

FACULDADE VALE DO AÇO - FAVALE

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

KALINE MILENA GOMES MILHOMEM

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA EM REBANHO BOVINO
LEITEIRO**

Açailândia-MA

KALINE MILENA GOMES MILHOMEM

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA EM REBANHO BOVINO
LEITEIRO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Faculdade Vale do Aço bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Auricelio Alves de Macedo

Açailândia - MA

**Ficha catalográfica - Biblioteca José Amaro Logrado
Faculdade Vale do Aço**

M644p

Milhomem, Kaline Milena Gomes.

Pesquisa de Anticorpos Anti-leptospira em rebanho bovino
leiteiro. / Kaline Milena Gomes Milhomem – Açailândia, 2021.
27 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Medicina Veterinária,
Faculdade Vale do Aço, Açailândia, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Auricelio Alves de Macedo.

1. Leptospira. 2. Problemas Reprodutivos. 3. Teste de SAM. I. Milhomem,
Kaline Milena Gomes. II. Macedo, Auricelio Alves de. (orientador). III. Título.

CDU 591.552:616-097.3

Elaborada pela bibliotecária Thairine Nascimento Costa – CRB-13/944

KALINE MILENA GOMES MILHOMEM

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA EM REBANHO BOVINO
LEITEIRO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Faculdade Vale do Aço bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado em ____/____/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Auricelio Alves de Macedo (orientador)
Faculdade Vale do Aço - FAVALE

Prof. Dr. Ermilton Junio Pereira Freitas
Faculdade Vale do Aço – FAVALE

Profa. Arannadia Barbosa Silva
Faculdade Vale do Aço - FAVALE

AGRADECIMENTOS

Á Deus, pelo dom da vida e saúde, que sua infinita sabedoria colocou força em meu coração para vencer essa etapa de minha vida. A fé no senhor, sem dúvidas, me ajudou a lutar até o fim.

Aos meus pais, Joel Gomes e Luiza Isabel, pelo apoio, força e amor incondicional. Meus irmãos, pelo incentivo pra seguir estudando. A minha irmã Marlene Gomes (in Memoriam) que não pode estar presente nesse momento tão incrível da minha vida. Seus valores alimentaram minha alma e conduziram meus passos até aqui. Saudades eternas!

Á Kawã Gomes, meu filho querido, obrigada. Sua compreensão e otimismo não me deixaram desistir. Ao meu esposo Almir Milhomem por entender as longas noites de sono perdida e a ausência em momentos especiais, jamais me negou apoio. Obrigada, por aguentar tantas crises de estresse e ansiedade. Sem você do meu lado não seria possível.

Aos meus amigos de turma, que estivemos juntos durante todos esses anos, por todo amor, força, incentivo, inúmeros conselhos e frase de motivação. Em especial minha amiga Dalila Barbosa por me dar apoio em todos os momentos.

A minha amiga Dalila Barbosa, você é tão peculiar, me ajudou em tantos momentos, sempre disposta a fazer tudo, irei lembrar eternamente de nossas aventuras, sempre tão divertida, me arrancou muitos sorrisos, obrigada por tudo que Deus sempre esteja contigo.

A minha querida amiga Ana Maria Catanhede (In memoriam) que em algum lugar deve estar vibrando com a minha vitória.

Á todos os professores, por dedicarem seu tempo e conhecimentos durante minha formação acadêmica e por toda contribuição para que eu pudesse realizar este sonho. Especialmente ao Dr Auricelio Macedo, que me deu todo suporte com suas correções e incentivos, apoio e confiança.

Ao Dr Cícero Soares dos Santos, pelo suporte e apoio para desenvolvimento deste trabalho, aos ensinamentos no momento da pesquisa, principalmente paciência e carisma por todo esse caminho percorrido.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo Pesquisar a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* no soro de bovinos leiteiro em propriedades rurais da região sudoeste do Estado do Maranhão. Correlacionando os resultados encontrados com os dados obtidos por meio do veterinário que presta acessória as propriedades. Foram coletadas 48 amostras de soro sanguíneo de bovinos, de idades diferentes e do mesmo sexo, de seis propriedades distintas. Foi realizado o teste de soroglutinação microscópica em campo escuro (SAM), utilizando-se de 09 sorovariedades diferentes de *Leptospira ssp.*, no Laboratório de Diagnóstico em Doenças Infecciosas – LDDI. 42 animais foram reagentes, tendo os sorovares, Guairicura 25 (18%) e sua associação com o sorovar Pomona 24 (17%) foram prevalentes entre o total de animais sororreagente; Enquanto os sorovares Hebdomandi 21 (15%), Shermani 21(15%). Todas as propriedades apresentaram animais positivos para leptospirose. Este resultado permitem concluir anticorpos detectados, relacionados a sorovariedades de *Leptospira ssp.* presente nos rebanhos bovinos nos municípios de Buritirana, João Lisboa, Imperatriz, Açailândia Maranhão, necessitando assim maiores pesquisas e métodos de prevenção.

Palavra-chave: Leptospira. Problemas reprodutivos. Teste de SAM.

ABSTRACT

The present work aimed to investigate the occurrence of anti-*Leptospira* antibodies in the serum of dairy cattle in rural properties in the southwest region of the State of Maranhão. Correlating the results found with the data obtained through the veterinarian who provides an accessory to the properties. Forty-eight blood serum samples were collected from cattle, of different ages and of the same sex, from six different properties. A dark field microscopic agglutination test (SAM) was performed, using 09 different serovars of *Leptospira* ssp., at the Diagnostic Laboratory for Infectious Diseases - LDDI. 42 animals were reactive, and the serovars Guairicura 25 (18%) and its association with the serovar Pomona 24 (17%) were prevalent among the total number of seroreactive animals; While the serovars Hebdomandi 21 (15%), Shermani 21 (15%). All properties showed positive animals for leptospirosis. This result allows us to conclude detected antibodies related to *Leptospira* ssp. present in cattle herds in the municipalities of Buritirana, João Lisboa, Imperatriz, Açailândia Maranhão, thus requiring further research and prevention methods.

Keyword: *Leptospira*. Reproductive problems. SAM Test

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1	Leptospira	10
2.2	Patogenia da Leptospirose	12
2.3	Ciclo da Leptospirose	12
2.4	Diagnóstico específico da Leptospirose Bovina	13
2.5	Medidas de Prevenção e controle	15
2.6	Interferência da leptospirose nos índices reprodutivos	15
2.7	Perdas econômicas decorrente da leptospirose	17
2.8	Fatores de risco relacionados ao animal, ambiente e manejo.	18
3	OBJETIVOS	19
3.1	Objetivo geral	19
3.2	Objetivos específicos	19
4	MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1	Local de execução	20
4.2	Animais	20
4.3	Colheita de amostras	20
4.4	Sorologia	20
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença infecciosa e transmissível, causada por bactérias do gênero *Leptospira*, que infecta diversas espécies animais domésticos e silvestres, além do ser humano, assumindo considerável importância como problema econômico e de saúde pública, cujo curso clínico poder ser agudo ou crônico. Distribui-se mundialmente, porém, sua ocorrência é maior em países de clima tropical e subtropical devido à maior sobrevivência do agente causador em ambientes quentes e úmidos. Tem picos epidêmicos no verão ou outono em regiões com variações de clima ao longo do ano, ou durante as estações de chuva nas regiões quentes (SIMÕES, 2016).

Na bovinocultura, os impactos econômicos negativos advindos da doença ocorrem, principalmente, por problemas reprodutivos. Em rebanhos não vacinados, a ocorrência de natimortos, abortos, retenção de placenta, flacidez de úbere, diminuição da produção láctea, redução da taxa de concepção e infertilidade e do alto custo com o tratamento, representam os principais prejuízos econômicos relacionados à leptospirose em bovinos (PAIXÃO, 2016).

Estudos soropidemiológicos realizados no Brasil indicaram que a sorovariedade Hardjo de *L. interrogans* é a mais adaptada à espécie bovina, amplamente distribuída em praticamente todos Estados do país. Neste caso, a infecção é caracterizada frequentemente pela forma subclínica e reprodutiva, cuja principal manifestação clínica é o aborto.

O diagnóstico preciso da infecção por *Leptospira* em bovinos depende do isolamento e tipificação da sorovariedade prevalente. Entretanto, a maior parte dos trabalhos já publicados no Brasil, é realizada apenas investigação sorológica que, não inclui o isolamento para a identificação do agente, devido à dificuldade na obtenção de resultados conclusivos (CHIARELIE et al., 2012).

A vacinação sistemática do rebanho, tratamento de animais doentes com antibioticoterapia, controle dos roedores nas propriedades e eliminação de excesso de água do ambiente constituem as principais medidas de controle. Porém, o uso da vacinação é um entrave para o diagnóstico sorológico da leptospirose, já que os anticorpos pós-vacinais podem persistir por até seis meses, dificultando a diferenciação de títulos vacinais de reações oriundas de infecção. No entanto, alguns autores indicam uso de vacinas contra a leptospirose na redução da ocorrência de problemas reprodutivos causados pela variante sorológica Hardjo em bovinos (CASTRO, 2008).

Nesse contexto, a pesquisa de sorovariedades dessa enfermidade no rebanho bovino torna-se uma ferramenta imprescindível para a adoção de medidas profiláticas através de ações que atuem diretamente sobre o animal, destacando-se a imunoprofilaxia, pela utilização de vacinas, dirigidas para o controle de seus reservatórios, bem como o controle de roedores e o correto manejo do ambiente. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi pesquisa de anticorpos anti-leptospira em propriedades rurais na região sudoeste do Estado do Maranhão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Leptospira*

A leptospirose é uma doença de grande patogenia, causada por *Leptospira ssp.* patogênicas, caracterizada por uma variedade de manifestações clínicas. Em termos de saúde pública têm impacto por ser uma zoonose pelo alto custo de tratamento dos seres humanos. Na saúde animal as consequências dessa infecção de esfera econômica, tendo em vista o envolvimento de animais de produção como bovinos, ovinos, suínos equinos (ALMEIDA, 2008).

A leptospirose já foi diagnosticada em todos os continentes exceto nas regiões polares e em quase todos os países do mundo a enfermidade tem uma alta prevalência em países de clima tropical em decorrência das grandes precipitações pluviais e ao tipo de solo neutro ou alcalino (FIGUEIREDO, 2007).

Para compreensão da epidemiologia da leptospirose, identificam-se duas categorias: leptospirose adaptada ao hospedeiro e leptospirose não adaptada ao hospedeiro. Um animal infectado por um sorovar adaptado hospedeiro é considerado hospedeiro natural ou reservatório. Já um animal infectado por um sorovar não adaptado hospedeiro é considerado um hospedeiro acidental. Assim a leptospirose é uma antropozoonose, que tem como hospedeiros naturais os animais selvagens, sinantrópicos e domésticos (FIGUEIREDO, 2007).

No Brasil, a leptospirose é endêmica e está presente no rebanho bovino em quase todos os estados da federação. Os sorovarietades detectados em bovinos estão restritos a Hardjo, Hardjoprajitno, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Wolffi, Goianos e Guaicurus. A doença determina elevados prejuízos econômicos à pecuária bovina, pelo comprometimento do desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos, em que repetições de cio, abortamentos e queda na produção leiteira são as principais evidências clínicas em rebanhos soropositivos (MINEIRO et al., 2007).

A infecção por *Leptospira* é comum a roedores e em aproximadamente 160 espécies de mamíferos silvestres e domésticos. Cada sorovar tem preferência por um hospedeiro animal, no entanto, as espécies animais podem ser hospedeiros de outros sorovares. Entre sorovarietades frequentemente associado a enfermidades no homem e nos animais, o sorovar Icterohaemorrhagiae (Sorogrupo *L. icterohaemorrhagiae*) tem como

reservatório os ratos e outros mamíferos silvestres, e como hospedeiros susceptíveis os cães, bovinos, suínos e seres humanos. Sorovarietade Canícula (Sorogrupo *L. canícula*) tem como reservatório os cães e animais selvagens, e como hospedeiros susceptíveis bovinos, suínos e seres humanos; o Pomona (Sorogrupo *L. Pomona*) tem como reservatórios suínos e jaritacacas e hospedeiros susceptíveis os bovinos, ovinos, cavalos, leões marinhos e seres humanos; o Grippytyphosa (Sorogrupo *L. grippytyphos*) tem como reservatório o guaxinim e a jaritacaca e hospedeiros susceptíveis os bovinos, suínos e cães; o Hardjo (sorogrupo *L. Serjoe*) tem como reservatório os bovinos e hospedeiros susceptíveis os ovinos e seres humanos; o Bratislava (sorogrupo *L. australis*) seu reservatório são os equinos (ARAÚJO, 2010).

Os bovinos são hospedeiros de manutenção sorovarietade hardjo, possui elevada vulnerabilidade á infecção, a transmissão é endêmica entre os animais dessa espécie, apresentando a doença na forma crônica, caracterizadas por problemas reprodutivos. Existem dois genótipos: hardjobovis e hardjoprajitno. O genótipo hardjobovis pertence a espécie *L. borgpetersenii* e o genótipo hardjoprajitno à espécie *L. Interrogans*. Ambos são importantes causadores de problemas reprodutivos nos rebanhos bovinos e possui diferenças nas suas manifestações clínicas. A infecção causada pela hardjobovis é amplamente encontrada em bovinos diferentes países do mundo e é frequentemente caracterizada pela forma subclínica, ocasionando aborto, enquanto que a hardjoprajitno, isolada em poucos países, caracteriza-se por ser mais patogênica levando a queda da produção de leite também problemas reprodutivos (CHIARELI, 2010).

Para a saúde animal, as consequências dessa infecção estão relacionadas à esfera econômica, tendo em vista o envolvimento de animais de produção como bovinos. Nessa espécie, as perdas econômicas decorrem principalmente de transtornos reprodutivos como infertilidade, abortamento, nascimento de crias fracas e diminuição temporária da produção leiteira (SILVA, 2012).

A incidência da doença está relacionada às precárias condições de infraestrutura sanitária, reflexo da baixa condição socioeconômica observada em nosso país. Além de ser uma doença de grande relevância para a saúde pública, é propensa a ocorrer em veterinários, trabalhadores de abatedouro e tratadores de animais, devido ao estreito contato com as fontes de infecção. As inundações favorecem a disseminação e a persistência do agente causal no ambiente, facilitando a ocorrência de surtos, uma vez que as águas das chuvas e dos rios se misturam às águas de esgoto geralmente contaminadas com urina de roedores (SILVA, 2012).

2.2 Patogenia da Leptospirose

A patogenia da *Leptospira spp.* inclui a penetração ativa dos microrganismos pelas mucosas, pele escarificada ou íntegra. As leptospiras multiplicam-se no espaço intersticial e no sangue, linfa e líquido, caracterizando um quadro agudo septicêmico denominado de leptospiremia, causando uma severa vasculite com danos endoteliais, resultando em injúrias dos capilares, edema tissular, hemorragia e coagulação intravascular disseminada (SIMÕES, 2016).

A multiplicação das bactérias cessa quando anticorpos oponentes surgem na circulação, dez dias após o início da infecção, ocorrendo à eliminação de leptospira da corrente sanguínea e de alguns órgãos acometidos. Porém, leptospira localizadas em locais imunes como, o rim e trato genital, persiste por períodos prolongados. Quando ocorre persistência de leptospira no rim pode ocasionar pequenos infiltrados inflamatórios focais até mesmo lesões, caracterizadas por necrose celular, atrofia tubular e hemorragia renal. A ausência de fagócitos na urina permite a multiplicação, formando micro colônias de microrganismo nos tubos contornados renais a partir dessa localização as leptospira passa a ser eliminada pela urina por períodos entre dias a anos. Isso explica a existência de portadores renais onde a transmissão ocorre pela exposição à urina de animais infectados ou ambientes contaminados (OLIVEIRA, 2008).

2.3 Ciclo da Leptospirose

O ciclo de transmissão da doença envolve a interação entre uma ou mais espécies de reservatórios e hospedeiros, fatores favoráveis ao microrganismo encontrados no meio ambiente, fatores como a criação simultânea de animais de diversas espécies, presença de animais silvestres, existência de sorovares de *Leptospira spp.* (MENEGAS, 2013).

Nos bovinos infectados, por exemplo, usualmente elimina o agente pela urina por tempo prolongado, o que determina a contaminação de outros indivíduos e do ambiente. São considerados fatores de risco o tamanho do rebanho, compartilhamento de pastagem, compra de reprodutores. Nos animais tanto de produção quanto de estimação, a enfermidade está quase sempre associada a transtornos reprodutivos, como aborto e infertilidade, podendo ainda gerar anorexia, pirexia, apatia, icterícia, anemia hemolítica, hemoglobinúria, mastite e

até morte, na dependência do sorotipo envolvido e da idade do indivíduo acometido. (MENEGAS, 2013).

2.4 Diagnóstico específico da Leptospirose Bovina

Para um diagnóstico adequado, trabalha-se com anamnese e dados através de achados epidemiológicos, clínico, laboratorial, O diagnóstico da leptospirose pode ser realizado através da identificação do agente ou pela detecção de anticorpos anti-*Leptospira*, o qual é utilizado para maioria dos diagnósticos específicos. O teste sorológico considerado padrão é o de Soro aglutinação Microscópico (SAM). Utilizando esta técnica, anticorpos IgM e IgG reagem com o antígeno vivo (suspensão de sorovares de *Leptospira* spp.) e formam aglutinações visíveis através do microscópio de campo escuro (ROLIM et al., 2012).

Na técnica de Soro aglutinação Microscópica (SAM), os anticorpos contra outras bactérias normalmente não conseguem apresentar reações cruzadas significativas com os antígenos de *Leptospira*. O lipopolissacarídeo (LPS) é o principal tipo de antígeno utilizado em reações de aglutinação. Anticorpos contra o LPS e outras estruturas da superfície provocam a destruição do envelope externo e perda da integridade das leptospiros, ocorrendo uma má motilidade, fazendo assim com que tenha a aglutinação das mesmas, considerado positivo (FAINE, 1994).

Existem alguns fatores que afetam a especificidade e a sensibilidade das provas realizada no teste Soro aglutinação Microscópica (SAM), São elas: coleção de estirpes empregadas como antígenos, idade e densidade dos cultivos, diluição final dos soros, temperatura e tempo de incubação. Para prova do teste Soro aglutinação Microscópica (SAM) aplicada para leptospira recomenda-se, que a coleção de antígenos empregada contenha pelo menos um representante por sorogrupo, no entanto tem sido sugerida a importância da inclusão de sorovariedades autóctones isolados no país ou região o que aumentaria a capacidade discriminadora do teste (SARMENTO, 2012).

O meio de cultura para o crescimento de leptospiros pode ocorrer em meios contendo soro ou albumina, ou em meios sintéticos livre de proteínas. As leptospiros podem ser cultivadas a partir de sangue, líquido, urina, sêmen, secreção uterina de vacas que abortaram e líquido gástrico de bezerros recém-abortados. O isolamento e identificação de *Leptospiras* ssp. são demorados e precisam laboratórios de referência especializados (ASLANTAS e OZEDEMIR, 2005).

A cultura realizada pela urina é colocada em tubos de 1,5 ml, após a semeadura, os tubos ficam incubados à temperatura de 28° C durante o período de 12 semanas, observando-se a ocorrência de anel de opalescência e realiza leituras semanais em microscopia de campo escuro, com objetiva de 40x e ocular de 15x. (SANTOS, 2008) Em meios contendo Agar, chamado de meio semissólido, o crescimento das leptospira alcança a densidade máxima em uma zona abaixo da superfície do meio do tubo de ensaio, isto ocorre devido à tensão ótima de crescimento.

Diversos fatores estão relacionados a baixa sensibilidade das hemoculturas, entre eles, a interferência de anticorpos específicos presentes no sangue, a dificuldade de crescimento do microrganismo (CAMARGO et al. 1992). Esta técnica tem como vantagem o fato de poder ser realizada na fase precoce da doença, é uma técnica específica e além de confirmar a infecção, a mesma ainda pode informar o tipo de sorovar que está acometendo o paciente. Porém, esta ferramenta é de alto custo requer muito tempo para confirmar o resultado (BEZERRA, 2012).

De acordo com Anzai (2006) existem outros métodos de diagnóstico para leptospirose, porém ele destaca a reação em cadeia pela polimerase (PCR). Essa técnica vem sendo utilizada de forma crescente para o diagnóstico precoce da leptospirose no homem e em várias espécies animais. A PCR apresenta alta sensibilidade e especificidade, permitindo amplificar quantidades mínimas do DNA do microrganismo em diversos tipos de amostras biológicas tais como humor aquoso, urina, líquido, soro sanguíneo e tecido.

Uma das vantagens é a possibilidade de manter as amostras congeladas até serem processadas, diferentemente da cultura onde se preconiza a utilização de amostra recém-coletada. Também é descrita como uma ferramenta molecular específica e sensível para detecção do hospedeiro inaparente, principais veiculadores da doença no rebanho, auxiliando muito em um programa de controle integrado a leptospirose em condições de campo (RESENDE, 2016).

O teste ELISA baseia-se na formação de um complexo antígeno-anticorpo (Ag-Ac), com atividade imunológica e enzimática. Composto por um antígeno solúvel de *Leptospira interrogans* que é adsorvido em placa de poliestireno com 96 poços. Na sequência, é adicionada a amostra a serem testados, os anticorpos específicos formam reações antígeno-anticorpo. Para detectar o complexo antígeno-anticorpo, um segundo anticorpo é adicionado, a anti-IgG bovina marcada com um cromógeno enzimático (fosfatase alcalina),

posteriormente o substrato p-nitrofenil fosfato é colocado e a reação positiva é evidenciada pela produção de uma cor amarela (TOMICH et al., 2009).

Segundo Tomich et. al (2009) as vantagens do teste de ELISA em relação à SAM, a segurança de não ser utilizada bactérias vivas, a alta sensibilidade do teste, a facilidade de execução da análise, rapidez, menor custo e a objetividade da interpretação dos resultados. Em testes de triagens bovinos, estudos já demonstraram que utilizando a lipoproteína recombinante LipL32 para bovinos soropositivos *L. Interrogans*, detectaram imunoglobulina G (IgG) e concluíram que o teste se mostrou bastante sensível.

2.5 Medidas de Prevenção e controle

A profilaxia deve se basear em ações que atuem diretamente sobre o animal, como a imunoprofilaxia, pela utilização de vacinas, dirigidas para o controle de seus reservatórios, sejam os próprios animais infectados, bem como os roedores e o ambiente. O combate aos roedores deve ser realizado com medidas estratégicas que maximizem os resultados (LANGONI,1999).

A profilaxia e controle da leptospirose dependem da identificação do sorovar predominante na propriedade, o que pode indicar quais mecanismos de transmissão está presentes no rebanho. Deve ser verificado de que forma está sendo exposto seu rebanho, seja no contato com os reservatórios naturais, como ratos e animais silvestres. Dessa forma e através de medidas de higiene e de tecnificação da criação como um todo, pode-se controlar a leptospirose. Deve ser proibida a introdução de novos animais no rebanho, salvo quando negativos ao sorodiagnóstico ou previamente tratados com dihidroestreptomicina; tratar os animais soro reagentes do rebanho com dihidroestreptomicina 25 mg/kg PV, em dose única; fortalecimento da imunidade utilizando uma vacina (FAVA et al. 2003).

2.6 Interferência da leptospirose nos índices reprodutivos

A Leptospirose nos bovinos é uma das principais enfermidades responsáveis pelo baixo desempenho reprodutivo em rebanhos infectados a manifestação clínica pode ser aguda ou crônica. Na forma aguda, frequentemente, ocorre febre e mastite focal nos animais adultos; nos bezerros, pode ocorrer febre, anorexia, hemoglobinúria, casos de encefalite, acessos

convulsivos e alta mortalidade. A forma crônica é mais comum nos animais adultos e os sinais clínicos constam de infertilidade, abortamentos, natimortos, nascimento de bezerros fracos (AONO, 2012).

A infecção do trato reprodutivo por *Leptospira spp.*, é associada a falhas na concepção, intervalos prolongados entre partos e maior número de serviços necessários por concepção. A infecção também pode causar abortamentos, que ocorrem normalmente como surtos no terço final da gestação (cinco meses em diante). Estudos demonstram forte relação da leptospirose com falhas reprodutivas, porém o conhecimento sobre a patogênese é limitado. Contudo, sugerem a presença deste agente infeccioso no útero e nos ovidutos de vacas, interfira na implantação do embrião e em outros eventos da gestação. (AONO, 2012).

Em um estudo realizado com 500 vacas foi avaliado a associação da fisiopatogenia de falha reprodutiva a presença de *Leptospira* no útero de vacas. No estudo foi constatada uma grande associação de repetição de cio com infecção causada pelo sorogrupo Serjoe. Foi observada a relação entre animais reagentes a *Leptospira* com a presença de transtornos reprodutivos, principalmente nos reagentes ao sorovar Hardjo. A partir de dados concluiu-se que a leptospirose causa redução na produção de leite através da comparação do desempenho na produção de leite antes e depois do tratamento. No mesmo estudo foi identificado repetição de cio, aumentando o intervalo entre partos e diminuindo a produção de leite (LIBONETE, 2018; SANTANA, 2019).

O sorovar Hardjo, adaptado e mantido por bovinos, ocorre independentemente da região e das condições climáticas, uma vez que infecta bovino em todo o mundo. Em muitos países, pode determinar infertilidade, abortamentos, natimortos, nascimento de animais prematuros, porém, infectados e portadores renais. Nestes casos, a infertilidade pelo sorovar Hardjo está geralmente associada à infecção ovariana e uterina, originando aumento do intervalo entre parto-concepção e entre partos em consequência da morte embrionária (APAMVET, 2010).

O isolamento indistinto do útero de vacas prenhes ou vazias, naturalmente infectadas, indica que o trato reprodutivo pode ser tão importante quanto o urinário na manutenção do estado portador. Em um experimento foi diagnosticado infecção de novilhas com Hardjobovis por vias cérvico-uterina, subconjuntival e intranasal, mostraram que pode haver interferência na função do corpo lúteo diminuindo os níveis de produção de progesterona, portanto com efeito direto na gestação. Nos bovinos leiteiros, ocorre mastite flácida ou Síndrome da Queda do Leite, diminuição brusca na produção do leite que adquire

aspecto de colostro amarelado com grumos grosseiros, pequena quantidade de sangue e elevada contagem de células somáticas (APAMVET, 2010).

Os animais que sobrevivem à infecção aguda, as leptospiras persistem em sítios imunologicamente protegidos como túbulos renais proximais, câmara anterior do olho e trato genital e tornam-se portadores renais ou genitais, e importantes fontes de infecção para novos susceptíveis. Nos animais prenhes, após alcançarem a circulação sanguínea ou corrente linfática, atingem o útero e a placenta em qualquer estágio de gestação, alcançam o feto que morre por leptospirose sendo expulso cerca de 24 horas depois (GENOVEZ, 2009).

2.7 Perdas econômicas decorrente da leptospirose

A infecção por leptospira tem sido associada a transtornos reprodutivos em animais, especialmente bovinos. As regiões tropicais e subtropicais são favoráveis à infecção e nota-se uma correlação positiva entre a frequência de casos de leptospirose e os índices pluviométricos. A doença determina elevados prejuízos econômicos à pecuária bovina, pelo comprometimento do desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos, em que repetições de cio, abortamentos e queda na produção leiteira são as principais evidências clínicas em rebanhos soropositivos (MINEIRO 2007).

Problemas reprodutivos geram impactos significativos na produção de leite, no número de bezerras produzidos por ano, no intervalo entre partos e, conseqüentemente, afetam a renda produção. A viabilidade econômica da produção leiteira está relacionada diretamente à eficiência reprodutiva. Também, a antibioticoterapia utilizada no controle da leptospirose em animais em lactação é responsável pelo descarte de grandes volumes de leite devido à presença de resíduos de antibióticos, aumenta os impactos econômicos gerados pela doença (SILVA, 2018).

Quando ocorre aborto em uma propriedade e o animal não é substituído, ocorre uma desvalorização do rebanho, além disso, embora o aborto possa envolver o prolongamento da lactação estimasse uma perda de 3,5% da lactação esperada. Em um sistema em que a reprodução é ineficaz, verifica-se ampliação no descarte involuntário, redução do número de animais para reposição, elevação dos custos com inseminação e com medicamentos. Há diminuição na produção de leite, pois haverá ampliação do intervalo de parto, assim como prolongação do período seco da vaca proporcionalmente terá maior quantidade de vacas secas no rebanho (CARVALHO, 2018).

2.8 Fatores de risco relacionados ao animal e ambiente.

Os fatores de risco relacionado ao animal são as fontes de infecção os animais selvagens, os sinantrópicos e domésticos que podem assumir as modalidades de doentes que manifestam sinais clínicos e os que não apresentamos sinais clínicos ou de portadores saudáveis. Os mecanismos de contágio podem ser por meio do contato com alimentos, água ou fômites contaminados, pela prática da inseminação artificial quando o sêmen é colhido de doadores infectados, e por transmissão venérea pela cópula. A ferramenta chave na transmissão da leptospirose entre animais e entre animais e o homem é a infecção dos túbulos renais e excreção de leptospiras pela urina de animais portadores. A urina pode resultar em transmissão direta da infecção via contaminação das membranas mucosas de outro animal, ou transmissão indireta via contaminação do meio ambiente (FIGUEIREDO, 2007).

O risco relacionado ao ambiente e ao animal tem como fatores tipo de ocupação, geografia, organização social e clima que contribuem para a prevalência da leptospirose. O clima tropical e temperado há maior incidência da infecção, isto devido a uma maior sobrevivência das leptospiras em meio tropical, condições úmidas e maior oportunidade de exposição ao homem. A ocorrência de leptospirose é sazonal, com picos no verão ou outono em regiões temperadas, durante a estação chuvosa em regiões de clima tropical, a rápida dissecação impede a sobrevivência dos organismos no meio (FIGUEIREDO, 2007).

Em propriedades que utilizam inseminação artificial, realizam ordenha mecânica e resfria o leite produzido, os manejos produtivo e reprodutivo, que tem medidas higiênicas sanitárias adequadas, pode ter influência de forma positiva na diminuição da disseminação do agente no rebanho. Propriedades com a presença de pastos alagados tem grande risco para leptospirose. A água tem um papel fundamental no aumento e manutenção das leptospiras na natureza e assume uma particular importância na transmissão da doença, que ocorre por meio do contato com a água contaminada, e o agente estando presente no ambiente, ele pode permanecer viável por longos períodos, dependendo das condições de umidade, temperatura e sombreamento, aumentando de forma significativa à chance de contato e infecção de um novo indivíduo susceptível (PIMENTA, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Pesquisar a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* no soro de bovinos leiteiro em propriedades rurais da região sudoeste do Estado do Maranhão.

3.2 Objetivos específicos

- Pesquisar a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* no soro de bovinos;
- Verificar anticorpos anti-*Leptospira* spp. em rebanho bovinos leiteiro nos anos 2020/2021, em propriedades leiteira;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de execução

O estudo foi realizado no Setor de Bovinocultura Leiteira em propriedades da região sudoeste do Estado do Maranhão, nos municípios de Buritirana, Açailândia, João Lisboa, Imperatriz. A região Metropolitana está localizada no estado brasileiro do Maranhão, Brasil. Foi criada pela Lei complementar Estadual N° 89 de 2005, e reformulada pela lei complementar estadual N° 204 de 2017.

4.2 Animais

O estudo foi realizado no mês de Fevereiro de 2020, e no mês fevereiro de 2021, com suporte do Laboratório de Diagnóstico em Doenças Infecciosas – LDDI, São Luís- Ma. Um total de 48 vacas da raça Girolando com produção média de 12 Kg de leite/vaca/dia foram utilizadas neste estudo.

4.3 Colheita de amostras

Amostras de sangue venoso foram obtidas da veia caudal, utilizando tubos a vácuo esterilizados e sem anticoagulantes. Os tubos foram identificados e deixados em repouso para que ocorresse a coagulação. O soro foi mantido congelado a - 20°C, até a realização dos testes.

4.4 Sorologia

Para o diagnóstico, foi empregado o teste de soro aglutinação microscópica (SAM), com a titulação igual ou superior a 1:100. A metodologia foi realizada de acordo com o descrito por Paixão et al. (2016). Utilizando uma coleção de antígenos composta por 09 sorovariedades: Bratislava; Guaricura, Grippotyphosa; Pomona; Hardjo bovis; H. prajitno; Tarassovi; Shermani; Hebdomadis.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os resultados do teste Soro aglutinação Microscópica (SAM) nos animais amostrados das diferentes propriedades, da região sudoeste do estado do Maranhão, no ano de 2020 e 2021. No mês de fevereiro dos respectivos anos. Nesse estudo dos 48 animais avaliados, 87,5% (42/48) foram soropositivos no teste sorológico, os mesmo não eram animais vacinados para leptospirose.

Dos três bovinos, provenientes da propriedade A, submetidos ao soro aglutinação microscópica (SAM), três foram reagentes para mais de um sorovar, destes apenas um apresentou titulação maior para mais de cinco sorovares.

A propriedade B (João Lisboa) apresentou apenas três soropositivos, dos oitos animais testados a soro aglutinação microscópica (SAM), foram reagentes aos sorovares H. bovis, H. prajitno, Pomona, Guairicura e Hebdomadis. Os bovinos apresentaram iguais ou superiores a 1:100 os quais são considerados soropositivos.

Entretanto a propriedade C (Imperatriz), dois bovinos apresentaram títulos iguais a 1:200, reagente respectivamente aos sorovares H. prajitno e Guairicura.

Dez bovinos classificados ao teste soro aglutinação microscópica (SAM), reagiram soropositivos pelo menos em dois sorovares, considerando que um dos animais foi soropositivo para os seis sorovares utilizados, H. bovis, H. prajitno, Pomona, Guairicura, Hebdomadis , Shermani.

O segundo maior resultado do soropositivo para as soroviedades, foi na propriedade E (Açailândia), onde todo os 13 animais estudado testou soropositivo para *Leptospira ssp.*.

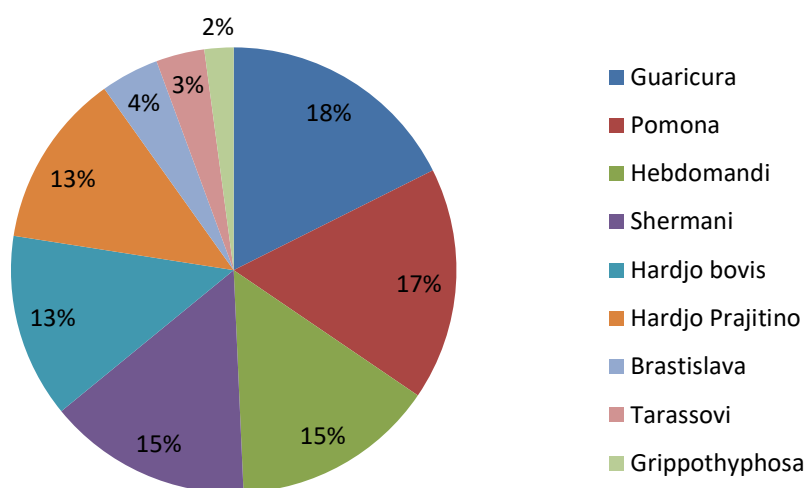
Na propriedade F (Buritirana), todos os animais foram reagentes, se destacando a soroviedade para Bratislava (seis dos sete animais testados foram positivos), o Pomona e Guaricura (reagentes em pelo menos cinco dos animais). O SAM é o teste mais empregado no diagnóstico sorológico; ele apresenta como vantagens ser específico para soroviedades, porém não diferencia resposta à infecção da vacinação. A infecção pode ser considerada ativa na presença de sinais clínicos e histórico da infecção no rebanho, pode ser utilizado como parâmetro o aumento em quatro vezes no título de anticorpos em amostras. (SARMENTO,2012).

Nos quatro municípios na região Sudoestes do Maranhão foram detectados rebanhos e animais sororreagente para a leptospirose bovina. O resultado foi de 87,5%, 42 dos 48 animais testados apresentaram resultado soropositivo no teste soro aglutinação microscópico (SAM), para todas as propriedades estudadas. Nas seis propriedades pesquisadas, os animais apresentaram baixos títulos para o sorovar Grippothyphosa, sendo poucos animais reativos ao sorovar.

Tabela 1- Ocorrência de Leptospirose bovina por meio de soroglutinação microscópica (SAM).

Propriedade	Município	Animais	
		Examinados	Positivos
A	Buritirana	03	03
B	João Lisboa	08	03
C	Imperatriz	05	04
D	João Lisboa	10	10
E	Açailândia	15	15
F	Buritirana	07	07
Total		48	42

Figura 1 – Percentual de amostras reagentes segundo os sorovares mais prováveis, analisados por meio do teste soroglutinação microscópica (SAM).Propriedades leiteiras no ano 2020/2021.



A Figura 1 ilustra o percentual de reações por sorovar na área estudada, analisados com teste SAM. Interessantemente, a sorovariedade Guaricura 25 (18%) e Pomona 24 (17%) foram os mais frequentemente envolvidos neste estudo.

Tabela 2 - Resultado SAM, sorovariedades para leptospirose ssp. Em bovinos leiteiros.

sorogrupos	sorovariedades	N. de animais	Reagentes N (%)
Serjroe	Guaricura	48	25 (18%)
Pomona	Pomona	48	24 (17%)
Hebdomadis	Hebdomadis	48	21 (15%)
Shermani	Shermani	48	21 (15%)
Serjroe	Hardjo Bovis	48	19 (13%)
Serjroe	Hardjo Prajitno	48	18 (13%)
Australis	Brattislava	48	6 (4%)
Tarassovi	Tarassovi	48	5 (3%)
Grippytyphosa	Grippytyphosa	48	3 (2%)

No maranhão, um estudo realizado por Freitas (2016) com o teste de soroglutinação microscópica (SAM) com antígenos vivos foi utilizada para a detecção dos anticorpos aglutinantes anti-leptospiras. Na triagem, os soros foram testados com uma bateria de 12 sorovariedades: Australis, Autumnalis, Bataviae, Grippytyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Hardjo (Hardjoprajitno), Wolffi e Shermani o ponto de corte da reação foi o título 100. Nos 86 rebanhos analisados, 77 apresentaram pelo menos um animal soropositivo para *Leptospira* spp., este estudo segue os vários estudos realizados no Brasil, que tem demonstrado a alta prevalência ou frequência de animais soropositivos para *Leptospira* spp.,.

Um trabalho similar aos nossos resultados foi realizado por Favero et al. (2001) no estado de Mato Grosso do Sul, onde 100% dos municípios apresentaram pelo menos um animal sororreagente em todos os rebanhos amostrados. Duas espécies de mamíferos estudadas no Pantanal do Mato Grosso do Sul, bovino e porco-monteiro, com uma amostra de 266 animais em 12 propriedades encontrando um percentual de soropositividade para a leptospirose de 76,69%, com maior ocorrência de reações para sorovariedade Hardjo, Tarassovi e Grippytyphosa. Porém, sorovariedade Icterohaemorrhagiae e Pomona nos bovinos foi de apenas 3,75% e 3%, respectivamente (FONTANA, 2011).

O segundo sorovariedade de acordo com a pesquisa foi o Pomona 24 (17%), porém seu resultado em percentual é muito superior aos trabalhos anteriormente relatados

como Lagoni et al. (2000) em diferentes regiões no Estado de São Paulo, com 10,81% para sorovariedade Pomona. O Pomona não foi detectado em rebanhos leiteiros dos municípios de Trizidela do Vale, de Pedreiras nem de Lima Campos, no estado do Maranhão. A ausência desses sorovares pode ser justificada pelo manejo sanitário adotado por cada propriedade, pela não introdução de animais portadores destes e conseqüentemente pela não exposição dos rebanhos a ambiente com a presença do agente etiológico. (PAIXÃO, 2016).

O estudo do título médio geométrico (TMG) realizado por Mineiro (2007) mostra predomínio maior na seca para Hebdomadis, se admitirmos que a oportunidade de infecção é maior nas chuvas e que a prova de soroaglutinação microscópica detecta melhor IgG que IgM, isto é, infecção mais tardia que recente, podendo-se presumir que a infecção produz anticorpos mais duradouros para aqueles sorovares com maior TMG nas secas.

Sorovariedade Shermani, que aparece como o quarto mais frequente, no Brasil, apresenta relato de isolamento de roedores no Mato Grosso, Paraná, Rondônia. Na Amazônia também relataram o sorovar Shermani em bovino como o terceiro mais frequente seguido pelos sorovariedade Hardjo e Bratislava. Este sorovar Shermani foi isolado pela primeira vez de um roedor (*Proechimys semispinosus*) no Panamá. (CASTRO, 2008).

Foi encontrado nessa pesquisa o *H. bovis*, *H. prajitno*. Apesar de ambos causarem problemas reprodutivos nos rebanhos bovinos, existem diferenças. A infecção causada pelo genótipo Hardjobovis é caracterizada pela forma subclínica, ocasionando principalmente aborto; enquanto que o genótipo Hardjoprajitno, caracteriza-se por ser mais patogênica ocasionando problemas reprodutivos e também queda da produção de leite (MOURA 2017).

Em estudo realizado por Paixão et al. (2016) no Estado do Maranhão, aponta sorovariedade Shermani, Grippotyphosa, Hebdomadis, Tarassovi, remetem também à suspeita da existência de animais selvagens de vida livre nas propriedades de bacias leiteiras, também relata das regionais de Bacabal, Pedreiras e São Luís aonde foi elevado os soropositivos , tanto para rebanho como para animais. A distribuição de focos nas áreas amostradas pode estar relacionadas também ao tipo de sistema de criação semi-intensivo dos animais. A leptospirose em rebanhos bovinos leiteiros pode estar associada à densidade animal, pois os animais convivem mais aglomerados, logo, mais expostos, direta ou indiretamente, ao micro-organismo ou à presença do agente etiológico no ambiente em condições climáticas satisfatórias.

6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo permitem concluir que os anticorpos detectados, relacionados a sorovarietades de *Leptospira ssp.* em bovinos de leite, em algumas propriedades da região Sudoeste Maranhense são: Guairicura, Pomona, Hebdomandi, Shermani, Hardjo bovis, hardjo Prajitino.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA,F; Leptospirose Em Suínos; **Revista Científica Eletônica De Medicina Veterinária** – ISSN: 1679-7353 Janeiro de, 2008.

ANZAI, E. K. Utilização da PCR para o diagnóstico da leptospirose em cães naturalmente infectados por *Leptospira* spp. 2006. 47f. **Dissertação** (mestrado). Departamento de Medicina Veterinária Preventiva do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina. Londrina – Paraná.

AONO,F. H. S.; Incidência de perdas gestacionais e efeito da vacinação contra doenças da reprodução nas taxas de prenhez em vacas de corte submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. **Dissertação** (pós-graduação). a Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Universidade Estadual Paulista. BOTUCATU - SP – 2012

APAMVET / Academia Paulista de Medicina Veterinária. -- n.1, (2010) –. – São Paulo: APAMVET, 2010

ARAÚJO, B.runo Medrado. Soroepidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. Em bovinos, equídeos, caninos e trabalhadores rurais em assentamento no município de Aragominas, Tocantins, Brasil [manuscrito] / Bruno Medrado Araújo. - 2010.

ASLANTAS, O, OZDEMIR, V. (2005) Determination of the seroprevalence of leptospirosis in cattle by MAT and ELISA in Hatay, Turkey. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* 2005, 29: 1019-1024

Bezerra; L.F. M. Diagnóstico laboratorial de dengue e leptospirose em pacientes com síndrome febril aguda-2012

CAMARGO, E.D.; SILVA,M.V.Avaliação do teste ELISA-igM no diagnóstico precoce da leptospirose humana. **Rev. Inst. Med trop.S.Paulo**,34(4):355.357.,1992.

CARVALHO;H.G.A.C- Perdas econômicas decorrentes de problemas reprodutivos devido à leptospirose em um rebanho bovino leiteiro-2018; **Dissertação** Universidade Federal Uberlândia;Uberlândia-MG;2018.

CASTRO,V.; Soroprevalência Da Leptospirose Em Fêmeas Bovinas Em Idade Reprodutiva No Estado De São Paulo, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.75, n.1, p.3-11, jan./mar., 2008

CHIARELI,D.; Controle da Leptospirose em bovinos de leite com vacina autóctone em Santo Antonio de Monte ,MG 2007/2008. 2010 **Tese** (Doutorado) apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010

CHIARELI,D; COSATE,M.R.V. ; MOREIRA,E.C.; , LEITE,R.C.; LOBATO,F.C.F; , J. A. da SILVA TEIXEIRA, J. F.B. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. **Pesq. Vet. Bras.** 32(7): 633-639, julho 2012.

CHIDEROLI, R.T. Leptospirose Bovina: sorovar Hardjo genótipos Hardjobovis e Hardjoprjaitno. 2016. 48 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2016

FREIAS, E.J. Pereira de; 1984- Características epidemiológicas da infecção de bovinos jovens de corte, em rebanhos com alto trânsito animal, para BoHV-1, BVDV, BTV e *Leptospira* spp. no Estado do Maranhão / Ermilton Junio Pereira de Freitas. – 2016.

FAINE, S. (1994). *Leptospira* and Leptospirosis. Boca Raton, CRC, 353p

FAVA, C.D; Arcaro, J.R.P. ; Pozzi, C.R. ; I. Júnior, A; Fagundes, H. trole de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção semi-intensivo. Manejo Sanitário para o controle de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção Semi-Intensivo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.1, p.25-33, jan./mar., 2003

FAVERO, M.; PINHEIRO, Sonia Regina; VASCONCELLOS, Silvio Arruda; *et al.* Leptospirose bovina - variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.

FIGUEIREDO, A. O. Leptospirose Bovina: Prevalência, Variáveis De Risco E Sorovares Predominantes Em Rebanhos De Mato Grosso Do Sul, BRASIL, U F M G DO SUL, al e Vegetal - IAGRO -, em Campo Grande, MS – Brasil. MARÇO – 2007.

FONTANA I. 2011. Avaliação do papel do porco monteiro na cadeia epidemiológica da leptospirose em sub-regiões do Plantanal sul-mato-grossense. **Dissertação** de Mestrado em Saúde Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília

GENOVEZ, M.E.; Leptospirose: uma Doença de ocorrência além da época das chuvas, **Biológico**, São Paulo, v.71, n.1, p.1-3, jan./jun., 2009

LANGONI, H. Leptospirose: Aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP** volume 2, fascículo I, p. 52 - 58, 1999

LANGONI, H.; MEIRELES, L.R.; GOTTSCHALK, S.; CABRAL, K.G.; DA SILVA, A.V. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo, 2000.

LIBONATI A;H; leptospirose bovina e sua relação com falhas reprodutivas em rebanhos leiteiros do Estado do Rio de Janeiro, UFF- Rio de Janeiro 2018

MENEGAS P. H.; Leptospirose em Propriedade rural com Histórico de Aborto bovino da Região Centro-Sul do Estado do Paraná – Relato de caso). **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.17; p. 2013.

MINEIRO A. L. B. B., BEZERRA E.E.A. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.5, p.1103-1109, 2007

MOURA, M.O. **Soroprevalência de Anticorpos anti - leptospira spp. em rebanhos bovinos de corte no município de Mineiros – GO.** 2017. Dissertação apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, 2017.

OLIVEIRA, F. C.S.; **Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência, sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco.** 2008. Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2008.

- PAIXÃO,A.P; Leptospira spp. em bovinos leiteiros do estado do Maranhão, Brasil: frequência, fatores de risco e mapeamento de rebanhos reagentes. **Arq. Inst. Biol.**, v.83, 1-12, e1022014, 2016
- PIMENTA, C. L.R.M; Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. **Pesq. Vet. Bras.** vol.34 no.4 Rio de Janeiro Apr. 2014
- RESENDE,M.L; **Diagnóstico de leptospirose bovina em duas propriedades rurais utilizando MAT,ELISA e PCR.**2016. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-Minas Gerais, 2016.
- ROLIM M.B.Q , BARROS .S, SILVA,V.C.L.; Leptospirose em bovinos: revisão. Medicina Veterinária, Recife, v.6, n.2, p.26-31, abr-jun, 2012
- SANTANA, V.P; Investigação Da Ocorrência De Leptospirose E Sua Relação Com Dados Reprodutivos E Produção De Leite Em Um Rebanho Bovino No Município De Sacramento, MG.UFU. UBERLÂNDIA, 2019.
- SANTOS,J. P., M.P., S., & P.R, O. (2008). Diagnóstico bacteriológico para leptospira spp em urina de caprinos sorologicamente reagentes. **Veterinária Notícia 2008**.
- SARMENTO.A.M.C; Emprego de estirpes Leptospira spp. isoladas no Brasil na micro técnica de soroglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros, **Pesq. Vet. Bras.** 32(7):601-606, julho 2012.
- SILVA,D.M; Efeitos De Uma Abordagem Estratégica In Situ No Controle Da Leptospirose Em Um Rebanho Bovino Leiteiro Naturalmente Infectado. 2018 **Dissertação** (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia – Minas Gerais., 2018.
- SILVA,J.F.; GIRIO , R. A.; Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. **Pesq. Vet. Bras.** 32(4): 303-312, abril 2012.
- SILVA;D.M.- Aspectos epidemiológicos e reprodutivos de um surto de leptospirose em uma fazenda de bovinos de produção leiteira- **Dissertação** apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária - UFU, UBERLÂNDIA – Minas Gerais; 2018.
- SIMÕES,L.S; Leptospirose – Revisão. **PUBVET** v.10, n.2, p. 138-146, Fev., 2016.
- TOMICHR,G,P; Juliano,R.S; Pellegrin,A.O; Bomfim,M.R.Q; Stanciol,E.F.B; Koury,M.C; Ensaio Imunoenzimático (ELISA) com Antígeno Recombinante Para Triagem de Bovinos Positivos Para Leptospirose. Corumbá- MS, EMBRAPA, 2009.