

Seroepidemiologia da leptospirose canina na região metropolitana de Natal, estado do Rio Grande do Norte

Seroepidemiology of canine leptospirosis in the metropolitan area of Natal, Rio Grande do Norte State

Annielle Regina Fonseca FERNANDES¹; Ademilde Gomes FERNANDES¹;
Vinicius José Apropriano ARAÚJO¹; Severino Silvano dos Santos HIGINO¹;
Maria Luana Cristiny Rodrigues SILVA¹; Clebert José ALVES¹; Sérgio Santos de AZEVEDO¹

¹Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural,
Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil

Resumo

Objetivou-se com este estudo determinar a frequência de cães soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. no município de Natal e região metropolitana, estado do Rio Grande do Norte, e identificar fatores de risco associados à infecção. Foram examinadas 365 amostras de soro sanguíneo de cães atendidos na rotina de diversas clínicas veterinárias durante o período de março a novembro de 2011. O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM), utilizando-se 24 sorovares de *Leptospira* spp. como antígenos. Dos 365 cães, 25 foram soropositivos para pelo menos um dos sorovares de *Leptospira* spp., com frequência de 6,8%. Os sorovares com reações sorológicas mais frequentes foram Shermani (40%), Sentot (36%) e Copenhageni (20%). O perfil epidemiológico da leptospirose canina na região metropolitana de Natal, estado do Rio Grande do Norte, indica que a infecção ocorre com frequência baixa em comparação com outras regiões, provavelmente devido ao grande percentual de animais vacinados, bem como, sugere-se distribuição homogênea de animais soropositivos na região. Por outro lado, a presença de roedores pode ser um importante fator de risco, uma vez que sorovares mantidos por estes animais foram identificados entre os mais frequentes.

Palavras-chave: *Leptospira* spp. Sorologia. Fatores de risco. Cães. Nordeste do Brasil.

Abstract

The aim of this study was to determine the frequency of dogs seropositive to anti-*Leptospira* spp. antibodies in Natal and metropolitan area, Rio Grande do Norte state, and to identify risk factors associated with the infection. A total of 365 blood samples were collected from dogs attended at the routine of several veterinary clinics during March to November 2011. Serological diagnosis of leptospirosis was carried out using the microscopic agglutination test (MAT) with 24 *Leptospira* spp. serovars as antigens. Of the 365 dogs 25 were seropositive for at least one of the *Leptospira* spp. serovars with frequency of 6.8%. Serovars with most frequent serological reactions were Shermani (40%), Sentot (36%) and Copenhageni (20%). The epidemiological profile of canine leptospirosis in the metropolitan region of Natal, Rio Grande do Norte state, indicates that the infection occurs in a low frequency compared with other regions, probably due to high percentage of vaccinated animals, as well as it is suggested homogenous distribution of seropositive animals in the region. Moreover, presence of rodents can be a significant risk factor since serovars maintained by these animals were identified among the most frequent.

Keywords: *Leptospira* spp. Serology. Risk factors. Dogs. Northeastern Brazil.

Introdução

A leptospirose é uma zoonose infectocontagiosa, amplamente disseminada, de caráter agudo e crônico, que acomete animais domésticos, silvestres e seres humanos, e sua relevância se dá pelo efeito que possui tanto na economia quanto na saúde pública (ALVES et al., 2003). A ocorrência dessa enfermidade é variável

Correspondência para:

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

Recebido: 19/04/2013

Aprovado: 30/08/2013

nas diferentes regiões do mundo, podendo apresentar-se tanto na forma esporádica quanto na endêmica e sua distribuição geográfica é fortemente favorecida pelas condições ambientais das regiões de clima tropical e subtropical, além dos condicionantes socioeconômicos (CÔRTEZ, 1993; BATISTA et al., 2004).

A leptospirose é causada por bactérias do gênero *Leptospira*, que contempla 12 genótipos distintos com mais de 300 sorovares (MERIEN et al., 2005). Essa grande variedade de sorovares propicia a ocorrência de variações regionais, bem como nas espécies estudadas. Constata-se, ainda, uma predileção dos diferentes sorovares por determinadas espécies, podendo um mesmo hospedeiro ser infectado simultaneamente por mais de um sorovar (ACHA; SZYFRES, 2001).

O principal reservatório da *Leptospira* spp. no meio urbano é reconhecidamente o rato, particularmente o *Rattus norvegicus*, que a abriga de forma permanente, principalmente os membros do sorogrupo *Icterohaemorrhagiae*, sendo capaz de eliminá-los de forma intermitente e por longos períodos pela urina (FAINE et al., 1999). No entanto, entre os animais domésticos, os cães assumem o papel de importantes fontes de infecção. Essa relevância na transmissão da leptospirose ao homem se deve ao fato da relação cão/humano ser, cada vez mais, de forma estreita e prolongada, aliando-se ao fato de o cão excretar leptospirosas vivas pela urina por longos períodos, geralmente não apresentando sinais clínicos da doença (LILENBAUM et al., 2005).

O contato indireto com água ou solo contaminado são vias de transmissão comuns para o homem, particularmente nas ocasiões em que ocorrem elevados índices de precipitações pluviométricas e nas regiões em que o solo apresenta reação neutra ou levemente alcalina, uma vez que estas condições facilitam a sobrevivência desses microrganismos no ambiente, associando-se, ainda, a variedade de espécies hospedeiras que facilitam a cadeia de eventos necessários para a transmissão da doença (FAINE et al., 1999; BATISTA et al., 2005).

Os inquéritos sorológicos exercem um papel de relevância indiscutível no controle da leptospirose, pois

permitem o conhecimento dos diferentes sorogrupos existentes em determinada região (FAINE et al., 1999). Além dos resultados sorológicos, é importante a avaliação dos fatores de risco aos quais os cães estão expostos, que justificam a sua importância como reservatórios e fontes de infecção para o homem, permitindo, assim, um direcionamento racional das medidas de prevenção (AZEVEDO et al., 2011).

Desse modo, em virtude da relevância da leptospirose como zoonose, da escassez de estudos sobre o tema no estado do Rio Grande do Norte e com a finalidade de ampliar informações acerca de sua epidemiologia, objetivou-se com este trabalho determinar a frequência de cães soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. no município de Natal e região metropolitana, identificar fatores de risco associados à infecção, bem como sua distribuição espacial.

Materiais e Métodos

A pesquisa foi realizada no município de Natal, capital do estado do Rio Grande do Norte que possui uma área de 167 km², população de 803.739 habitantes, temperatura média de 28°C, precipitação pluviométrica média anual de 1.554 mm e uma altitude média de 33 metros acima do nível do mar. O município está subdividido em 37 bairros e é a sede de uma zona metropolitana composta por dez municípios (BRASIL).

Foram utilizados 365 cães com idade acima de três meses, sem sinais clínicos sugestivos de leptospirose atendidos na rotina de dez clínicas particulares (Figura 1) durante o período de março a novembro de 2011. Não foram adotados critérios probabilísticos para a seleção dos animais por clínica, levando-se em conta apenas a disponibilidade e o consentimento dos proprietários. A colheita de sangue foi efetuada por punção das veias jugular externa ou cefálica, utilizando-se seringas descartáveis de 5 mL. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3.500 rpm por 15 minutos para obtenção do soro, o qual foi estocado a -20°C para posterior realização do diagnóstico sorológico da infecção. Os proprietários dos cães responderam a

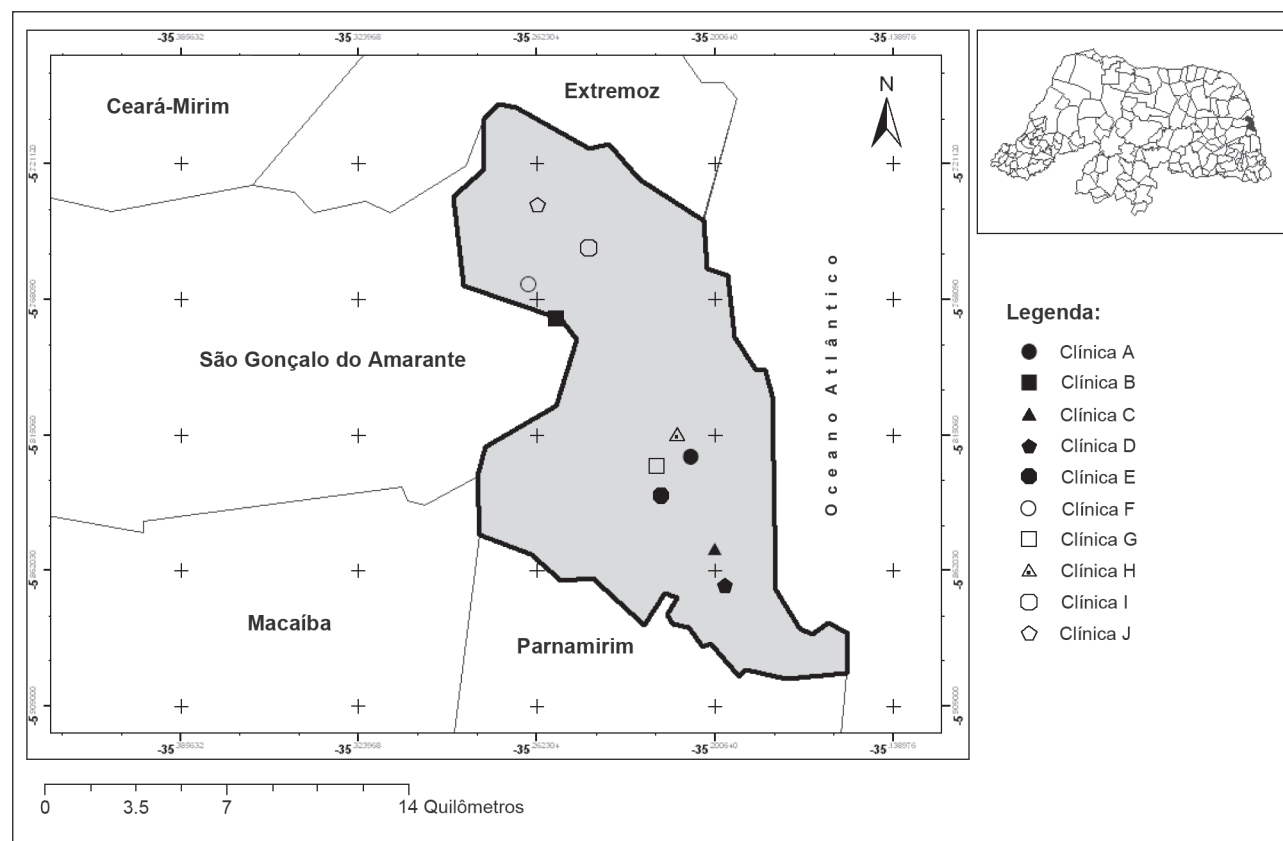


Figura 1 - Mapa da região metropolitana de Natal, estado do Rio Grande do Norte, demonstrando as dez clínicas veterinárias particulares utilizadas
Fonte: arquivo pessoal.

um questionário epidemiológico, elaborado de modo a fornecer dados com o intuito de verificar a ausência ou presença de algumas práticas e condições que atuassem como possíveis fatores de risco para a leptospirose canina.

Para o diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp. foi utilizada a técnica de soroaglutinação microscópica (GALTON et al., 1965; COLE; SULZER; PURSELL, 1973), com uma coleção de antígenos vivos que incluiu 24 sorovares: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippotyphosa, Hedemadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjoprajitno, Wolffi, Hardjobovis, Shermani, Tassarovi, Patoc e Sentot. Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram

titulados pelo exame de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado 50% de leptospiros aglutinadas por campo microscópico. Os animais com título ≥ 100 foram considerados positivos. Os antígenos foram examinados ao microscópio de campo escuro, previamente aos testes, a fim de verificar a mobilidade e a presença de autoaglutinação ou de contaminantes.

Para a verificação de possível associação entre os dados obtidos com os questionários epidemiológicos e a ocorrência da infecção, foi utilizado o teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher. A comparação da frequência de animais soropositivos por clínica foi efetuada com o teste G. O nível de significância adotado foi de 5%, e as análises foram realizadas com os programas SPSS 20.0 for Windows e BioEstat 5.3.

Resultados e Discussão

Dos 365 animais examinados, 25 apresentaram anticorpos contra *Leptospira* spp., com frequência de 6,8% e títulos variando de 100 a 3200, predominando reações sorológicas para os sorovares Shermani (40%), Sentot (36%) e Copenhageni (20%). Também foi encontrada reação positiva para o sorovar Grippotyphosa (4%) (Tabela 1). Os resultados por clínica são apresentados na Tabela 2, na qual se observa que apenas na clínica E não houve animais positivos, sugerindo distribuição homogênea de animais soropositivos na região. Não foi observada diferença estatística entre as clínicas com relação à frequência de animais soropositivos ($p = 0,212$).

Frequências superiores a este estudo foram obtidas por Azevedo et al. (2011) na cidade de Patos, semiárido paraibano, Lemos, Melo e Viegas (2010) em cães errantes no município de Aracaju, Sergipe, Silva et al. (2009) em Botucatu, São Paulo, Aguiar et al. (2007) no município de Monte Negro, Rondônia e Recuero et al. (2006), também utilizando cães errantes da zona sul do Rio Grande do Sul, que encontraram, respectivamente, 19,73%, 37%, 17,9%, 27,3% e 33%. Essas diferenças na porcentagem de positividade podem ser explicadas pela variedade de fatores que influenciam a ocorrência da leptospirose, com destaque para a topografia, região, temperatura, umidade, precipitações pluviométricas, reservatórios selvagens, reservatórios domésticos e outros fatores ambientais, bem como

Tabela 1 - Cães submetidos à reação de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico de leptospirose segundo o sorovar reator e o respectivo título. Natal, Rio Grande do Norte, colheitas efetuadas no período de março a novembro de 2011

Sorovar	Título de anticorpos						Total (%)
	100	200	400	800	1600	3200	
Shermani	0	3	0	1	4	2	10 (40%)
Sentot	0	1	3	1	1	3	9 (36%)
Copenhageni	2	2	0	0	1	0	5 (20%)
Grippotyphosa	0	1	0	0	0	0	1 (4%)
Total	2	7	3	2	6	5	25 (100%)

Tabela 2 - Cães submetidos à reação de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico de leptospirose segundo a clínica e o sorovar reator. Natal, Rio Grande do Norte, colheitas efetuadas no período de março a novembro de 2011

Clínica Veterinária	Nº de animais utilizados	Nº de animais positivos (%)	Sorovares encontrados	Localização
A	122	13 (10,7)	Shermani, Sentot, Copenhageni	Zona Sul
B	48	3 (6,3)	Sentot, Copenhageni	Zona Sul
C	36	1 (2,8)	Shermani	Zona Sul
D	28	1 (3,6)	Sentot	Zona Oeste
E	10	0 (0)	-	Zona Oeste
F	6	1 (16,7)	Shermani	Zona Leste
G	79	2 (2,5)	Shermani, Grippotyphosa	Zona Norte
H	18	1(5,6)	Sentot	Zona Norte
I	8	2(25)	Shermani, Copenhageni	Zona Norte
J	10	1(10)	Sentot	Zona Norte
Total	365	25 (6,8)

pela diferença nas populações caninas estudadas (ALVES et al., 2000). A baixa frequência de animais soropositivos no presente trabalho pode ser justificada pela ampla utilização de vacinas antileptospirose na região, visto que 335 cães foram vacinados contra a doença, representando 91,8% dos animais (Tabela 3).

No presente trabalho houve predominância de reações sorológicas para o sorovar Shermani (40%), considerado acidental para cães, contudo, frequências de positividade para este sorovar, bem inferiores foram obtidas por Lemos, Melo e Viegas (2010), Silva et al. (2009), Aguiar et al. (2007) e Viegas et al. (2001), nas quais o sorovar Shermani apresentou 5,4% (2/100),

3,68% (5/1000), 7,5% (7/329) e 0,83% (1/120) de positividade, respectivamente. O sorovar Shermani foi isolado pela primeira vez do roedor selvagem *Proechimys semispinosus* no Panamá, em 1982 (SULZER; POPE; ROGERS, 1982), o que sugere a possível importância dos roedores na transmissão da bactéria para os cães na região metropolitana de Natal. De acordo com Bolin (1996), em regiões particulares, diferentes sorovares são prevalentes e associados a um ou mais hospedeiros mantenedores que servem de reservatórios de infecção. Esses hospedeiros são frequentemente espécies silvestres e, algumas vezes, animais domésticos e de produção.

Tabela 3 - Associação entre variáveis epidemiológicas e ocorrência de cães soropositivos para anticorpos anti-*Leptospira* spp. na região metropolitana de Natal, Rio Grande do Norte, no período de março a novembro de 2011

Variável	Categoria	Nº total de animais	Nº de animais soropositivos (%)	P
Escaridade do proprietário	1º Grau incompleto	2	0 (0)	0,849
	1º Grau completo	3	0 (0)	
	2º Grau incompleto	13	2 (15,4)	
	2º Grau completo	155	10 (6,5)	
	3º Grau incompleto	20	1 (5)	
	3º Grau completo	172	12 (7)	
Sexo dos animais	Macho	164	14 (8,5)	0,345
	Fêmea	201	11 (5,5)	
Idade dos animais	3 – 12 meses	45	1 (2,2)	0,320
	13 – 48 meses	126	7 (5,6)	
	49 – 72 meses	55	6 (10,9)	
	> 72 meses	139	11 (7,9)	
Raça	Sem raça definida	86	5 (5,8)	0,849
	Com raça definida	274	20 (7,2)	
Tipo de criação	Domiciliar	327	23 (7)	0,788
	Semidomiciliar	32	2 (6,3)	
	Solto	6	0 (0)	
Alimentação	Ração comercial	230	18 (7,8)	0,567
	Comida caseira	12	1 (8,3)	
	Ração + comida caseira	123	6 (4,9)	
Vacinação	Não	30	0 (0)	0,247
	Sim	335	25 (7,5)	
Passear com os cães	Não	184	12 (6,5)	0,966
	Sim	181	13 (7,2)	
Viajar com os cães	Não	308	23 (7,5)	0,396
	Sim	57	2 (3,5)	
Contato com outros cães	Não	149	13 (8,7)	0,333
	Sim	216	12 (5,6)	
Contato com roedores	Não	219	18 (8,2)	0,290
	Sim	146	7 (4,8)	
Contato com açudes	Não	316	23 (7,3)	0,553
	Sim	49	2 (4,1)	

O sorovar Sentot foi o segundo mais frequente com 36% das reações positivas. Esse sorovar também foi verificado em cães de Pelotas, RS, com 0,82% (4/489) de frequência (JOUGLARD; BROD, 2000). Corrêa et al. (1964) relataram dois casos do sorovar Sentot em pacientes humanos no estado de São Paulo, os primeiros a serem registrados no Brasil, e referiram que esse sorovar é descrito como causador de doença clínica em seres humanos. Os achados desses estudos e os resultados do presente trabalho ressaltam a importância do sorovar Sentot em casos de leptospirose humana, e o possível risco de transmissão entre seres humanos e cães.

Para Masculli et al. (2002), a ocorrência do sorovar Copenhageni, identificado como o terceiro mais frequente, aponta a importância da população de roedores na transmissão da doença, uma vez que os ratos e, em especial, as ratazanas, são tidos como os principais reservatórios deste sorovar. Reforça-se, então, a necessidade de programas de controle de roedores, adotando-se, além das medidas ofensivas (desratização), normalmente as únicas utilizadas, a inclusão de modificações ambientais como medidas preventivas (antirratização) e a educação em saúde (BATISTA et al., 2005).

Houve ausência de reações para a sorovariedade Canicola, o que causou surpresa, pois a mesma é reconhecidamente a mais encontrada em cães (FAINE et al., 1999). Esse achado corrobora os resultados obtidos por Azevedo et al. (2011), Batista et al. (2004) e Alves et al. (2000), que também não encontraram animais positivos para essa sorovariedade. Esse fato também pode ser atribuído à ampla utilização de vacinas antileptospirose na região, que possuem na sua composição o sorovar Canicola.

É amplamente conhecida a possibilidade de influência de anticorpos vacinais na ocorrência de resultados falso-positivos no diagnóstico sorológico de leptospirose, no entanto, dos 25 animais soropositivos apenas um havia sido vacinado há menos de um ano da colheita de sangue. De acordo com Rodrigues et al. (2013), as vacinas contra leptospirose conferem imunidade de duração variável de três a 12 meses na dependência da concentra-

ção do antígeno vacinal, do número de doses aplicadas e do sorovar empregado na produção da bacterina mas, em geral, considera-se a duração de imunidade de doze meses (GREENE et al., 2012). Dessa maneira, considera-se que, no presente trabalho, a interferência de anticorpos vacinais no diagnóstico sorológico foi mínima.

Não foi observada associação entre as variáveis estudadas e a ocorrência da infecção (Tabela 3), no entanto, acredita-se que o contato com roedores possa representar um importante fator de risco na região, uma vez que sorovares mantidos por estes animais (Shermani e Copenhageni) foram apontados entre os mais frequentes. Uma explicação para a ausência de significância estatística dessa variável com a ocorrência da doença seria a ocorrência de viés no questionário epidemiológico, uma vez que os proprietários podem se sentir constrangidos ao responderem afirmativamente a questão sobre presença de roedores na residência, o que os leva a uma possível omissão da informação.

Conclusões

Na região metropolitana de Natal, estado do Rio Grande do Norte, o perfil epidemiológico observado para a leptospirose canina, revelou que nesta região a infecção apresentou uma distribuição homogênea e que ocorre com frequência baixa em comparação a outras regiões do Brasil, provavelmente devido ao grande percentual de animais vacinados. Por outro lado, embora não apontado estatisticamente, a presença de roedores pode ser um importante fator de risco na região, uma vez que sorovares mantidos por estes animais foram identificados entre os mais frequentes.

Agradecimentos

Aos Médicos Veterinários Raimundo Nonato A. Filho, Ademilde Gomes Fernandes, Marcela Fiuza, Wilma, Renata Célis, Mônica, Arachelly Gurgel, Giezy Félix Barbosa Junior, Cinthia Camacho e Leonardo pela ajuda nas colheitas de sangue. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

Referências

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. 398 p. v.1.
- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; MARVULO, M. F. V.; SILVA, J. C. R.; PINTER, A.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 70-76, 2007.
- ALVES, C. J.; ANDRADE, J. S. L.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; AZEVEDO, S. S.; SANTOS, F. A. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospira em cães no município de Patos - PB, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 7, p. 17-21, 2000.
- ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; ANDRADE, J. S. L.; CLEMENTINO, I. J.; AZEVEDO, S. S.; SANTOS, F. A. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospiras em gatos no município de Patos, PB. **Clínica Veterinária**, v. 46, p. 48-54, 2003.
- AZEVEDO, S. S.; FERNANDES, A. R. F.; QUEIROGA, I. M. B. N.; ALVES, C. J.; MORAIS, Z. M.; SANTOS, C. S. A. B.; VASCONCELLOS, S. A. Ocorrência e fatores de risco associados à leptospirose em cães atendidos em hospital veterinário no semiárido paraibano. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, p. 161-166, 2011.
- BATISTA, C. S. A.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; CLEMENTINO, I. J.; ALVES, F. A. L.; LIMA, F. S.; ARAÚJO NETO, J. O. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, p. 179-185, 2005.
- BATISTA, C. S. A.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; CLEMENTINO, I. J.; LIMA, F. S.; ARAÚJO NETO, J. O. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 131-136, 2004.
- BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars in Veterinary Medicine & Surgery (Small Animal)**, v. 11, p. 166-171, 1996.
- BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@Rio Grande do Norte. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>.
- COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PURSELL, A. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. **Applied Microbiology**, v. 25, p. 976-980, 1973.
- CORRÊA, M. O. A.; HYAKUTAKE, S.; NATALE, V.; TIRIBA, A. C.; GALVÃO, P. A. A. Leptospiroses humanas ainda não assinaladas no Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 6, p. 71-74, 1964.
- CÔRTEZ, J. A. **Epidemiologia: conceitos e princípios fundamentais**. São Paulo: Varela, 1993. 227 p.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272 p.
- GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v. 13, p. 81-85, 1965.
- GREENE, C. E.; SYKES, J. E.; MOORE, G. E.; GOLDSTEIN, R. E.; SCHULTZ, R. D. Leptospirosis. In: GREENE, C. E. (Ed.). **Infectious disease of the dog and the cat**. 4. ed., St Louis: Elsevier Saunders, 2012. p. 431-447.
- JOUGLARD, S. D. D.; BROD, C. S. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural no Município de Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 67, p. 181-185, 2000.
- LEMONS, J. P.; MELO, C. B.; VIEGAS, S. A. R. A. Análise sorológica de *Leptospira* spp. em cães errantes no Município de Aracaju. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 14, p. 1-16, 2010.
- LILENBAUM, W.; VARGES, R.; MORAES, I. A.; FERREIRA, A. M. R.; PISSINATTI, A. Leptospiral antibodies in captive lion tamarins (*Leontopithecus* sp.) in Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 169, p. 462-464, 2005.
- MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; MORAIS, Z. M.; PINTO, C. O.; SUCUPIRA, M. C. A.; DIAS, R. A.; MIRAGLIA, F.; CORTEZ, A.; COSTA, S. S.; TABATA, R.; MARCONDES, A. G. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 25-32, 2002.
- MERIEN, F.; PORTNOI, D.; BOURHY, P.; CHARAVAY, F.; BERLIOZARTHAUD, A.; BARANTON, G. A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in human leptospirosis. **FEMS Microbiology Letters**, v. 249, p. 139-147, 2005.
- RECUERO, R. C.; RECUERO, A. L. C.; RASSIER, G.; AMADO, M. O.; BROD, C. S.; FERNANDES, C. P. H. Epidemiologia sorológica da leptospirose em cães errantes da zona sul do Rio Grande do Sul, Brasil. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15., 2006, Pelotas. **Resumos...** Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2006.
- RODRIGUES, A. M. A.; VASCONCELLOS, S. A.; GONÇALES, A. P.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G. O.; HAGIWARA, M. K. Anticorpos revelados pelo teste de inibição do crescimento de leptospiras *in vitro* (TICL) contra os sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae e Copenhageni em cães adultos revacinados anualmente com vacina comercial contendo bacterinas dos sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa e Pomona. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 627-634, 2013.
- SILVA, W. B.; SIMÕES, L. B.; PADOVANI, C. R.; LANGONI, H.; LOPES, A. L. S.; MODOLO, J. R. Inquérito sorológico e distribuição espacial da leptospirose canina em área territorial urbana da cidade de Botucatu, São Paulo. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, p. 656-668, 2009.
- SULZER, K.; POPE, V.; ROGERS, F. New leptospiral serotypes (serovars) from the Western Hemisphere isolated during 1964 through 1970. **Revista Latino-Americana de Microbiologia**, v. 24, p. 15-17, 1982.
- VIEGAS, S. A. R. A.; TAVARES, C. H. T.; OLIVEIRA, E. M. D.; DIAS, A. R.; MENDONÇA, F. F.; SANTOS, M. F. P. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de Salvador - Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, p. 21-30, 2001.