

## Prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA\*

Érico Lawrence Milen Coelho<sup>1</sup>, Nancyleni Pinto Chaves<sup>2</sup>, Joicy Cortez de Sá<sup>2</sup>, Solange de Araújo Melo<sup>3</sup> e Ana Lúcia Abreu Silva<sup>3\*</sup>

**ABSTRACT.** Coelho É.L.M., Chaves N.P., SÁ J.C. de, Melo S. de A.& Silva A.L.A. [Prevalence of leptospirosis in bovine females slaughtered in slaughterhouse in the municipality of São Luís, MA.] Prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 36(2):111-115, 2014. Departamento de Patologia, Universidade Estadual do Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI, Cx. Postal 9, Tirirical, São Luís, MA 65055-970, Brazil. E-mail: abreusilva.ana@gmail.com

The aim of this study was to determine the prevalence of leptospirosis in bovine females slaughtered in slaughterhouse in the city of São Luís, MA. Sera samples from 100 cows not been vaccinated against leptospirosis were analyzed using the microscopic agglutination test (SAM). The study was conducted in 03 stores under the Municipal Inspection. Blood samples were collected from females without clinical signs of leptospirosis over the age of 24 months. Among 100 serum samples analyzed for 64% (n = 64) were positive with titres equal to or greater than 1:200, and 36% (n = 36) negative for all serovars tested. Of the 24 strains was tested the most frequent in descending order were: hadjo, grippotyphosa and wolffi. The prevalence of leptospirosis in cows slaughtered in abattoirs in São Luís, MA was high. These findings indicate the need to carry out systematic diagnosis and monitoring of herds, besides the implementation of control measures and prophylaxis, as the gradual removal of infected animals, performing quarantine to the entry of new properties in animals, serological tests, vaccinations and implementation of good hygiene practices in slaughterhouses.

**KEY WORDS.** Leptospirosis, antibodies, antigens, hadjo, bovines.

**RESUMO.** O objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA. Amostras de soro sanguíneo de 100 fêmeas bovinas não vacinadas contra leptospirose foram analisadas por meio da técnica de Soroglutinação Microscópica (SAM). O estudo foi realizado em 03 frigoríficos sob Inspeção Municipal. As amostras sanguíneas foram coletadas de fêmeas

sem sinais clínicos de leptospirose com idade superior a 24 meses. Das 100 amostras de soros analisadas, 64% (n=64) foram positivas, com títulos iguais ou superiores a 1:200, e 36% (n=36) negativas para todos os sorovares testados. Dos 24 sorovares testados os mais frequentes em ordem decrescente foram: hadjo, grippotyphosa e wolffi. A prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA foi ele-

\* Recebido em 16 de fevereiro de 2012.

Aceito para publicação em 19 de dezembro de 2013.

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Cidade Universitária Paulo VI, Cx. Postal 9, Tirirical, São Luís, MA 65055-970, Brasil. E-mail: erico.neta@bol.com.br

<sup>2</sup> Médica-veterinária, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Rede Nordeste de Biotecnologia, RENORBIO, Cidade Universitária Paulo VI, Cx. Postal 9, Tirirical, São Luís, MA 65055-970, Brasil. E-mail: nancylenichaves@hotmail.com; joicyvet@hotmail.com

<sup>3</sup> Bióloga, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Cidade Universitária Paulo VI, Cx. Postal 9, Tirirical, São Luís, MA 65055-970, Brasil. Email: sol.vet@bol.com.br; \*Autora para correspondência, E-mail: abreusilva.ana@gmail.com

vada. Esses achados indicam a necessidade da realização de diagnóstico sistemático e monitoramento dos rebanhos, além da implantação de medidas de controle e profilaxia, como remoção gradual de animais infectados, realização de quarentena ao ingresso de novos animais nas propriedades, realização de exames sorológicos, vacinações e implementação de boas práticas higiênicas nos frigoríficos.

**PALAVRAS-CHAVE.** Leptospirose, anticorpos, antígenos, hadjo, bovinos.

## INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose mundialmente difundida, causada pela infecção de diferentes sorovares de *Leptospira* spp. Os animais são considerados hospedeiros primários, responsáveis pela persistência dos focos de infecção e os seres humanos hospedeiros terminais, pouco eficientes na perpetuação da mesma (Ellis 1994).

Na espécie bovina, esta doença é responsável por elevadas perdas econômicas na pecuária mundial, devido ao comprometimento no desempenho reprodutivo dos rebanhos acometidos (Ellis 1994, Mineiro et al. 2010).

Nas criações bovinas, a disseminação de *Leptospira* spp é caracterizada principalmente pela presença de animais doentes ou portadores assintomáticos que eliminam a bactéria pela urina, descargas cérvico-vaginais, fetos abortados e placenta, mantendo a doença endêmica na propriedade (Faine et al. 1999, Hashimoto et al. 2012). Outros fatores como a existência de sorovares de *Leptospira* spp. na região, criação simultânea de animais de diversas espécies, presença de animais silvestres, condições ambientais e climáticas, além do manejo, podem influenciar o contato do bovino com o micro-organismo (Oliveira et al. 2009, Tomazela 1997).

Em diversas regiões do Brasil, estudos demonstram prevalências em rebanhos que variam de 74% a 100% (Favero et al. 2001, Homem et al. 2001, Thompson et al. 2006, Lage et al. 2007) e, em animais, de 45,56% a 62,3% (Langoni et al. 2000, Favero et al. 2001). No Brasil, inquéritos sorológicos realizados em rebanhos bovinos evidenciam as soro variedades hardjo, wolffi, pomona, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae e canicola, sendo a soro variedade hardjo a mais prevalente (Lage et al. 2007, Oliveira et al. 2009, Mineiro et al. 2010).

Considerando que o estado do Maranhão detém 6.885.265 bovinos, constituindo-se no segundo rebanho bovino da região Nordeste (IBGE 2011), é importante o conhecimento da ocorrência da leptospirose nos rebanhos bovinos do estado. Com a

obtenção da informação dos sorovares presentes será possível o direcionamento de um programa de controle regionalizado e dirigido para as respectivas sorovariedades predominantes. Deste modo, o presente trabalho foi delineado com o objetivo de determinar a prevalência de leptospirose em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Local de estudo

O estudo foi desenvolvido em três frigoríficos sob Serviço de Inspeção Municipal localizado no distrito industrial no município de São Luís, MA.

Os três estabelecimentos são responsáveis conjuntamente pelo abate de aproximadamente 8.500 animais/mês oriundos de todo o estado do Maranhão. O abate de feiras, mercados e supermercados é realizado em 90% por estes matadouros-frigoríficos, sendo uma importante atividade econômica no município de São Luís, MA.

### Delineamento amostral

Para se estabelecer o tamanho da amostra, foi adotada, como valor de referência, a prevalência (P) esperada fixada em 50%, considerando uma margem de erro (d) de 3% e um intervalo de confiança (Z $\alpha$ ) de 95%, utilizando a fórmula para amostras aleatórias simples, segundo Noordhuizen et al. (1997).

A distribuição do número total de amostras colhidas por matadouro-frigorífico encontra-se listado na Tabela 1. A diferença entre a quantidade de amostras por estabelecimento é justificada pela diferença no volume de abate entre eles.

### Coleta das amostras sanguíneas

Foram coletadas 100 amostras sanguíneas para a realização do estudo. As amostras foram provenientes de fêmeas bovinas, destinadas ao abate, com aptidão para corte, com idade superior à 24 meses, não vacinadas e sem sinais clínicos de infecção por *Leptospira* spp., diagnosticado durante a realização do exame *ante-mortem*.

O sangue foi coletado após o seccionamento da veia jugular em tubos esterilizados, referente à etapa de sangria na linha de abate. Após as coletas os tubos foram deixados em posição inclinada até a retração do coágulo e liberação do soro e, encaminhados sob refrigeração ao Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA).

Tabela 1. Distribuição do número de amostras sanguíneas coletadas por matadouro-frigorífico no município de São Luís, MA.

| Matadouro-Frigorífico | Nº de Amostras |
|-----------------------|----------------|
| A                     | 30             |
| B                     | 30             |
| C                     | 40             |
| Total                 | 100            |

Tabela 2. Relação de sorovares utilizados na técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM).

| Sorogrupo           | Sorovar   |
|---------------------|---|
| Australis           | Australis; Bratislava                                   |
| Autumalis           | Autumnalis  |
| Ballum              | Butembo; Castellonis                                    |
| Batavia             | Bataviae  |
| Canicola            | Canicola  |
| Calledoni           | Whitcombi   |
| Cynopteri           | Cynopteri   |
| Gripotyphosa        | Gripotyphosa  |
| Hebdomadis          | Hebdomadis  |
| icteriohaemorrhagie | Copenhageni; Icteriohaemorrhagie                        |
| Javanica            | Javanica  |
| Panama              | Panama  |
| Pomona              | Pomona; Fronn   |
| Pyrogenes           | Pyrogenes   |
| Serjroe             | Hardjo(hardjoprajitino);<br>Hardjo (hardjobovis); Wolfi |
| Shermani            | Shermani  |
| Terassovi           | Terassovi   |
| Andamana            | Andamana  |
| Saramanga           | Saramanga   |
| Djasiman            | Sentot  |

O soro foi separado do sangue total por centrifugação a 2.000 g, durante 15 minutos. As amostras foram acondicionadas em ampolas tipo Eppendorf e estocadas a -20°C até a realização dos testes sorológicos. Em seguida foram enviados sob refrigeração para o Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP).

### Diagnóstico laboratorial

Os soros sanguíneos foram submetidos à pesquisa de aglutininas anti-leptospiras contra 24 sorovares do complexo *Leptospira interrogans* mantidas pelo Laboratório de Zoonoses Bacterianas da FMVZ-USP, através da técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), segundo as normas do Ministério da Saúde (Brasil 1995). Cada amostra de soro foi diluída inicialmente a 1:100 em solução salina tamponada, pH 7,2, e testada frente ao painel de sorovares discriminados na Tabela 2. Foram consideradas reagentes as amostras com aglutinação igual ou superior a 50 em relação ao controle.

As amostras positivas ao título inicial (triagem) foram novamente testadas para definir o título de anticorpos para cada sorovar, utilizando diluições crescentes de 1:100 até a 1:800. Foram consideradas reagentes as amostras com título igual ou superior a 100, com 50% de aglutinação ou desaparecimento das células do campo, em microscopia de campo escuro (Santa Rosa 1970, Brasil 1995). Os soros reagentes foram titulados em séries geométricas de quatro diluições de razão dois, sendo o título dado como a recíproca da maior diluição em que houve aglutinação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 100 amostras de soro de bovinos abatidos no município de São Luís, MA, avaliados pela téc-

nica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), para identificação de *Leptospira* spp., 64% (n=64) apresentaram reações positivas, com títulos iguais ou superiores a 1:200, ao passo que 36% (n=36) foram negativos para todos os sorovares testados.

Foram encontrados animais reagentes nos três estabelecimentos com valores de 53,34% (n=16), 80% (n=24) e 65% (n=26) para os matadouros-frigoríficos A, B e C, respectivamente, sem diferença estatística significativa entre eles (Tabela 3).

Os sorovares do complexo *Leptospira interrogans* mais frequentes nas amostras avaliadas, em ordem decrescente foram, hadjo, grippotyphosa, wolffi, australis, copenhageni e castelloni, como mostra a Tabela 4.

O sorovar hadjo tem sido incriminado como causador mais frequente de infecções entre rebanhos do mundo todo, inclusive no Brasil (Favero et al. 2001). Reações positivas para este sorovar já foram descritas em bovinos de diversos países (Alonso-Andicoberry et al. 2001, Cervantes et al. 2002).

O resultado para o sorovar hadjo como o mais frequente dentre os pesquisados no estudo revela similaridade com outras pesquisas realizadas em matadouros-frigoríficos no Brasil (Magajevski et al. 2007, Mineiro et al. 2007, Rolim 2010).

A predominância de reações para o sorovar hardjo, neste estudo, reforça a teoria de que a espécie bovina é o hospedeiro preferencial para este sorovar (Pellegrin et al. 1999) e, que sua expansão pode está relacionada à fatores ambientais ligados ao manejo, como, descarte inadequado de restos placentários, multiplicação bacteriana em áreas alagadas, dessedentação animal em áreas contamina-

Tabela 3. Resultados sorológicos das amostras sanguíneas de bovinos por matadouro-frigorífico no município de São Luís, MA.

| Matadouro<br>Frigorífico | Positivos |       | Negativos |       | Total |     | IC 95% | Valor de P |
|--------------------------|-----------|-------|-----------|-------|-------|-----|--------|------------|
|                          | N         | %     | N         | %     | N     | %   |        |            |
| A                        | 16        | 53.34 | 14        | 46.66 | 30    | 100 | 1,96   | 0.09       |
| B                        | 24        | 80.00 | 6         | 20.00 | 30    | 100 |        |            |
| C                        | 26        | 65.00 | 14        | 35.00 | 40    | 100 |        |            |
| Total                    | 66        | 66.00 | 34        | 34.00 | 100   | 100 |        |            |

Tabela 4. Sorovares de *Leptospira interrogans* encontrados em soros sanguíneos de bovinos abatidos em matadouros-frigoríficos no Município de São Luís, MA, pela técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM).

| Sorovar           | Soropositividade (%) |
|-------------------|----------------------|
| 1 - Hadjo         | 18,00                |
| 2 - Grippotyphosa | 14,00                |
| 3 - Wolffi        | 4,00                 |
| 4 - Australis     | 1,28                 |
| 5 - Copenhageni   | 1,28                 |
| 6 - Castelloni    | 0,64                 |

das e poluição. A identificação deste sorovar como mais frequente nos animais estudados, indica que estão presentes os mecanismos de transmissão direta da leptospirose, ou seja, contato bovino a bovino (Faine 1982).

Foram encontrados títulos para este sorovar de até 1:600, em 6% (n=6) das amostras, corroborando com Kirkbride (1990), que citou que títulos para o sorovar hadjo em geral são baixos, sendo raramente superiores a 1:800. O mesmo autor destacou que quando a sovariedade hardjo for mais frequente, mesmo títulos baixos podem estar relacionados a problemas reprodutivos e indicação de infecção. Segundo Juliano (1999), a ocorrência de aglutinações em sua maioria para a diluições 1:200, reforça a condição de infecção entre animais.

Neste estudo, embora haja predominância dos sorovares hadjo, grippotyphosa e wolffi, não deve ser descartada a possibilidade de reação cruzada na reação de soroaglutinação, para os sorovares hadjo e wolffi, pois ambos pertencem ao sorogrupo Sejroe (Costa et al. 1998). Mesmo que tenha sido comprovada por sorodiagnóstico a existência do sorovar wolffi, nas amostras analisadas, a patogenicidade deste sorovar não foi comprovada em bovinos, tendo sido experimentalmente verificada em ovinos (Batra et al. 1991).

Segundo Araújo et al. (2005), até 2005, não foram encontradas publicações científicas e/ou técnicas com registros do isolamento do sorovar wolffi em bovinos clinicamente doentes. Tal condição reforça a consideração que a frequência encontrada para este sorovar no presente estudo pode se tratar de reação cruzada com o sorovar hardjo, o que por outro lado amplia a importância deste último para a pecuária maranhense.

A frequência encontrada para o sorovar grippotyphosa foi superior à relatada em outros inquéritos sorológicos em populações de bovinos (Magajevski et al. 2007, Marques 2008). A ocorrência de infecções incidentais, causadas por sorovares que não são mantidos nos bovinos, como australis, bratislava, butembo, castellanis, grippotyphosa, copenhageni, panama, pyrogenes, shermani, andamana e patoc, sugere que a transmissão da leptospirose ocorra pelo contato direto dos animais com ambientes contaminados por *L. interrogans* oriunda de outros animais domésticos e silvestres (Tonin et al. 2010).

Muitos animais silvestres, entre eles os roedores, estão perfeitamente adaptados às leptospirosas e não manifestam quaisquer sinais clínicos ou lesões (Acha & Szyfres 1986). Os roedores desempenham o papel de principais reservatórios da doença, pois

são portadores sadios, albergando as leptospirosas nos rins, eliminando-as vivas pela urina no meio ambiente e contaminando, assim, água, solo e alimentos (Brasil 1995).

Criações simultâneas de várias espécies animais domésticas numa mesma propriedade podem favorecer a ocorrência e a prevalência da leptospirose em rebanhos bovinos (Tomazela 1997).

A presença de co-aglutinações foi observada em 32 amostras. Estas envolveram quatro dos sorovares testados, apresentando 10 combinações diferentes, com maior frequência a reação tipo hardjo/wolffi com 18,27% de ocorrência.

As co-aglutinações podem ser explicadas, segundo Juliano (1999) e Bolin (2003), pela infecção concomitante de vários sorovares de *Leptospira* spp., ou por reações cruzadas entre sorovares de um mesmo sorogrupo. A diversidade de combinações de sorovares em reações de co-aglutinação observadas no presente estudo pode ser explicada pela ocorrência do fenômeno de reação paradoxal, onde há a determinação de anticorpos pouco específicos.

Vale ressaltar que todos os animais utilizados no estudo foram previamente observados/examinados *in vivo* (exame *ante-mortem*), nos currais de observação e matança, por um prazo de até 24 horas, período regulamentar de descanso, jejum e dieta hídrica e, não evidenciaram quaisquer sinais clínicos sugestivos de leptospirose, como icterícia, diminuição da ruminação, hipertermia, mastite e episódios de abortamento.

A ausência de sinais clínicos evidencia a importância de animais assintomáticos na epidemiologia da leptospirose, pois, mesmo sem apresentarem sinais, são portadores e podem eliminar o agente por tempo indeterminado (Campos Jr. 2006).

A leptospirose é considerada doença ocupacional, estando associada a determinados grupos profissionais, como magarefes, veterinários e laboratoristas (Oliveira & Neto 2007). A elevada positividade para *Leptospira* spp. no estudo, pode predispor ao aparecimento de leptospirose nos funcionários dos matadouros-frigoríficos, uma vez que, as etapas do abate são realizadas sem uso de equipamentos de proteção individual (EPI's/luvas), associado ainda ao elevado número de animais abatidos por dia e o ritmo acelerado, determinando um contato íntimo com fluidos naturais dos bovinos abatidos.

Os dados obtidos neste estudo poderão auxiliar na elaboração de estratégias de controle para a leptospirose no estado do Maranhão.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesta pesquisa, considerando a análise e interpretação dos aspectos sanitários da leptospirose, permitiram concluir que a prevalência desta enfermidade em fêmeas bovinas abatidas em frigoríficos no município de São Luís, MA foi elevada. Os sorovares mais frequentes em ordem decrescente foram: hadjo, grippotyphosa e wolffi. Anticorpos contra o sorovar hadjo detectados neste trabalho apontam para a importância do bovino, considerado reservatório deste sorovar, na disseminação e manutenção da leptospirose.

**Agradecimentos.** À Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), CAPES PROCAD I e ao CNPq.

## REFERÊNCIAS

- Acha P.N. & Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª edición. *Organización Panamericana de la Salud*, Washington, 1986.
- Alonso-Andicoberry C., Garcia-Pena F.J., Pereira-Bueno J., Costas E. & Ortega-Mora L.M. Herd-level risk factors associated with *Leptospira* spp. Seroprevalence in dairy and beef cattle in Spain. *Prev. Vet. Med.*, 52:109-117, 2001.
- Araújo V.E.M., Moreira E.C., Navega L.A.B., Silva J.A. & Contreras R.L. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57:430-435, 2005.
- Batra H., Chandiramani N.K. & Mandokhot U.V. Clinical, bacteriological, serological, pathological and metabolic studies of *Leptospira interrogans* serovar wolffi infection in sheep. *Ind. J. Anim. Sci.*, 61:6-12, 1991.
- Bolin C.A. Diagnosis and control of bovine leptospirosis. *Proc. West. Dairy Manag. Conf. Reno*, p.155-160, 2003.
- Brasil. Ministério da Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Manual de leptospirose. 2ª ed. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos, Brasília, 1995.
- Campos Jr. A.C.P.D., Freneau G.E., Juliano R.S., Acypreste C.S., Dias Filho F.C. & Martins M.E. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em machos bovinos na microrregião de Goiânia, *Ciênc. Anim. Bras.*, 7:439-446, 2006.
- Cervantes L.P.M., Puebla M.A.C., Rosas D.G., Serranía N.R. & Barranca J.I.T. Estudio serológico de leptospirosis bovina en México. *Rev. Cub. Med. Trop.*, 54:24-27, 2002.
- Costa M.C.R., Moreira E.C., Leite R.C. & Martins N.R.S. Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 50:11-17, 1998.
- Ellis W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Vet. Clin. Nort Amer. Food Anim. Prat.*, 10:463-478, 1994.
- Faine S. *Guidelines for the Control of Leptospirosis*. World Health Organization, Geneva, 1982, 171p.
- Faine S., Adler B., Bolin C.A. & Perola T.P. *Leptospira* and leptospirosis. Melbourne, Australia, 1999.
- Favero M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. Leptospirose Bovina - variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, 68:29-35, 2001.
- Hashimoto V.Y., Dias J.A., Spohr K.A.H., Silva M.C.P., Andrade M.G.B., Muller E.E., Freitas J.C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. *Pesq. Vet. Bras.*, 32:99-105, 2012.
- Homem V.S.F., Heinemann M.B., Moraes Z.M., Vasconcellos S.A., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 34:173-180, 2001.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011. (Capturado em: <<http://www.ibge.gov.com.br>>).
- Juliano R.S. Estudo da prevalência e aspectos epizootiológicos da leptospirose bovina, no bebanho de fêmeas mestiças produtoras de leite na microrregião de Goiânia - GO. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal, Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia, 1999, 60f. (Capturado em: <[http://ppgca.vet.ufg.br/uploads/67/original\\_1999\\_RAQUEL\\_SOARES\\_JULIANO.pdf](http://ppgca.vet.ufg.br/uploads/67/original_1999_RAQUEL_SOARES_JULIANO.pdf)>).
- Kirkbride C.A. *Laboratory Diagnosis of Livestock abortion*. 3ª ed. State University Press, Ames, 1990, p.59-65.
- Lage A.P., Leite R.M.H., Thompson J.A., Bandeira D.A., Herrmann G.P., Moreira E.C. & Gonçalves V.S.P. Serology for *Leptospira* sp. In cattle of the State of Paraíba, Brazil. *Arq. Inst. Biol.*, 74:185-190, 2007.
- Langoni H., Meireles L.R. & Gottschalk S. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, 67:37-41, 2000.
- Magajevski F.S., Girio R.J.S. & Meirelles R.B. Pesquisa de *Leptospira* em fetos de vacas abatidas no estado de São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, 7(2):67-72, 2007.
- Marques A.E. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e aspectos epidemiológicos da infecção em bovinos do estado de Goiás. Goiás. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiânia, 2008, 87f. (Capturado em: <[http://ppgca.vet.ufg.br/uploads/67/original\\_Dissertacao2008\\_Alberto\\_Elias.pdf](http://ppgca.vet.ufg.br/uploads/67/original_Dissertacao2008_Alberto_Elias.pdf)>).
- Mineiro A.L.B.B., Bezerra E.E.A., Vasconcellos S.A., Costa F.A.L. & Macedo N.A. Infecção por *Leptospira* em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 59:1103-1109, 2007.
- Mineiro A.L.B.B., Vieira R.J., Feitosa L.C.S., Bezerra E.E.A. & Costa F.A.L. Pesquisa de sorovares de leptospirosas em rebanho bovino leiteiro no estado do Piauí, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, 77:129-132, 2010.
- Noordhuizen J.P.T.M., Frankena K., Van Der Hoofd C.M. & Graaf E.A.M. *Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology*. Wageningen Press, Wageningen, 1997, 445p.
- Oliveira F.C.S., Azevedo S.S., Pinheiro S.R., Viegas S.A.R.A., Batista C.S.A., Coelho C.P., Moraes Z.M., Souza G.O., Gonçalves A.P., Almeida C.A.S. & Vasconcellos S.A. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado da Bahia. *Arq. Inst. Biol.*, 76:539-546, 2009.
- Oliveira S.J. & Neto J.S.P. Leptospirose em suínos. *Rev. Suin. Ind.*, 204(3):18-25, 2007.
- Pellegrin A.O., Guimarães P.H.S., Sereno J.R.B., Figueiredo J.P., Lagea P., Moreira E.C. & Leite R.C. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. Comunicado Técnico, Embrapa Pantanal, Corumbá, 1999, p.1.
- Rolim M.B.Q. Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e anti-*Brucella abortus* em bovinos abatidos em matadouro público no Estado de Pernambuco. Dissertação de Mestrado em Ciência Veterinária, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, 2010, 57f. (Capturado em: <<http://www.radarciencia.org/Record/oai-ufpe-br-726>>).
- Santa Rosa C.A., Castro A.F.P., Silva A.S. & Teruya J.M. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:19-27, 1970.
- Thompson J.A., Leite R.M.H., Gonçalves V.S.P., Leite R.C., Bandeira D.A., Herrmann G.P., Moreira E.C., Prado P.E.F., Lobato Z.I.P., Brito C.P.T. & Lage A.P. Spatial hierarchical variances and age covariances for seroprevalence to *Leptospira interrogans* serovar hardjo, BoHV-1 and BVDV for cattle in the State of Paraíba, Brazil. *Prev. Vet. Med.*, 76:290-301, 2006.
- Tomazela J.M. Rebanhos sofrem com leptospirose. O Estado de São Paulo, Suplemento Agrícola, São Paulo, 9 jul. 1997.
- Tonin A.A., Azevedo M.I., Escobar T.P., Casassol A.I., Schaefer P.C. & Badke M.R.T. Leptospirose bovina: aumento na incidência da *Leptospira interrogans* serovar butembo no rebanho do estado de Santa Catarina, Brasil. *Acta Vet. Bras.*, 4:294-297, 2010.