

## Estudo soropidemiológico de leptospirose em equinos utilizados para tração urbana

### Leptospirosis seroepidemiological study in horses used for urban traction

RIALA6/1506

Kelly CASELANI<sup>1\*</sup>, Paulo Roberto de OLIVEIRA<sup>2</sup>, Antonio Sergio FERRAUDO<sup>1</sup>, Anna Monteiro Correia LIMA-RIBEIRO<sup>2</sup>, Raul José Silva GÍRIO<sup>1</sup>

\*Endereço para correspondência: <sup>1</sup>Departamento de Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp), Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, CEP 14844-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: kellycaselani@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Laboratório de Doenças Infecto-contagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, Brasil

Recebido: 27.10.2010 – Aceito para publicação: 26.06.2012

#### RESUMO

Este trabalho analisou a associação entre a ocorrência da leptospirose em equinos de tração em áreas urbanas do município de Uberlândia (MG), com os seguintes fatores de risco: presença de roedores, contato com outras espécies animais, local de repouso e manejo sanitário. A presença ou a ausência de anticorpos anti-*Leptospira* nas 79 amostras de sangue equino foi avaliada pelo teste de soroaglutinação microscópica (SAM) em campo escuro. As informações referentes à presença de roedores, contato com outras espécies animais, local de repouso e manejo sanitário foram obtidas por meio de questionário. As variáveis avaliadas, por serem do tipo categórico, foram submetidas à análise de correspondência múltipla. A taxa de positividade para anticorpo anti-*Leptospira* foi de 44,30%, e os sorovares mais encontrados foram: *icterohaemorrhagiae* (21,51%), *hardjo* (15,05%) e *castellonis* (10,75%). A presença de roedores, contato com outras espécies animais e ausência de manejo sanitário apresentaram associação com a infecção em equinos, e a alta frequência de aglutininas anti-*Leptospira* encontrada no soro sanguíneo demonstra a susceptibilidade destes animais aos sorovares de *Leptospira interrogans*.

**Palavras-chave.** *Leptospira interrogans*, equinos, sorologia, fatores de risco.

#### ABSTRACT

This study aimed at investigating the association of the occurrence of leptospirosis in horses employed for traction in urban areas of the city of Uberlândia-MG with the following risk factors: presence of rodents, contact with other animal species, resting place and sanitary management. The presence or absence of anti-*Leptospira* antibody was assessed in 79 horse blood samples by means of the microscopic agglutination test (MAT) in dark field. Information regarding the presence of rodents, the contact with other animal species, the resting place, and the sanitary management were obtained by means of a questionnaire. For being of categorical type, these variables were subjected to the multiple correspondence analysis. The rate of antibodies anti-*Leptospira* positivity was 44.30% and the most commonly found serovars were *icterohaemorrhagiae* (21.51%), *hardjo* (15.05%), and *castellonis* (10.75%). The presence of rodents, the contact with other animal species and the lack of sanitary management were associated with the horse infection, and the high frequency of anti-*Leptospira* agglutinins detected in serum samples from the analyzed horses showed that these animals are susceptible to the *Leptospira interrogans* serovars.

**Keywords.** *Leptospira interrogans*, horse, serology, risk factors.

## INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma enfermidade infectocontagiosa dos animais domésticos, selvagens e do homem, causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. Constitui-se da zoonose mais difundida no mundo, de indiscutível interesse sanitário, econômico e social, sendo caracterizada por quadro clínico variável e, na maioria dos casos, assintomática<sup>1,2</sup>.

Possui distribuição geográfica cosmopolita, entretanto, a sua ocorrência é favorecida pelas condições climáticas e ambientais existentes nas regiões de clima tropical e subtropical, onde a elevada temperatura e os períodos do ano com altos índices pluviométricos favorecem o aparecimento de surtos epidêmicos, de caráter estacional<sup>3</sup>.

Não há transmissores especiais. Os reservatórios são animais domésticos, de maior significado epidemiológico, e silvestres portadores e convalescentes, que mantêm o agente nos rins. Nos ecossistemas rurais e urbanos, os principais reservatórios de leptospirosas são os roedores sinantrópicos, por terem capacidade de eliminar bactérias pela urina por muitos anos<sup>4</sup>. São susceptíveis todos os mamíferos domésticos, porém, os suínos e bovinos são mais afetados que os equinos, caprinos e ovinos<sup>5,6</sup>.

Os equinos podem apresentar uma forma clinicamente não sintomática, ou desenvolver uma forma aguda ou crônica<sup>7</sup>. A forma aguda, caracterizada por septicemia, encefalite, hepatite e nefrite é rara<sup>8</sup>. A manifestação clínica mais frequente é o comprometimento do globo ocular com vários graus de conjutivite, ceratite e uveíte, podendo evoluir para cegueira, devido à presença de leptospirosas no interior do globo ocular<sup>9</sup>. Abortos, parto de natimortos, doença neonatal e morte neonatal também têm sido verificados<sup>10</sup>.

Segundo Santa Rosa<sup>11</sup>, técnicas como exames microscópicos, cultivo, inoculação e pesquisa de anticorpos podem ser métodos eficientes de diagnóstico das leptospiroses. Embora muitos outros métodos indiretos venham a ser utilizados no diagnóstico, a prova de soroaglutinação microscópica (SAM) em campo escuro é a mais realizada, pois tem alta sensibilidade, além de ser altamente específica<sup>12</sup>. A SAM pode ser extremamente útil em investigações epidemiológicas, sendo o método de preferência e o mais recomendado pela Organização Mundial da Saúde<sup>13</sup>.

Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivos determinar a ocorrência da leptospirose em equinos de tração em áreas urbanas de Uberlândia

(MG), utilizando a SAM em campo escuro, e verificar a associação entre a taxa de positividade com os fatores de risco: presença de roedores, contato com outras espécies animais, local de repouso e manejo sanitário.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido de abril a julho de 2007, entre colheitas de sangue e a realização da SAM. Foram utilizadas amostras de sangue de 79 equinos de tração em áreas urbanas, provenientes de Uberlândia, que prestavam serviço de frete. Do total de amostras, 16 foram realizadas no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia e 63, no Laboratório de Diagnóstico de Leptospirose e Brucelose da Unesp de Jaboticabal.

O sangue foi colhido assepticamente pelo sistema Vacutainer, em tubos sem anticoagulante, numa quantidade de 5 mL. As amostras foram mantidas sob refrigeração em caixas isotérmicas, com temperatura em torno de -22 °C, até o momento das análises, sendo conduzidas aos laboratórios participantes do projeto. Após a coagulação, o sangue foi centrifugado a 2.500 rotações por minuto, durante 10 minutos, para a obtenção do soro.

A análise das amostras de sangue foi realizada por meio da SAM, com antígenos vivos. Para isso, foram utilizados os sorovares: *autumnalis*, *australis*, *bataviae*, *bratislava*, *canicola*, *castellonis*, *cynopteri*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *sentot* e *wolffi*. As provas foram executadas de acordo com Santa Rosa<sup>11</sup>.

As estirpes de *Leptospira* spp. foram cultivadas em meio líquido STUART (Difco®), enriquecido com 10% de soro estéril de coelho, sendo repicadas semanalmente. O meio utilizado estava isento de anti-*Leptospira*, livres de contaminação e aglutinação, com 100 a 200 leptospirosas por campo.

As amostras de soros foram então diluídas em solução tamponada de Sorensen, inicialmente na diluição 1:25. Dessa diluição, foram colocadas alíquotas de 50 µl em microplacas e adicionada igual quantidade de antígeno, resultando na diluição de 1:100 para triagem. A leitura das reações foi realizada em microscópio de campo escuro, após a incubação da mistura soro-antígeno por três horas em temperatura de 28 °C. O soro considerado reagente apresentou no mínimo 50% de aglutinação, ou seja, metade das leptospirosas aglutinadas no microscópio no aumento de 100 vezes<sup>14</sup>.

A análise do perfil epidemiológico (fatores de risco) foi obtida por meio de questionário, aplicado ao proprietário de cada animal. Foram obtidas as seguintes informações: presença de roedores (ROE: Sim ou Não), contato com outras espécies animais (CONT: Sim ou Não), local de repouso (LR: a) pasto ou b) terreno) e manejo sanitário (MAN: Sim ou Não). As correspondências entre taxa de positividade da leptospirose (LEPT: Sim ou Não) com os fatores de risco foram obtidas por análise de correspondência múltipla (ACM) utilizando a Matriz X'X (matriz de Burt), onde X é a matriz das informações originais formada por 0 (ausência) ou 1 (presença) do nível de cada fator de risco e X' é a transposta de X<sup>15</sup>. O teste qui-quadrado foi aplicado para verificar a significância estatística entre os fatores de risco e a presença da doença.

## RESULTADOS

Das 79 amostras de soro sanguíneo coletadas, 35 (44,3%) apresentaram reações positivas para uma ou mais sorovariedades de leptospiros, com títulos iguais ou superiores a 1:100.

A Tabela 1 apresenta a distribuição das sorovariedades de *Leptospira interrogans* em ordem decrescente. Os sorovares *icterohaemorrhagiae* (21,51%), *hardjo* (15,05%) e *castellonis* (10,75%) foram encontrados com maior frequência, enquanto os sorovares *grippotyphosa* e *pomona* não reagiram para nenhuma amostra de soro sanguíneo.

Dos animais examinados que tiveram contato com roedores, 70% reagiram positivamente para leptospirose, evidenciando associação entre presença de roedores e soros reagentes para *Leptospira interrogans* ( $p < 0,05$ ). Ficou evidenciada também associação entre ocorrência da enfermidade e equinos que mantinham contato com outras espécies e a ausência de manejo sanitário ( $p < 0,05$ ).

A ocorrência da enfermidade não apresentou associação com equinos que convivem em pasto ou em terreno ( $p > 0,05$ ). No entanto, a taxa de ocorrência foi ligeiramente maior (51,43%) entre os animais que habitam terrenos, quando comparados àqueles que frequentam pastos (48,57%).

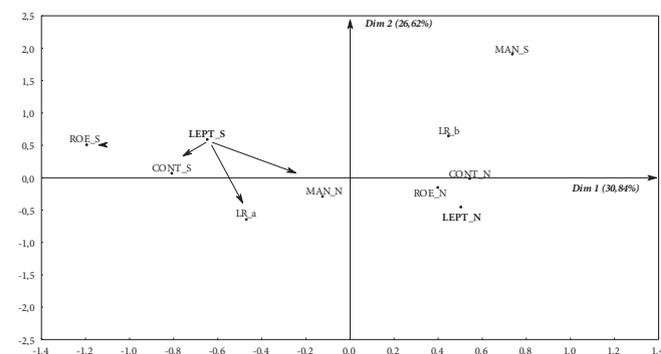
Essas associações foram confirmadas por análise de correspondência múltipla ao se considerar a estrutura multivariada contida nas informações. O mapa perceptual resultante conseguiu reter 57,56% (30,84% na dimensão 1 e 26,62% na dimensão 2) da inércia original (Figura 1). Os valores do qui-quadrado foram expressivos para as

associações: presença de roedores; contato dos equinos com outras espécies animais; e a ausência de manejo sanitário com a leptospirose. O valor do qui-quadrado responsável pela associação entre local de repouso-pasto e a enfermidade foi muito baixo e não significativo pelo teste univariado qui-quadrado, porém essa associação não pode ser desprezada, conforme se vê na Figura 1.

**Tabela 1.** Sorovares de *Leptospira interrogans* em equinos de tração em áreas urbanas, examinados pelo teste de soroglutinação microscópica em campo escuro. Uberlândia, 2007

Sorovares	Número de reações <sup>a</sup>	Percentual
<i>icterohaemorrhagiae</i>	20	21,51
<i>hardjo</i>	14	15,05
<i>castellonis</i>	10	10,75
<i>pyrogenes</i>	8	8,6
<i>autumnalis</i>	7	7,53
<i>cynopteri</i>	7	7,53
<i>sentot</i>	7	7,53
<i>wolffi</i>	5	5,39
<i>australis</i>	4	4,3
<i>panama</i>	4	4,3
<i>bataviae</i>	2	2,15
<i>bratislava</i>	2	2,15
<i>canicola</i>	1	1,07
<i>hebdomadis</i>	1	1,07
<i>tarassovi</i>	1	1,07
<i>grippotyphosa</i>	-	-
<i>pomona</i>	-	-
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100</b>

<sup>a</sup> Um animal pode reagir positivamente a mais de um sorovar.



**Figura 1.** Mapa perceptual resultante da análise de correspondência múltipla, contendo a distribuição dos fatores de risco e da leptospirose em equinos utilizados na tração urbana em Uberlândia, em 2007

LEPT\_S: presença da leptospirose; LEPT\_N: ausência da leptospirose; ROE\_S: presença de roedores; ROE\_N: ausência de roedores; CONT\_S: contato com outras espécies animais; CONT\_N: ausência de contato com outras espécies animais; LR\_a) local de repouso - pasto; LR\_b) local de repouso - terreno; MAN\_S: presença de manejo sanitário; MAN\_N: ausência de manejo sanitário.

## DISCUSSÃO

Contrariamente ao encontrado neste trabalho, Giorgi et al.<sup>5</sup>, Chiareli et al.<sup>16</sup> e Siqueira<sup>17</sup> relataram prevalência mais baixa para leptospirose em equinos, de 4,53% em São Paulo, 5,9% em Minas Gerais e de 8% na Bahia, respectivamente. As frequências baixas encontradas nesses estudos podem ser explicadas pelas melhores condições sanitárias e de manejo a que os animais eram submetidos.

Resultado mais próximo ao da presente pesquisa foi obtido por Lilenbaum<sup>18</sup>, que descreveu 42,96% de éguas reagentes para leptospirose no Rio de Janeiro. As semelhanças se justificam pelas condições similares de exposição dos equinos às leptospirosas, uma vez que, em seu estudo, Langoni et al.<sup>8</sup> descreveram prevalência (62,54%) significativamente maior entre animais de trabalho, quando comparado a animais de esporte (47,10%), confirmando a importância das práticas de manejo como fator de risco na infecção por *Leptospira interrogans*.

Por outro lado, Pellegrin et al.<sup>19</sup> no Pantanal, e Aguiar et al.<sup>20</sup> na Amazônia, observaram altas taxas de infecção, 92,6% e 90,7%, respectivamente, fato esse atribuído às pastagens nessas regiões permanecerem inundadas durante vários meses do ano, associadas à presença de diversos portadores da fauna local – condição esta favorável à manutenção e disseminação das leptospirosas.

Segundo Barwick et al.<sup>21</sup>, altos percentuais de animais positivos poderiam refletir o manejo higiênico-sanitário deficiente, pois uma das principais fontes de transmissão é a urina que contamina o pasto, a água e os alimentos. Além disso, outros fatores estariam associados à manutenção dessa doença no meio ambiente, como: a aquisição de animais infectados; espécies diferentes criadas em áreas comuns; acesso a fontes de água contaminadas (riachos, rios, alagamentos); e a presença dos hospedeiros de manutenção, que poderiam ser animais domésticos, silvestres ou roedores sinantrópicos.

O sorovar *icterohaemorrhagiae* foi descrito como o mais evidente em equinos em diversos estudos soropidemiológicos realizados no Brasil, como de Lilenbaum<sup>18</sup> no Rio de Janeiro; Favero et al.<sup>22</sup> em animais de diversas regiões do país; Langoni et al.<sup>8</sup> em São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul; e Hashimoto et al.<sup>23</sup> no Paraná, confirmando resultado encontrado neste trabalho. Lilenbaum<sup>18</sup> atribuiu o grande número de éguas positivas à manutenção dessa leptospira em roedores como principal fonte de contaminação para equinos.

A presença do sorovar *hardjo* difere dos resultados encontrados na literatura consultada<sup>8,18,22-24</sup>. Não era esperado que essa sorovariedade fosse uma das mais frequentes entre as pesquisadas em equinos, uma vez que esse sorovar possui os bovinos como hospedeiros de manutenção, sendo mais bem adaptada a essa espécie<sup>25</sup>. Alta frequência de animais positivos para *hardjo* foi evidenciada por meio de investigações realizadas por Pellegrin et al.<sup>19</sup> e Chiareli et al.<sup>16</sup>, os quais sugeriram que os bovinos poderiam contaminar o ambiente, transmitindo a infecção para os equinos. Os animais, objeto desse estudo, eram criados soltos, dividindo pastagens e bebedouros com bovinos, mantendo contato direto ou indireto com essa espécie, evidência que justificaria esse resultado.

Embora a maioria dos autores pesquisados não tenha registrado a sorovariedade *castellonis* entre as mais prevalentes, no presente trabalho foi verificado que 10,75% dos equinos apresentaram positividade para esse sorovar<sup>12,22,26</sup>. Hashimoto et al.<sup>23</sup> descreveram uma prevalência semelhante (10,22%), sugerindo a participação de bovinos na transmissão de *Leptospira* spp.

A despeito de ter sido observada associação entre a leptospirose em equinos e a presença de roedores, é possível compreendê-la considerando o sorovar *icterohaemorrhagiae* como o mais prevalente no presente estudo. Resultados estes que concordam com os obtidos por Favero et al.<sup>22</sup>, ao atribuírem a alta predominância do sorovar *icterohaemorrhagiae* à presença de roedores sinantrópicos.

A leptospirose é uma doença dependente de condições favoráveis para a sobrevivência do organismo no meio ambiente, entre elas o número de animais portadores em uma população<sup>27</sup>. Animais que mantiverem maior contato com outras espécies terão maiores chances de se contaminarem, uma vez que todos os mamíferos domésticos são susceptíveis, embora suínos e bovinos sejam mais afetados que equinos, caprinos e ovinos<sup>5,6</sup>. Lobo et al.<sup>28</sup> confirmaram os resultados dessa pesquisa em relação ao contato de equinos com outras espécies animais e a presença da doença, quando afirmaram que os animais domésticos são importantes reservatórios para leptospirose, devendo-se ressaltar ainda a possibilidade de intertransmissibilidade entre eles<sup>14</sup>.

A semelhança encontrada entre as taxas de ocorrência de leptospirose em equinos que habitam terrenos e que frequentam pastos pode ser explicada pelo manejo higiênico-sanitário deficiente em ambas. O pasto é uma das principais fontes de transmissão, quando

contaminado pela urina, além da água e alimento<sup>21</sup>. Deve-se também levar em consideração a grande capacidade de sobrevivência das leptospirosas em locais quentes e úmidos, proporcionado por esses ambientes.

A associação entre ausência de manejo sanitário e casos de leptospirose equina se deve a práticas inadequadas de manejo sanitário observadas, além do baixo nível de instrução dos proprietários, os quais dispunham de poucas informações sobre essa importante zoonose. Essa deficiência pode ter favorecido a disseminação da leptospirose entre esses animais. O baixo índice reagente à leptospirose, em um estudo realizado por Giorgi et al.<sup>5</sup>, foi explicado pelo fato dos animais da pesquisa serem cercados de cuidados especiais desde o nascimento até a idade adulta, principalmente na época da reprodução, permanecendo em ambientes que ensejam menores possibilidades de contato com leptospirosas.

## CONCLUSÃO

A ocorrência da leptospirose em equinos utilizados para tração urbana ficou associado aos fatores de risco: presença de roedores, contato com outras espécies animais e ausência de manejo sanitário.

A alta frequência de aglutininas anti-*Leptospira* encontrada no soro dos equinos evidencia a susceptibilidade destes animais aos sorovares de *Leptospira interrogans* e a necessidade de conscientização de carroceiros. Por se tratar de um problema de saúde pública, estudos adicionais devem ser realizados para se compreender melhor a epidemiologia da leptospirose em equinos que são utilizados em trabalhos de tração urbana.

## AGRADECIMENTOS

Aos proprietários dos animais, que gentilmente cederam as informações. Estes foram conscientizados dos resultados encontrados e receberam esclarecimentos e orientações. Aos laboratórios participantes do projeto e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS

1. Saiz-Moreno L. Las zoonosis. Barcelona: Aedos; 1976.
2. World Health Organization. Leptospirosis worldwide. *Weekly Epidemiol Rec*. 1999;74:237-42.
3. Barcelos C, Lammerhirt CB, Almeida MAB, Santos E. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. *Cad Saúde Pública*. 2003;19(5):1283-92.

4. Veronesi R. Doenças provocadas por Espiroquetídeos. In: Doenças infecciosas e parasitárias. 8ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 1991. p. 565-80.
5. Giorgi W, Teruya JM, Macruz R, Genovez EM, Silva AS, Bongo F. Leptospirose em equinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. *Biológico*. 1981;47(2):47-53.
6. Santa Rosa CA, Castro AFP, Silva AS. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 1969-1970;29-30:19-27.
7. Gírio RJS, Mathias LA, Lacerda Neto JC, Vasconcellos SA. Leptospirose experimental em equinos infectados com *Leptospira interrogans* sorotipo *copenhageni*. Aspectos clínicos e sorológicos. *Arq Inst Biol*. 1999;66(2):21-6.
8. Langoni H, Silva AV, Pezerico SB, Lima VY. Anti-*Leptospira* agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. *J Venom Anim Toxins*. 2004;10(3):207-18.
9. Valon F. Étude clinique, diagnostic et traitements des leptospiroses équine. *Prat Vet Equine*. 1998;30:7-14.
10. Pescador CA, Corbellini LG, Loretto AP, Júnior EW, Frantz FJ, Driemeier D. Aborto equino por *Leptospira* sp. *Cienc Rural*. 2004;34(1):271-4.
11. Santa Rosa CA. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. *Rev Microbiol*. 1970;1(2):97-109.
12. Caldas EM, Viegas EA, Reis RS, Massa LFM, Viegas SARA. Estudo comparativo entre estirpes de *L. interrogans* e *L. biflexa* no diagnóstico de triagem de leptospirose em animais. *Arq Esc Med Vet Univ Fed Bahia*. 1995-1996;18(1):126-41.
13. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14:296-326.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, Centro Nacional de Epidemiologia, Coordenação de controle de zoonoses e animais peçonhentos. Manual de Leptospirose. Brasília, DF, 2. ed. 1995.
15. Hair JF, Anderson RE, Tatham RL, Black W, eds. Análise Multivariada de dados. 5ª ed. Porto Alegre (RS): Bookman; 2005.
16. Chiareli D, Moreira EC, Gutiérrez HOD, Rodrigues RO, Marcelino AP, Meneses JNC, et al. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em equídeos em Minas Gerais, 2003 a 2004. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2008;60(6):1576-9.
17. Siqueira CC. Leptospirose equina: estudo soroepidemiológico nas regiões metropolitanas de Salvador e Recôncavo Baiano [dissertação de mestrado] Salvador (BA): Universidade Federal da Bahia; 2012.
18. Lilenbaum W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brazil (1993-1996). *Braz J Vet Res Anim Sci*. 1998;35(2):61-3.
19. Pellegrin AO, Silva RAMS, Ribeiro SC. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em equinos do Pantanal Mato-Grossense, sub-região da Nhecolândia. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. Anais. Olinda: SPEMV; 1994. p. 190.
20. Aguiar DM, Cavalcante GT, Lara MCCSH, Villalobos EMC, Cunha EMS, Okuda LH, et al. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2008;45(4):269-76.

21. Barwick RS, Mohammed HO, Atwill ER, McDonough PL, White ME. The prevalence of equine leptospirosis in New York State. *J Equine Sci*. 1998;9(4):119-24.
22. Favero ACM, Pinheiro SR, Vasconcellos SA, Morais ZM, Ferreira F, Neto JSF. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Cienc Rural*. 2002;32(4):613-9.
23. Hashimoto VY, Gonçalves DD, Silva FG, Oliveira RC, Alves LA, Reichmann P, et al. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2007;49(5):327-30.
24. Gomes AHB, Oliveira FCS, Cavalcanti LA, Conceição IR, Santos GR, Ramalho EJ, et al. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em soro de equinos no estado da Bahia. *Rev Bras Saúde Prod Anim*. 2007;8(3):144-51.
25. Ellis WA, O'Brien JJ, Cassells JA, Montgomery J. Leptospiral infections in horses in Northern Ireland: serological and microbiological findings. *Equine Vet J*. 1983;15(4):317-20.
26. Abuchaim DM. Presença de aglutininas anti-*Leptospira* em soros de equinos no estado do Rio Grande do Sul. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1991;19(1):9-14.
27. Hunter P, Herr S. Leptospirosis. In: Coetzer JAW, Thomson GR, Tustin RC, eds. *Infectious Diseases of Livestock*. Oxford: Oxford University; 1994. v. 2. p. 997-1008.
28. Lobo EA, Tautz S, Lovatto PB. Caracterização do padrão sorológico em animais domésticos potencialmente transmissores da leptospirose no município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. *Hora Vet*. 2003;23(134):29-32.