguiar DM, Cavalcante GT, Vasconcellos AS, Souza GO, Labruna MB, Camargo LM, Gennari SM, 2010. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em ovinos do Município de Monte Negro, Estado de Rondônia. *Arq Inst Biol* 77, 529-532.

Alves CJ, Alcino JF, Farias AEM, Higino SSS, Santos FA, Azevedo SS, Costa DC, Santos CSAB, 2012. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslanados do semiárido brasileiro. *Pesqui Vet Bras* 32, 523-528.

Araújo Neto JO, Alves CJ, Azevedo SS, Silva MLCR, Batista CSA, 2010. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. *Braz J Vet Res Anim Sci* 47, 150-155.

Azevedo SS, Alves CJ, Andrade JSL, Batista CSA, Clementino IJ, Santos FA, 2004.

Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Rev Bras Ciênc Vet 11, 167-170.

Bailey TC, Gatrell AC, 1995. Interactive spatial data analysis. Longman, 413 pp.

Barcellos C, Lammerhirt CB, Almeida MAB, Santos E, 2003. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. Cad Saúde Pública 19, 1283-1292.

Batista CAS, Alves CJ, Azevedo SS, Vasconcellos AS, Moraes ZM, Clementino IJ, Alves FAL, Lima FS, Araújo Neto, JO, 2005. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. Arq Bras Med Vet Zootec 57, 179-185.

Borba MAC, 2004. Estudo soroepidemiológico da leptospirose em caprinos e ovinos do Estado de Pernambuco. MSc thesis of the University Federal Rural de Pernambuco, Brazil.

Brasil, 2006. Ministério de Ciência e Tecnologia. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. TerraView ver. 3.1.3. Available: <http://www.dpi.inpe.br/terraview/index.php/> (accessed on June 2012).

Carvalho MS, Pina MF, Santos SM, 2000. Conceitos básicos de sistema de informação geográfico e cartografia aplicados a saúde. Organização Panamericana da Saúde, 124pp.

Carvalho MS, Souza-Santos R, 2005. Análise de dados espaciais em saúde pública: métodos, problemas, perspectivas. Cad Saúde Pública 21, 361-378.

Carvalho SM, Gonçalves LMF, Macedo NA, Goto H, Silva SMMS, Barradas ALB, Kanashiro EHY, Costa FAL, 2011. Infecção por leptospiros em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. Pesqui Vet Bras 31, 637-642.

Ciceroni LA, Lombardo DB, Pinto AA, Ciarrocchi SA, Simeoni J, 2000. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. J Vet Med 47, 217-223.

Cole JR, Sulzer CR, Pursell AR, 1973. Improved microtechnique for the Leptospiral Microscopic Agglutination Test. App Microbiol 25, 976-980.

Cunha ELP, Mota RA, Meireles L, Silava ACC, Silva AV, Langoni H, 1999. Pesquisa de Aglutininas anti-leptospiros em soro de caprinos no estado de Pernambuco, Brasil. Rev Bras Med Vet 21, 38-40.

Czopowicz M, Kaba J, Smith LB, Szalus-Jordanow O, Nowicki M, Witkowski L, Frymus T, 2011. Leptospiral antibodies in the breeding goat population of Poland. Vet Rec 169, 230.

Dorjee S, Heuer C, West DM, Collins-Emerson JM, Midwinter AC, Ridler AL, 2008. Prevalence of pathogenic *Leptospira* spp. in sheep in a sheep-only abattoir in New Zealand. New Zeal Vet J 56, 164-170.

Escócio C, Genovez ME, Castro V, Piatti RM, Gabriel FHL, Chiebao DP, Azevedo SS, Vieira SR, Chiba M, 2010. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP. *Arqui Inst Biol* 77, 371-379.

Fonzar UJV, 2010. Análise geográfica da ocorrência da leptospirose em humanos e em cães na cidade de Maringá, Paraná, Brasil. MSc thesis of University Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brazil.

Fonzar UJV, Langoni H, 2012. Análise geográfica da ocorrência da leptospirose em humanos e em cães na cidade de Maringá, Paraná, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 45, 100-105.

Galton MM, Sulzer CR, Santa Rosa CA, Fields MJ, 1965. Application of a Microtechnique to the Agglutination Test for Leptospiral Antibodies. *Appl Microbiol* 13, 81-85.

Gatrell AC, Bailey TC, 1996. Interactive spatial data analysis in medical geography. *Soc Sci Med* 42, 843-855.

Genovez ME, Escócio C, Castro V, Gabriel FHL, Chiebao, DP, Azevedo SS, 2011. Fatores de risco associados à infecção pela *Leptospira* spp. sorovar hardjo em rebanhos exclusivos de ovinos e nos consorciados com bovinos. *Arq Inst Biol* 78, 587-592.

Hashimoto VY, Garcia JL, Spohr KAH, Silva FG, Alves LA, Freitas JC, 2010. Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. *Arq Inst Biol* 77, 521-524.

Hassapour A, Asgarloo S, Imandar M, Mashayekhi M, Abdollahpour GR, Safarmashaei S, 2012. Seroepidemiologic study of goats leptospirosis in Khoy-Iran. *J Anim Vet Adv* 11, 229-233.

Herrmann GP, Lage AP, Moreira EC, Haddad JPA, Resende JR, Rodrigues RO, Leite RC, 2004. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Cien Rural* 34, p.443-448.

Higino SSS, Azevedo SS, Alves CJ, Figueiredo SM, Silva MLCR, Bastista, CSA, 2010. Frequência de leptospirose em ovinos abatidos no município de Patos, Paraíba. *Arq Inst Biol* 77, 525-527.

Higino SSS, Alves CJ, Santos CSAB, Vasconcellos AS, Silva, MLCR, Brasil AWL, Pimenta CLRM, Azevedo SS, 2012a. Prevalência de leptospirose em caprinos leiteiros do semiárido paraibano. *Pesq Vet Bras* 32, 199-203.

Higino SSS, Santos FA, Costa DF, Santos CSAB, Silva MLCR, Alves CJ, Azevedo SS, 2012b. Flock-level risk factors associated with leptospirosis in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. *PREVET*. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2012.09.005/> (accessed on February 2013).

IPA, INSTITUTO AGRONÔMICO DE PERNAMBUCO, 2013. Available: [http://www.ipa.br/indice\\_pluv.php/](http://www.ipa.br/indice_pluv.php/) (accessed on January 2013).

Khbou MK, Hammami S, Kodjo A, 2010. Anti-leptospire antibodies seroprevalence in sheep from the Fahs region, Tunisia. *Rev Med Vet* 161, 185-192.

Langoni H, Marinho M, Baldani S, Silva AV, Cabral KG, Silva ED, 1995. Pesquisa de aglutininas antileptospíricas em soros ovinos do Estado de São Paulo, Brasil, utilizando provas de macroaglutinação em placa e soroaglutinação microscópica. *Rev Bras Med Vet* 17, 264-268.

Lilenbaum W, Souza GN, Ristow P, Moreira MC, Fráguas S, Cardoso VS, Oelemann WMR, 2007. A serological study on *Brucella abortus*, caprine arthritis-encephalitis vírus and *Leptospira* in dairy goats in Rio de Janeiro, Brasil. *Vet J* 173, 408-412.

Martins G, Penna B, Hamond C, Leite RC-K, Silva A, Ferreira A, Brandão F, Oliveira F, Linlembaum W, 2012. Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. *Trop Anim Health Pro* 44, 773-777.

Moraes CCG, Guerreiro NA, Kuroda RBS, Souza VAF, Meneses AMC, Vasconcellos SA, 2012. Inquérito sorológico para leptospirose em rebanhos de ovinos no município de Igarapé-Açu, Estado do Pará. *Rev Ciên Agrárias* 55, p.58-60.

Mota RA, Cunha ELP, Gottshalk S, Silva ACC, Silva AV, Langoni H, 1999. Pesquisa de aglutininas anti-leptospiras em soros de ovinos no estado de Pernambuco-Brasil. *Pesqui Foco* 7, 107-114.

Rocha T, 1998. A review of leptospirosis in farm animals in Portugal. *Rev Sci Tech OIE* 17, 699-712.

Salaberry SRS, Castro V, Nassar AFC, Castro JR, Guimarães EC, Lima-Ribeiro, AMC, 2011. Seroprevalence and risk factors of antibodies against leptospira spp. in ovines from Uberlândia municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Braz J Microbiol* 42, 1427-1433.

Santos JP, Lima-Ribeiro AMC, Oliveira PR, Santos MP, Júnior AF, Medeiros AA, Tavares TCF, 2012. Seroprevalence and risk factors for leptospirosis in goats in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Trop Anim Health Pro* 44, 101-106.

Schimidt V, Arosi A, Santos AR, 2002. Levantamento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciê n Rural* 32, 609-612.

Silva RC, Zetun CB, Bosco SMG, Bagagli E, Rosa OS, Langoni H, 2008. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. *Vet Parasitol* 157, 291-293.

Silva WB, Simões LB, Padovani CR, Langoni H, Lopes ALS, Modolo JR, 2009. Inquérito sorológico e distribuição espacial da leptospirose canina em área territorial urbana da cidade de Botucatu. *Vet e Zootec* 16, 656-668.

Suepaul SM, Carrington CV, Campbell M, Borde G, Adesiyun AA, 2011. Seroepidemiology of leptospirosis in livestock in Trinidad. *Trop Anim health Pro* 43, 367-375.

Thrusfield, M, 2005. *Veterinary Epidemiology*. Blackwell Science: Oxford.

Valeris-Chacín R, Boscán-Duque L, Urdaneta-Pachaco R, Chango-Villasmil J, Torres-Rodríguez P, Quintero-Moreno A, Arzalluz-Fischer A, Sánchez-Villalobos A, 2012. Seroprevalence of leptospirosis and brucellosis in goat farms from mauroa county, falcon state, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ* 22, 231-237.

### Figure Titles

Figure 1 – Prevalence of *Leptospira* spp. infection in goats superimposed on the pluviometric precipitation

Figure 2 – Distribution of serovars of *Leptospira* spp. by property with seropositive goats in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco

Figure 3 - Kernel prevalence of *Leptospira* spp. infection in goats in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco

Figure 4 – Foci of the prevalence of *Leptospira* spp. infection in sheep superimposed on the pluviometric precipitation

Figure 5 – Distribution of serovars of *Leptospira* spp. by property with seropositive sheep in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco

Figure 6 - Kernel prevalence of *Leptospira* spp. infection in sheep in the *Agreste* and *Sertão* regions of Pernambuco

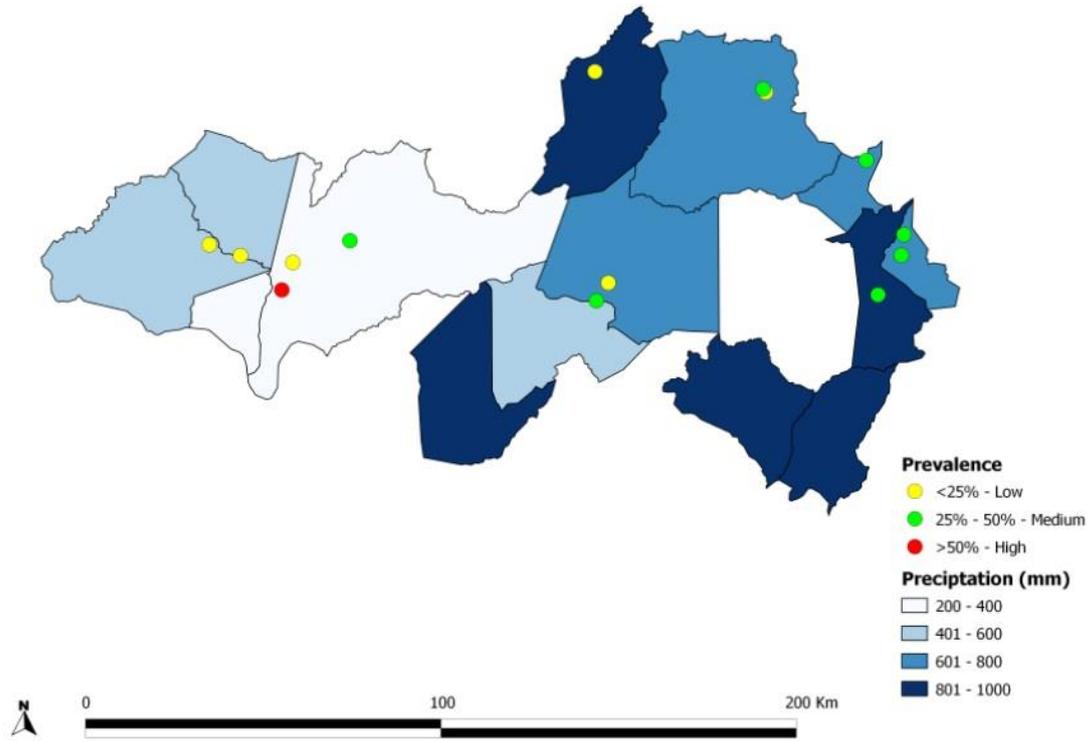


Figure 1

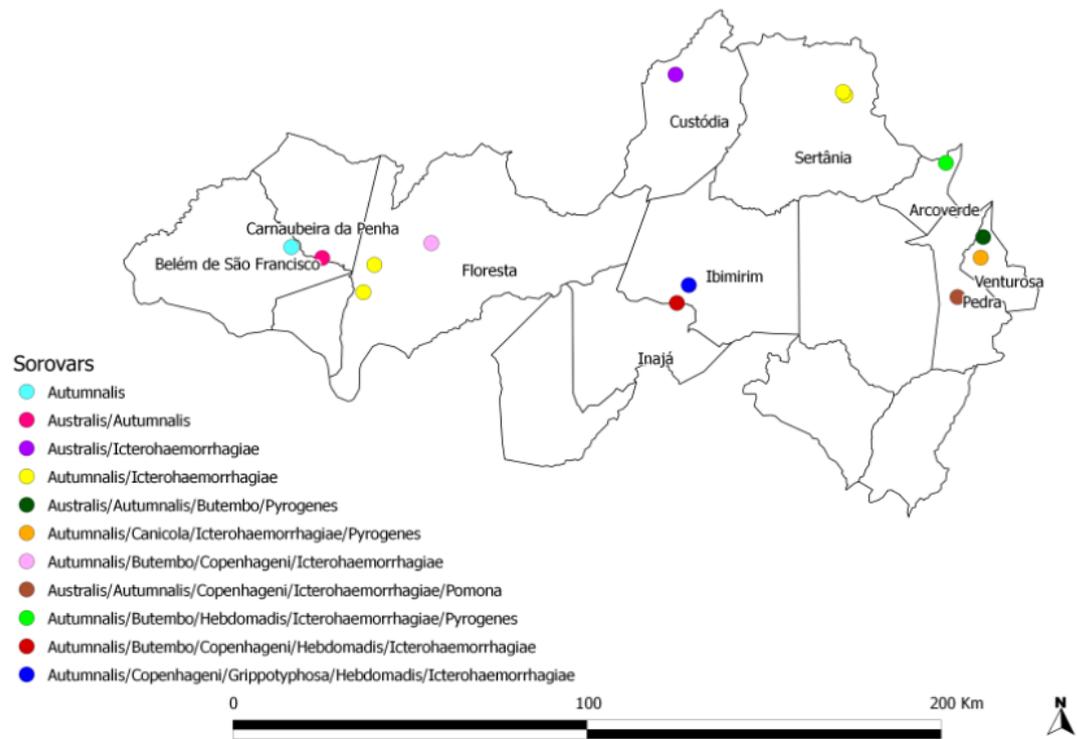


Figure 2

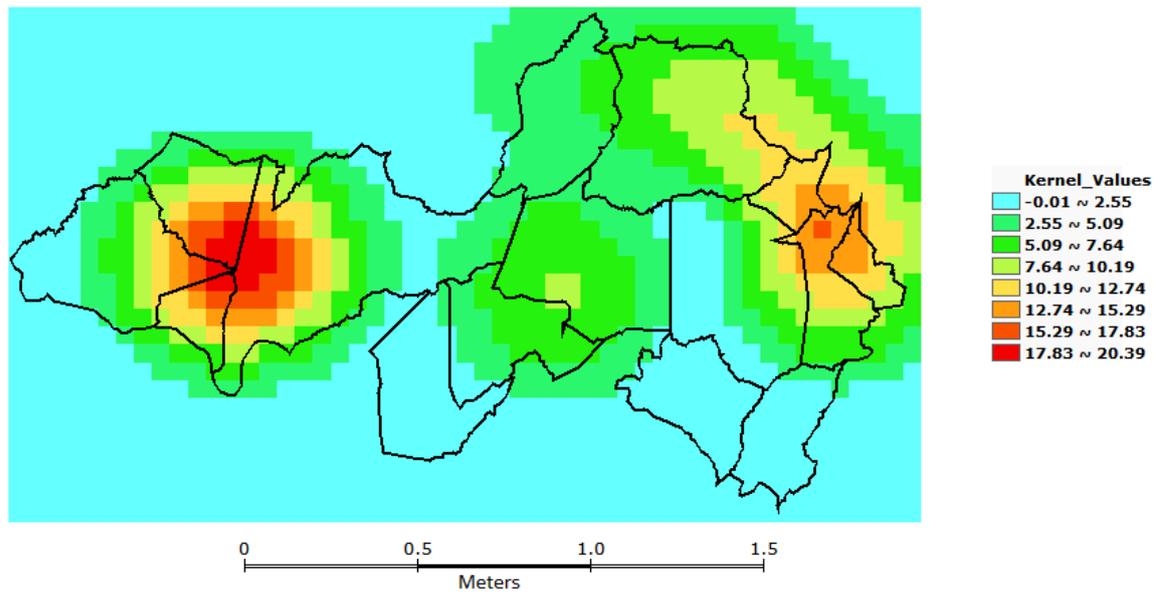


Figure 3

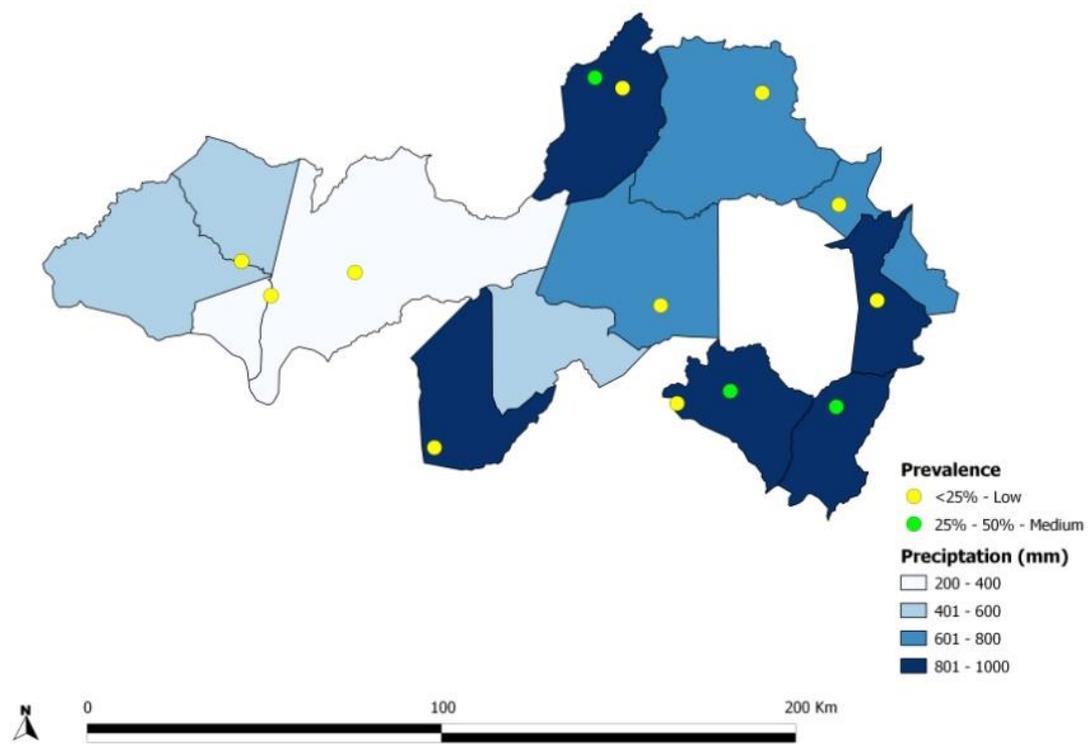


Figure 4

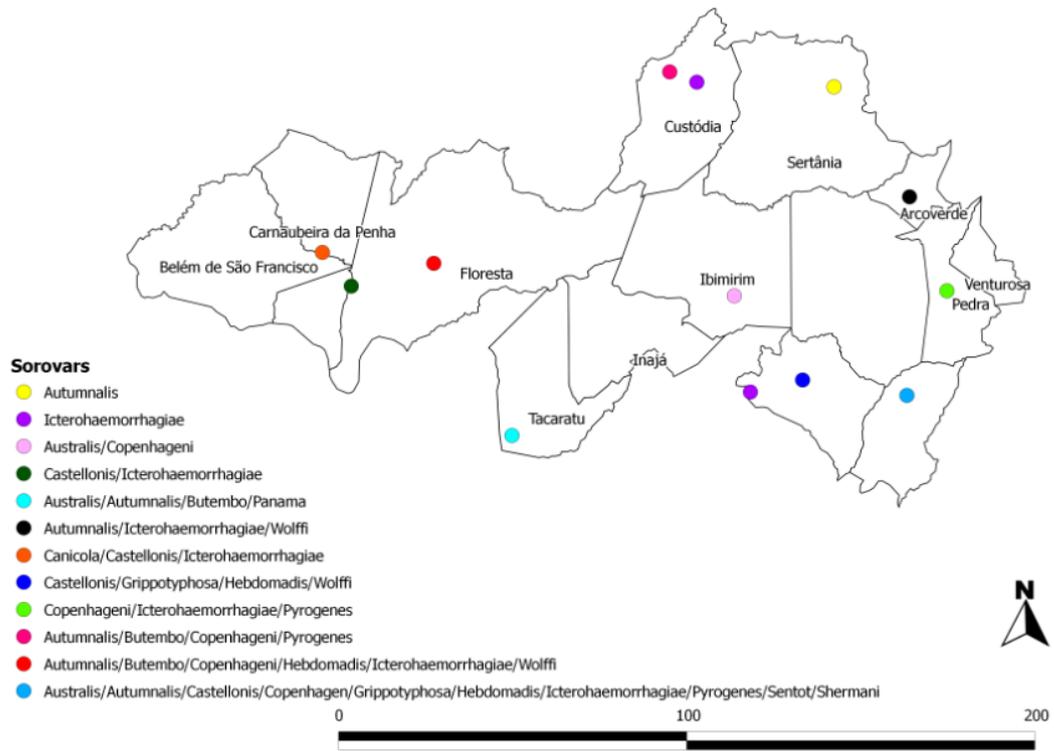


Figure 5

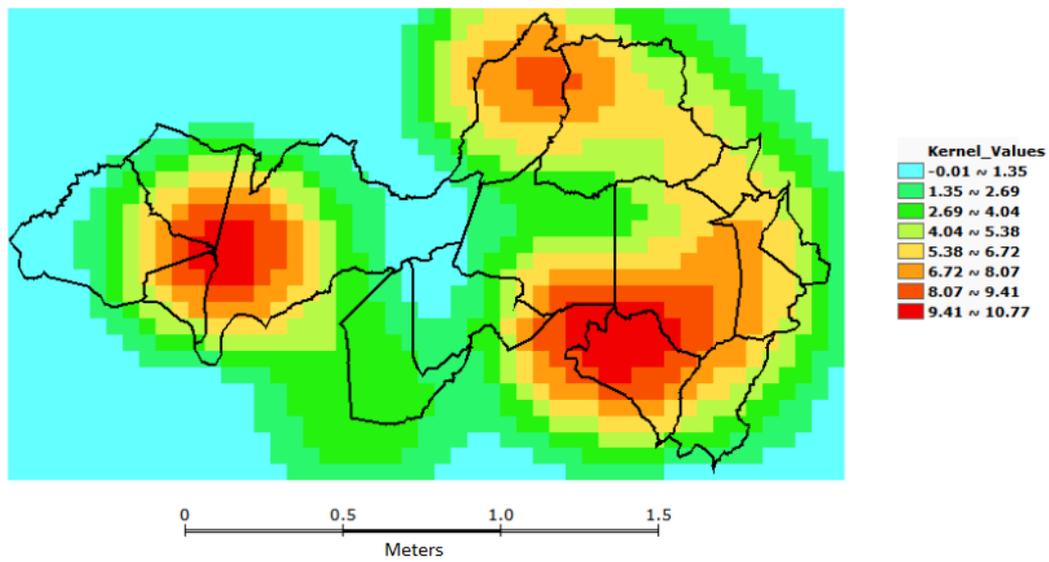


Figure 6

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A presença de animais soropositivos indica que estes entraram em contato com fontes de infecção e/ou fontes de contaminação;
- Os sorovares de *Leptospira* spp. mais prevalentes foram: Autumnalis e Icterohaemorrhagiae; O Autumnalis foi também o sorovar mais disseminado na região, o que levanta a preocupação quanto às vacinas disponíveis no mercado;
- O elevado número de focos encontrado sugere uma ampla dispersão do agente nas regiões de estudo, embora as condições climáticas do Agreste sejam mais favoráveis à sobrevivência das leptospiros no meio ambiente;
- As fêmeas mostraram-se mais susceptíveis à infecção por *Leptospira* spp. que os machos em caprinos e ovinos;
- Os rebanhos que utilizam o sistema de criação semi-intensivo e possuem rebanhos do tipo fechado apresentam maiores risco de infecção. Em contrapartida, aqueles onde há ausência de roedores na ração e os animais possuem restrição do acesso à fontes de água de superfície sofrem menores riscos.
- Alterações na conduta de manejo e produção de novas vacinas podem ser alternativas para a redução da prevalência de infecção nos rebanhos das regiões Agreste e Sertão de Pernambuco.

## 7 APENDICE A. Questionário Investigativo



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
 UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS  
 LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS  
 Avenida Bom Pastor, s/n. – Boa Vista, Garanhuns/PE  
 55.296-901 - Telefone: (87) 3761.0969 ou 3761.0882

### QUESTIONÁRIO INVESTIGATIVO PARA LEPTOSPIROSE

FICHA Nº:

PROPRIEDADE Nº

DATA: / /

INVESTIGADOR:

#### IDENTIFICAÇÃO

Fazenda:

Proprietário:

Endereço:

Município:

Contatos:

Coordenada geográfica:

Precipitação anual:

Área: ( ) Urbana ( ) Rural ( ) Periurbana

#### DADOS DO REBANHO

Número de animais:

Fêmeas:

Fêmeas em lactação:

Machos:

1) Espécie:

a) Caprino

b) Ovino

c) Mista

2) Tipo de criação

a) Extensivo

b) Semi-intensivo

c) Intensivo

3) Tipo de exploração

a) Leite

b) Carne

c) Mista

4) Raça

a) Pura

b) Mestiça

5) Criação consorciada com outros animais:

a) Bovinos

b) Equinos

c) Suínos

**6) Local de contato com outras espécies:**

- a) Pasto
- b) Instalações
- c) Aguadas

**7) Presença de animais silvestres**

- a) Sim
- b) Não

**8) Presença de cães**

- a) Sim
- b) Não

**9) Presença de gatos**

- a) Sim
- b) Não

**10) Presença de roedores**

- a) Sim
- b) Não

**11) Alimentação**

- a) Com suplementação
- b) Sem suplementação

**12) Fornece silo**

- a) Sim
- b) Não

**13) Fornece feno**

- a) Sim
- b) Não

**14) Fonte de água**

- a) Água tratada
- b) Córregos e riachos
- c) Açudes
- d) Poço

**15) Acesso à água de superfície**

- a) Sim
- b) Não

**16) Utilização de esterqueira**

- a) Sim
- b) Não

## INSTALAÇÕES

**17) Tipo de instalação**

- a) Piso ripado
- b) Chão batido
- c) Cimentado

**18) Realiza limpeza das instalações**

- a) Sim
- b) Não

**19) Periodicidade da limpeza**

- a) Diariamente
- b) Semanalmente
- c) Quinzenalmente
- d) Mensalmente

**20) Utiliza desinfetantes**

- a) Sim
- b) Não

**21) Cães tem acesso ao local de armazenamento da ração**

- a) Sim
- b) Não

**22) Já observou ratos no local de armazenamento da ração**

- a) Sim
- b) Não

## MANEJO SANITÁRIO

**23) Tipo de rebanho**

- a) aberto
- b) fechado

**24) Procedência dos animais**

- a) rebanho autóctone
- b) exposição/leilão
- c) feira livre

**25) Realização de quarentena**

- a) Sim
- b) Não

**26) Já vacinou contra leptospirose**

- a) Sim
- b) Não

**27) Já realizou exame contra leptospirose**

- a) Sim
- b) Não

**28) Realização de isolamento dos animais doentes**

- a) Sim
- b) Não

**29) Possui assistência veterinária**

- a) Sim
- b) Não

#### **MANEJO REPRODUTIVO**

**30) As fêmeas apresentam problemas reprodutivos**

- a) Sim
- b) Não

**31) Quais**

- a) aborto
- b) retenção de placenta
- c) crias fracas
- d) nascimento de animais mortos

**32) Tipo de cobertura**

- a) Monta natural
- b) Inseminação artificial
- c) Transferência de embriões

#### **MANEJO DE ORDENHA**

**33) Produção diária de leite na fazenda**

- a) Abaixo de 50 litros
- b) Entre 51 e 100 litros
- c) Acima de 100 litros

**34) Tipo de ordenha**

- a) Manual
- b) Mecânica
- c) Não realiza

## 8 APENDICE B. Termo de Autorização de Dados



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS**  
**LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS**

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE DADOS**

Eu \_\_\_\_\_, CPF \_\_\_\_\_, proprietário da Fazenda \_\_\_\_\_, após o conhecimento e entendimento dos objetivos, procedimentos metodológicos, riscos e benefícios da pesquisa, bem como de estar ciente da necessidade do uso dos dados fornecidos por mim, **AUTORIZO**, através do presente termo, os pesquisadores: **Acidália Claudino Machado, José Wilton Pinheiro Júnior** do projeto de pesquisa intitulado “**Análise epidemiológica da infecção por *Leptospira* spp em pequenos ruminantes no estado de Pernambuco**” desenvolvido pela Unidade Acadêmica de Garanhuns da UFRPE a obter minhas informações sem quaisquer ônus financeiros a nenhuma das partes.

Ao mesmo tempo, libero a utilização de dados obtidos para fins científicos e de estudos, em favor dos pesquisadores acima especificados.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

Local e Data

\_\_\_\_\_  
 Pesquisador responsável pelo projeto

\_\_\_\_\_  
 Proprietário Responsável

## 9 ANEXO A. Normas para Publicação do Periódico *Transboundary and Emerging Diseases*

### MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

#### Format

**Language:** The language of publication is English. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscripts are professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at [http://authorservices.wiley.com/bauthor/english\\_language.asp](http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp). All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

**Abbreviations, Symbols and Nomenclature** All specifications must be stated according to the S.I. system. Concentrations of chemical solutions are to be given in mol/l. All other concentrations should be given in % (volume or weight).

Any abbreviations of chemical, biological, medical or other terms should only be employed when it is certain that they are internationally known. The full name must be stated in brackets when the abbreviation is first used.

All biological, medical, chemical or other terms should be used according to the most recent recommendations of the respective international nomenclature. Enzymes should be given in I.U. (International Units), according to *Enzyme Nomenclature* (Elsevier Publishing Co., 1965). In the case of commercially obtained substances or reagents, when they are first mentioned in the text, the name and address of the manufacturer or supplier should be given as a footnote. Products (preparations etc.) with a registered trademark should be marked with ®.

Bacterial names should be in accordance with the latest edition of *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (The Williams and Wilkins Co., Baltimore). Viruses are to be given the classification and names recommended by the International Committee on the Nomenclature of Viruses.

Names of micro-organisms and zoological names will be printed in italics and should be underlined in the manuscript.

#### Structure

All manuscripts submitted to *Transboundary and Emerging Diseases* should include:

On page one of the manuscript, please include the corresponding author, name of the institution, place where the work was carried out, title of the manuscript, short title for running head of manuscript, names of the authors, the addresses of the authors and the e-mail address of the corresponding author. Each original article should be divided into Summary and Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and References. Summaries should not be longer than 300 words and up to six keywords should be provided.

The manuscript comprises the text and a list of all figures and tables with their captions and titles in a separate file. We ask that you convey the essential information within the first 60 characters of the captions to accommodate the online edition. Each figure, table, and bibliographic entry must have a reference in the text. For all figures please include reproduceable artwork (marked with the author's name, short title, and figure number). Any corrections requested by the reviewer should already be integrated into the file.

The data files must be PC/Windows-compatible. Please send the figures as separate files and do not import them into the text file. The text should be prepared using standard software (Microsoft Word, Word Perfect) or saved in rtf format; do not use automated or manual hyphenation. Please do not include footnotes.

### **Optimizing Your Abstract for Search Engines**

Many students and researchers looking for information online will use search engines such as Google, Yahoo or similar. By optimizing your article for search engines, you will increase the chance of someone finding it. This in turn will make it more likely to be viewed and/or cited in another work. We have compiled [these guidelines](#) to enable you to maximize the web-friendliness of the most public part of your article.

### **References**

Each original paper should include bibliographical references which should be restricted to the necessary minimum. The name of the journal in which the paper cited appears should be listed in the form of the abbreviated title from the cover of the journal concerned, otherwise use the abbreviations contained in a *Bibliographic Guide for Editors & Authors* from Chemical Abstracts, which is available in all major libraries, or the *World List of Scientific Periodicals*, 4th ed., London 1963-65. Anonymous contributions should be placed at the beginning of the list of references. The list of references should be in alphabetical order of first authors' names.

Please ensure that references in the text exactly match those in the manuscript's reference list. If editing sections of text please ensure that any references that are affected are amended accordingly in the reference list. Reference to personal communications and unpublished results should be in the text only i.e. (Animal Health Care Flanders, personal communication, 2006) or (Zhang, F., unpublished results).

Examples:

### **Journal**

Valarcher, J.-F., Y. Leforban, M. Reweyemamu, P.L. Roeder, G. Gerbier, D.K.J. Mackay, K.J. Sumption, D.J. Paton, and N.J. Knowles, 2008: Incursions of foot-and-mouth disease virus into Europe between 1985 and 2006. *Transbound. Emerg. Dis.* 55, 14-34.

### **Book**

Agresti, A., 2002: *Categorical Data Analysis*, 2nd edn. Wiley, New York.

### **Chapter in Edited Book]**

Thomson, G.R., and A.D.S. Bastos, 2004: Foot-and-mouth disease. In: Coetzer, J.A.W., and R.C. Tustin (eds), *Infectious Diseases of Livestock*, 2nd edn. pp. 1324-1365. Oxford University Press, South Africa.

### **Report**

Sealander, J. A., P. S. Gipson, M. E. Cartwright, and J. M. Pledger, 1975: Behaviour and Physiological Studies of Relationships between White-tailed Deer and Dogs in Arkansas. Final Report to Arkansas Game and Fish Commission. Department of Zoology, University of Arkansas, Fayetteville.

### **PhD thesis**

Author, A. 2003: Thesis title with lower case initials to all words. PhD thesis, University, Town, Country.

### **Web Page**

American Veterinary Medical Association, 2006: Equine Influenza Background. Available at: [http://www.avma.org/public\\_health/influenza/equine\\_bgnd.asp](http://www.avma.org/public_health/influenza/equine_bgnd.asp) (accessed 22 October 2007).

References in the text to literature in the Reference List should be given by placing in parenthesis the name(s) of the author(s), adding the year of publication (e.g.: Smith and Jones, 2003). For more than two authors, first author plus et al is used (e.g.: Sealander et al, 1975).

The editor and publisher recommend that citation of online published papers and other material should be done via a DOI (digital object identifier), which all reputable online published material should have - see [www.doi.org/](http://www.doi.org/) for more information. If an author cites anything which does not have a DOI they run the risk of the cited material not being traceable.

### **Tables, Figures and Figure Legends**

Figures should be saved in a neutral data format such as TIFF or EPS. Powerpoint and Word graphics are unsuitable for reproduction. Please do not use any pixel-oriented programs. Photographs or drawings submitted for publication with the manuscript must be of high quality, distinct and well-focused, if they are to be suitable for reproduction. Scanned figures (only in TIFF format) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size. Please submit the

data for figures in black and white. However, colour photos can be reproduced in black and white (with a possible loss of contrast).

Figures printed in colour are subject to an added charge. In the event that an author is not able to cover the costs of reproducing colour figures in colour in the printed version of the journal, *Transboundary and Emerging Diseases* offers authors the opportunity to reproduce colour figures in colour for free in the online version of the article (but they will still appear in black and white in the print version). Colour print charges are explained on the [Colour Work Agreement Form](#).

**Colour Charges:** It is the policy of *Transboundary and Emerging Diseases* for authors to pay the full cost for the reproduction of their colour artwork. Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Wiley-Blackwell requires you to complete and return the Colour Work Agreement Form before your paper can be published. Any article received by Wiley-Blackwell with colour artwork will not be published until the form has been returned.

Please return the original signed form by post to the address below:

Customer Services (OPI)  
John Wiley & Sons Ltd, European Distribution Centre  
New Era Estate  
Oldlands Way  
Bognor Regis  
West Sussex  
PO22 9NQ

Colour graphics should be created using the RGB mode. There is a charge for alterations to figures when carried out by the publisher.

Please note that figures will generally be reduced to fit within the column-width or the print area. This means that numbering and lettering must still be readable when reduced (e.g. maps) and that the scale might not correspond with the original (microscopic pictures), thereby invalidating references to scale in the text. If a figure is to be cropped, please mark the lines on a photocopy or tracing paper. Printouts should be made with a laser printer at the highest resolution ( $\geq 600$  dpi). If artwork is to be scanned, line drawings should only be contour drawings without halftones (shades of grey). Please do not use patterns; rough hatching is possible.

Graphs with an x and y axis should not be enclosed in frames; only 2-dimensional representations. Do not forget the labels and units. Captions for the figures should give a precise description of the content and should not be repeated within the figure.

Tables should be created using the table function. In the case of figures or tables taken from already published material, their source must be stated, and copyright waivers must be obtained.

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell Publishing's guidelines for figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

**Figure & Table Legends:** please ensure the essential information is within the first 60 characters of the captions to accommodate the online edition.

**Permissions:** If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publisher.

### **Supporting Information**

Publication in electronic formats has created opportunities for adding details or whole sections in the electronic version only. Authors need to work closely with the editors in developing or using such new publication formats.

Supporting Information, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted.

It should be clearly stated at the time of submission that the Supporting Information is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the Supporting Information is such that it cannot be accommodated on the Journal's website, the author agrees to make the Supporting Information available free of charge on a permanent website, to which links will be set up from the Journal's website. The author must advise Wiley-Blackwell Publishing if the URL of the website where the Supporting Information is located changes. The content of the Supporting Information must not be altered after the paper has been accepted for publication.

The availability of Supporting Information should be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed 'Supporting Information' and providing titles of figures, tables, etc. In order to protect reviewer anonymity, material posted on the author's website cannot be reviewed. The Supporting Information is an integral part of the article and will be reviewed accordingly.

**Extra issues:** Larger papers or monographs may be published as additional issues (numbered as the ordinary issues), the full cost being paid by the author. Further information may be obtained from the editor.

## **10 ANEXO B. Normas para Publicação no Periódico *Geospatial Health***

### GEOSPATIAL HEALTH - INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Geospatial Health is the official journal of the GnosisGIS - Global Network for Geospatial Health.

#### Aims and scope

Geospatial Health is an international peer-reviewed journal launched in 2005 that publishes research papers, short communications and reviews on application of the geospatial sciences to global health issues. For more information and instructions for Internet submission and review contact the Editor in Chief or visit: [www.GnosisGIS.org](http://www.GnosisGIS.org).

#### Types of manuscripts

Original research papers

Review papers

Short Communications

Letters to the Editor

Book Reviews

vHealth

Original research papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form. Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal. They may be submitted or invited. Short Communications should consist of original observations or new methods within the scope of the journal. The Communications should be concise with the minimum of references, and cover no more than five pages of the journal. Letters to the Editor should consist of comments on material published in the journal. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editors-in-Chief. Book Reviews will be included in the journal on a range of relevant books which are not more than 2 years old and were written in English.

#### Submission of manuscripts

Submission to GEOSPATIAL HEALTH will be done electronically via the Internet. Authors should submit manuscripts on-line through the website.

Submission of a manuscript implies that it is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content.

## Preparation of manuscripts

Manuscripts should be written in English and submitted in MS Word Format (no PDF). Manuscripts should have numbered lines, with wide margins and double spacing throughout. Every page of the manuscript, including the title page, should be numbered. Manuscripts should be organized in the following order:

Title

Name(s) of author(s)

Complete postal address(es) of affiliations

Full telephone, Fax No. and e-mail address of the corresponding author

Abstract (not longer than 450 words)

Keywords (3-5)

Introduction

Materials and methods (with subheadings if necessary)

Results (with subheadings if necessary)

Discussion

Acknowledgments

References

Titles of tables and figures

Tables (separate file(s))

Figures (separate file(s), in JPG or TIFF format)

References

References cited in the text should be presented in a list in the section "References".

In the text refer to the author's name (without initial) and year of publication.

If reference is made in the text to a publication written by more than two authors the name of the first author should be used followed by "et al.". This indication, however, should never be used in the list of references. In this list names of first author and co-authors should be mentioned.

References cited together in the text should be arranged chronologically.

The references should be listed in alphabetical order and they should contain: surname and initials of each author, year of publication, title of the paper, abbreviated name and volume of the journal (for books, title and publisher), first and last page of the paper.

For example:

for journals

Cringoli G, Taddei R, Rinaldi L, Veneziano V, Musella V, Cascone C, Sibilio G, Malone JB, 2004. Use of remote sensing and geographical information systems to identify environmental features that influence the distribution of paramphistomosis in sheep from the southern Italian Apennines. *Vet Parasitol* 122, 15-26.

for books

Elliott P, Wakefield J, Best N, Briggs D, 2000. *Spatial Epidemiology - Methods and Applications*, Oxford University Press, 494 pp.

## 11 ANEXO C. Licença para Uso de Animais em Pesquisa

LICENÇA N°:  
018/2012  
004137/2012 - A07

	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	
---	---	---

## SOLICITAÇÃO DE LICENÇA PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

## 1. IDENTIFICAÇÃO DO SOLICITANTE

NOME	José Wilton Pinheiro Junior
INSTITUIÇÃO DE ORIGEM	Universidade Federal Rural de Pernambuco
CARGO/FUNÇÃO	Prof. Adjunto I de Doenças Infecciosas (Bacterioses e Víruses dos Animais Domésticos)
DEPARTAMENTO/UNIDADE ACADÊMICA	Unidade Acadêmica de Garanhuns
ENDEREÇO ELETRÔNICO E TELEFONE	jrilton@uag.ufrpe.br

## 2. DADOS DA EQUIPE

NOME	FORMAÇÃO/QUALIFICAÇÃO	FUNÇÃO
José Wilton Pinheiro Júnior	Médico Veterinário Doutor em Ciência Veterinária Professor Adjunto I Unidade Acadêmico de Garanhuns	- Coordenação do projeto de pesquisa - Coleta das amostras - Análise laboratorial - Elaboração de relatórios - Tabulação e Análise dos dados obtidos - Publicação do trabalho em periódico especializado
Daniel Friguglietti Brandespim	Médico Veterinário Doutor em Medicina Veterinária Preventiva Professor Adjunto I Unidade Acadêmica de Garanhuns	- Coleta das amostras - Análise dos dados obtidos
Rinaldo Aparecido Mota	Médico Veterinário Doutor em Ciências Veterinárias Professor Titular Campus Recife	- Coleta das amostras - Análise dos dados obtidos
Sandra Batista dos Santos	Médica Veterinária Doutora em Ciências Veterinárias Pesquisadora da Universidade Federal Rural de Pernambuco	- Coleta das amostras
Acidália Claudino Machado	Médica Veterinária Acadêmica da Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes	- Coleta das amostras - Processamento das amostras
Júnior Mário Baltazar de Oliveira	Acadêmico da Graduação em Medicina Veterinária	

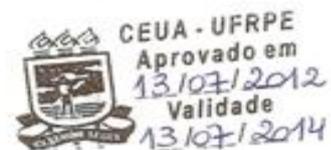
  
 APROVADO em  
 13/07/2012  
 Validade  
 13/07/2014

	Unidade Acadêmica de Garanhuns	
Bruno Henrique Leal e Silva Alves	Acadêmico da Graduação em Medicina Veterinária Campus Recife	- Coleta das amostras
André da Rocha Mota	Acadêmico da Graduação em Medicina Veterinária Campus Recife	- Coleta das amostras
José Givanildo	Acadêmico da Graduação em Medicina Veterinária Campus Recife	- Coleta das amostras

## 3. DADOS GERAIS DO PROJETO

TÍTULO	Soroprevalência e análise dos fatores de risco associados à infecção por <i>Leptospira</i> spp em caprinos e ovinos no Agreste e Sertão do estado de Pernambuco
ÁREA TEMÁTICA <sup>1</sup>	Medicina Veterinária Preventiva
FINANCIAMENTO	Sem financiamento
DATA INÍCIO/TÉRMINO	Março -2012/ Março-2014
LOCAL DE EXECUÇÃO	CENLAG/UFRPE

<sup>1</sup>De acordo com o CNPq



## 12 ANEXO D. Comprovante de Submissão do Artigo 2



### My submitted manuscripts

Number	Title	Status	Submission date
468	<a href="#">Spatial distribution of Leptospira spp. Infection among small ruminants in the Agreste and Sertão regions of Pernambuco</a>	Submitted	2013-06-13 01:50:13

### Data for Manuscript 468

Current status is: Submitted

Title	Spatial distribution of <i>Leptospira</i> spp. Infection among small ruminants in the Agreste and Sertão regions of Pernambuco
Corresponding author	Acidália Claudino Machado Address: Palmeirina, 81 CEP: 55297-240 Vila do Quartel Garanhuns, Pernambuco, Brazil Phone: +55 87 99956133 E-mail: acidali@hotmail.com
Authors list	Acidália Claudino Machado, Júnior Mário Baltazar de Oliveira, Juliana de Lima Pimentel, Luenda de Menezes e Sá, José Lopes da Silva Júnior, Daniel Friguglietti Brandespim, Nivaldo Aparecido de Assis; Raul José Silva Girio, Rinaldo Aparecido Mota, José Wil
Keywords list	spatial analysis, leptospirosis, goats, sheeps.