



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
DEPARTAMENTO DAS CLÍNICAS VETERINÁRIAS

JULIANA DA SILVA ALVES

**OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIRA spp. EM REBANHOS BOVINOS CURRALEIROS
(PÉ-DURO) NOS MUNICÍPIOS DE AMARANTE E GRAJAÚ, MARANHÃO,
BRASIL.**

São Luís - MA

2017

JULIANA DA SILVA ALVES

**OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIRA spp. EM REBANHOS BOVINOS CURRALEIROS
(PÉ-DURO) NOS MUNICÍPIOS DE AMARANTE E GRAJAÚ, MARANHÃO,
BRASIL.**

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof. Dr. Hélder de Moraes Pereira

São Luís - MA

2017

Alves, Juliana da Silva.

Ocorrência de *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos Curraleiros (Pé-Duro) nos municípios de Amarante e Grajaú, Maranhão, Brasil / Juliana da Silva Alves. - São Luís, 2017.

56f

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão, 2017.

Orientador: Prof.Dr. Hélder de Moraes Pereira.

1. *Leptospira* spp. 2. Bovino. 3. Pé Duro. I. Título

CDU: 636.27:616.993(812.1)

**OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIRA spp. EM REBANHOS BOVINOS CURRALEIROS
(PÉ-DURO) NOS MUNICÍPIOS DE AMARANTE E GRAJAÚ, MARANHÃO,
BRASIL.**

Monografia apresentada à Universidade Estadual
do Maranhão como requisito parcial para obtenção
do grau de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hélder de Moraes Pereira
Orientador

Prof^ª Dr. Hamilton Pereira Santos
1º Membro

Msc. Fábio Andrade Bessa de Lima
2º Membro

Msc. Ludmila Nayara Ribeiro Gonzaga
Suplente

AGRADECIMENTOS

Nenhuma batalha é vencida sozinha. No decorrer desta luta algumas pessoas estiveram do meu lado, estimulando a minha vitória e a conquista do meu sonho.

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que é meu rochedo e o meu lugar forte. Sempre foi meu refúgio e fortaleza e o socorro presente nas minhas angústias.

Aos meus pais, que não só neste momento, mas em toda a minha vida estiveram comigo, fornecendo apoio, compreensão e forças pra chegar até onde eu estou.

Agradeço em especial minha mãe, Dolores Alves, que como exemplo me ensinou a ser uma mulher de caráter, íntegra e corajosa para enfrentar a vida. Que sempre esteve ao meu lado, intercedendo por mim. E o meu pai, Geraldo Alves, que mesmo com todas as dificuldades da vida nunca deixou de me dar o melhor e oferecer uma boa educação. Eu os amo muito e tenho muito orgulho de ser filha de vocês.

Aos meus irmãos: Fabiano Alves, pela cumplicidade sempre; Flávia Alves, minha mãe-irmã, pelos cuidados; Fabiana Alves, pela proteção. Dedico a vocês pela fraternidade, amor e conselhos. Hoje sou o que sou com ajuda de vocês, e sou forte com vocês na minha vida, eu amo vocês eternamente. E Daniel Alves, mesmo com suas escolhas e decisões, eu te amo.

A minha cunhada Géssika Alves, que se tornou minha irmã ao entrar na família. Sou grata pelo companheirismo e amizade. Também, pelo sobrinho maravilhoso, Geraldo Neto, pois eu sou a titia que ele mais ama.

Agradeço ao meu namorado, Jailson Mendes, que é sempre presente, que me apoia, ajuda e sempre tem os bons conselhos quando é preciso. E nesse momento, aguentou minhas crises de choro e aflição. E por sonhar comigo os meus sonhos.

Aos meus amigos dessa grande jornada, que sempre estarão no meu coração e quero levar para o resto da minha vida. Lana Sampaio, Hallef Trovão, Ellis Barros, Celiz Pedrosa, Matheus Moreira, Luciana Veloso, Erika Castro, Jessica Lopes, Caio Fernando, Diogo Altino, Bruna Shirakubo e Rayane Diniz, que foram meu braço forte na graduação e companheiros. A nossa amizade é valorosa, pois entre tantas vitórias, Deus me presenteou com a dádiva de ter conhecido vocês. E por possuir um elo de respeito e fidelidade. E lembre-se que amizade verdadeira não é ser inseparável, é estar separados e nada mudar.

Agradeço ao meu orientador Hélder Pereira, que confiou em mim, desde os primeiros momentos dos projetos, e agora da monografia. Por ter me ajuda e me guiado no decorrer deste trabalho. Obrigado pelos conselhos.

A toda equipe do Laboratório de Doenças Infecciosas (UEMA), em especial Professor Hamilton Santos por todo amparo, incentivo e os excelentes conselhos. Priscila Alencar pelo apoio ajuda e suporte necessário sobre o trabalho. Leandro, Amanda, Lene, Felipe, Karlayne, Diego, Natália e Nayla pelo braço forte e ajuda nas amostras. Uma equipe de garra e dedicada.

A Universidade Estadual do Maranhão pela graduação. E a todos os colegas e professores que contribuíram para essa minha vitória!

Obrigada.

“Sabe aquele sentimento em que tudo parece certo e de que você não tem que se preocupar com o amanhã ou o ontem? E que você se sente segura e sabe que está fazendo o melhor que pode? A uma palavra para esse sentimento: ela se chama AMOR. E é o que sinto por toda minha família e amigos.”

(Filme - Prova de fogo)

RESUMO

A leptospirose é uma zoonose causada por bactérias do gênero *Leptospira*, sendo um problema de saúde pública mundial. Esta enfermidade possui grande importância para a produção animal, pois pode comprometer a sanidade do rebanho, causando problemas reprodutivos e queda na produção gerando impactos econômicos negativos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a frequência de *Leptospira spp.* em criatórios de bovinos da raça Curraleira Pé- Duro no Maranhão, Brasil. Foram colhidas 95 amostras de soros sanguíneos de fêmeas e machos com idades ≥ 24 meses, selecionadas de forma aleatória simples, provenientes dos municípios de Amarante e Grajaú. Foi aplicado um questionário para investigar a situação sanitária dos rebanhos. As amostras de soro foram submetidas à prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), sendo utilizados 31 sorovares do complexo anti-*Leptospira spp.* Das amostras analisadas, 2 (100%) para rebanhos e 95 (100%) para animais foram reagentes para um ou mais dos sorovares anti-*Leptospira spp.* com titularidade 1:100. Os sorovares mais prevalentes foram *Sentot* 64/95 (67,4%), *Patoc* 61/95 (64,2%), *Guaricura* 57/95 (60%), *Gryppotyphosa* 56/95 (58,9%), *Anadamana* 52/95 (54,7%), *Wolff* 50/95 (52,6%), e *H-CTG* 48/95 (50,5%). Conclui-se que em rebanho de bovinos Curraleiros a frequência de animais sororeagentes para leptospirose é alta nos municípios, indicando ampla disseminação da infecção, principalmente nos Núcleos de Conservação da Raça. A ocorrência positiva para esses sorovares sugere a participação da fauna local.

Palavras-chave: *Leptospira*, Bovino, Curraleiro, Pé-duro.

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonosis caused by bacteria of the genus *Leptospira* and is a worldwide public health problem. This disease is of great importance for animal production, as it can compromise the health of the herd, cause reproductive problems and decrease in production generating negative economic impacts. The present study aimed to evaluate the frequency of *Leptospira* spp. In cattle breeds of Curraleira Pé-Duro breed in Maranhão, Brazil. Ninety-five samples of blood sera from females and males aged ≥ 24 months, randomly selected, from the municipalities of Amarante and Grajaú were collected. A questionnaire was applied to investigate the health situation of the herds. Serum samples were submitted to the Microscopic Seroagglutination (SAM) test, using 31 serovars of the anti-*Leptospira* spp complex. Of the samples analyzed, 2 (100%) for cattle and 95 (100%) for animals were reagents for one or more of the anti-*Leptospira* spp serovars with 1: 100 titers. The most prevalent serovars were Sentot 64/95 (67,4%), Patoc 61/95 (64,2%), Guaricura 57/95 (60%), Gryppotyphosa 56/95 (58.9%), Anadamana 52/95 (54.7%), Wolff 50/95 (52.6%), and H-CTG 48/95 (50.5%). It is concluded that in cattle of Curraleiros cattle the frequency of seroreagent animals for leptospirosis is high in the municipalities, indicating a wide dissemination of the infection in the Nuclei of Conservation of the Race. The positive occurrence for these serovars suggests the participation of the local fauna.

Keywords: *Leptospira*, Bovine, Curraleiro, Pied-duro.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 01.** Mapa do Estado do Maranhão, em destaque os municípios de Amarante e Grajaú, MA, Brasil, 2017. 32
- Figura 02.** Frequência de reações positivas pelos principais sorovares de *Leptospira spp.* em rebanho bovino Curraleiro reagentes no teste de SAM do município de Amarante, Maranhão, Brasil. 40
- Figura 03.** Frequência de reações positivas pelos principais sorovares de *Leptospira spp.* em rebanho bovino Curraleiro reagentes no teste de SAM do município de Grajaú, Maranhão, Brasil. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Distribuição das Unidades Regionais com seus respectivos municípios, número de rebanhos e amostras, Maranhão, Brasil, 2017	33
Tabela 02. Coleção de antígenos do complexo <i>Leptospira spp.</i> de referência utilizados na prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), segundo sorovar, 2017	35
Tabela 03. Distribuição da frequência de anticorpos <i>anti-Leptospira spp.</i> por amostras de soro de animais bovinos da raça Curraleira Pé-duro dos municípios de Amarante e Grajaú, Maranhão, Brasil, 2017	37
Tabela 04. Distribuição de anticorpos detectados contra os sorovares <i>de Leptospira spp</i> submetidos à prova de SAM nos municípios de Amarante e Grajaú, Maranhão, Brasil, 2017	39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
CTG	Cantagalo
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio de Imunoadsorção Enzimática
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPI's	Equipamentos de Proteção Individual
GO	Goiás
IGA	Imunoglobulina A
IGG	Imunoglobulina G
IGM	Imunoglobulina M
KG	Quilograma
KM²	Quilômetro ao quadrado
M	Metros
MG	Miligramas
ML	Mililitro
MM	Milímetro
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PH	Potencial Hidrogeniônico
RIFI	Imunofluorescência Indireta
RPM	Rotação por minuto
SAM	Soroaglutinação Microscópica
TO	Tocantins
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UR'S	Unidades Regionais
WHO	Organização Mundial de ou da Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Origem e Características Raciais do Curraleiro Pé-Duro	16
2.2 Leptospirose	17
2.2.1 Aspectos históricos	18
2.2.2 Taxonomia e Morfologia	20
2.2.3 Epidemiologia	20
2.2.3.1 Situação da leptospirose em gado Curraleiro no Brasil	22
2.2.4 Cadeia de transmissão	23
2.2.5 Patogenia	24
2.2.6 Imunidade	25
2.2.7 Sinais Clínicos	26
2.2.8 Diagnóstico	26
2.2.8.1 Métodos diretos	27
2.2.8.2 Métodos indiretos	28
2.2.9 Controle	29
2.2.10 Tratamento	30
2.2.11 Importância Econômica	31
3 OBJETIVOS	32
3.1 Geral	32
3.2 Específicos	32
4 METODOLOGIA	33
4.1 Área de estudo	33
4.2 Seleção das propriedades e animais	34
4.3 Coleta das amostras	35
4.4 Obtenção de Informações	35

4.5 Técnica Sorológica	35
4.6 Preparação do antígeno	36
4.7 Realização e interpretação da Técnica de SAM	36
4.8 Análise dos dados	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6 CONCLUSÃO	43
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

O gado Curraleiro, como é conhecido nos Estados do Tocantins e Goiás, ou Pé-Duro na região Nordeste, tem como principal característica a rusticidade, tratando-se de um animal bastante dócil e de pequeno porte (BRITTO & MELLO, 1999; MARIANTE & CAVALCANTE, 2000). Possui carne bastante saborosa e devido a não utilização de produtos químicos é considerado um produto natural. Geralmente esse gado é criado em regiões de pastos grosseiros e escassos, clima quente e chuvas reduzidas (CARVALHO, 1985, 2002; SERRANO, 2001).

O gado que deu origem ao Curraleiro Pé Duro foi trazido da Península Ibérica para o Brasil, pelos portugueses, na época do descobrimento (MARIANTE & EGITO, 2002). Os criatórios estão presentes principalmente nos estados de Goiás, Tocantins, Bahia, Pará e Piauí, e no Maranhão, há criadores praticando a conservação da raça. Os criadores ressaltam a rusticidade, o baixo custo de produção e a baixa exigência nutricional como qualidades indiscutíveis desses animais, apesar disso essa raça encontra-se sob ameaça de extinção (FIORAVANTI et al., 2011).

Conforme Juliano (2006), existe no Brasil cerca de 5 mil cabeças bovinas da raça curraleira, considerado baixo em relação às outras raças bovinas. O pequeno porte do gado Curraleiro é o principal motivo alegado para quase levá-lo a extinção. Os programas de conservação *in situ* de populações animais, domésticas ou silvestres, implicam inicialmente em aumentar o número de indivíduos, garantindo a variabilidade genética da espécie envolvida. Para tanto, são utilizadas técnicas de manejo destinadas a maior circulação dos animais entre os criatórios, estimula-se a abertura de novos núcleos de criação e são aplicadas biotecnologias destinadas a maximizar a eficiência reprodutiva da população.

O Núcleo de Conservação de Bovinos da Raça Curraleira no Meio – Norte (PA4) propõe dar continuidade a conservação "in situ" da raça Curraleira conhecida como Pé - Duro no Piauí, além de investigar as características quantitativas e qualitativas adaptativas, relativas à produção. Visa, ainda, a possível utilização deste material genético em futuras ações de melhoramento genético com raças especializadas para produção em ambientes desfavoráveis às raças exóticas.

A raça Curraleiro é uma entidade genética distinta, comprovando assim, a unicidade de sua população (SERRANO, 2001). Sua conservação não tem sido tarefa fácil, pois os recursos financeiros são insuficientes, o número de pesquisadores e de pessoal de

apoio ainda é reduzido e há preconceito contra a raça, além da necessidade de maior divulgação sobre a importância das vantagens de sua criação (CARVALHO & GIRÃO, 1999).

As técnicas empregadas para conservação que implicam em maior circulação dos animais entre os criatórios, traz como desvantagem a maior chance de disseminação de doenças. Desta forma, o conhecimento da situação sanitária dos rebanhos e de métodos diagnósticos eficazes, é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle das enfermidades nos núcleos de criação envolvidos no programa de conservação. E entre estas enfermidades destaca-se a Leptospirose.

A leptospirose, doença infectocontagiosa que acomete animais e humanos, é causada por qualquer espécie patogênica de bactérias do gênero *Leptospira*. A doença é endêmica e a morbidade é bastante alta, apesar da letalidade ser baixa. Trata-se de uma zoonose e o contágio pode ser ambiental ou direto (CORRÊA & CORRÊA, 1992). Já foi diagnosticada em todos os continentes, no entanto sua ocorrência é mais elevada em países de clima tropical e subtropical, pois as condições ambientais favorecem a persistência e a disseminação do agente (FIGUEIREDO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010).

As consequências desta infecção são de impacto econômico, tendo em vista o acometimento de animais de produção. Em bovinos a doença pode manifestar-se de forma aguda com presença de febre, hematúria, hemoglobínúria, meningite e morte. A forma crônica, por ser mais comum, assume maior importância em rebanhos infectados. Esta se caracteriza por marcante pelas perdas reprodutivas, diminuição na fertilidade e na produção de leite e por aumento nos índices de mortalidade (ELLIS, 1984; TOMICH et al., 2007; LANGONI et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2009).

Os impactos negativos da leptospirose refletem-se economicamente, devido aos prejuízos decorrentes de abortamentos em torno de 12 a 68,4% em rebanhos não vacinados, natimortos, flacidez de úbere, à diminuição da produção láctea, redução da taxa de concepção e de infertilidade em 47% e o alto custo com o tratamento, tendo em vista à sua transmissão às diversas espécies animais de produção (PIRES, 2010).

A realização deste trabalho justifica-se pelo risco que a leptospirose representa na preservação das raças Curraleiro Pé Duro. É importante considerar ainda, que além do impacto negativo dessas doenças na saúde animal, elas trazem prejuízos à saúde humana, por serem zoonoses. E também, principalmente pela carência de dados soro-epidemiológicos da ocorrência desta enfermidade em rebanhos bovinos de no Estado do Maranhão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Origem e Características Raciais do Curraleiro Pé-Duro

Quando os colonizadores ibéricos chegaram a terras americanas, por volta do ano de 1500, depararam-se com uma fauna e flora diversa da existente na metrópole e em outras colônias. Juntamente com as famílias de colonizadores, vieram as diversas espécies de animais domésticos com a finalidade de auxiliar o homem. Dentre deles, destacaram-se os bovinos, que forneceram couro, leite, carne e trabalho aos nossos antepassados, colaborando sobremaneira para a exploração e desenvolvimento das novas colônias americanas (EMBRAPA-MEIO NORTE, 2005).

Os primeiros bovinos foram transportados da Península Ibérica, em navios negreiros, desembarcando nas capitanias hereditárias, onde hoje se localizam os estados de Pernambuco, Bahia e São Paulo (VELLOSO, 1996). Registra-se que os mesmos pertenciam a três subespécies: *Bos taurus aquitanicus*, *Bos taurus ibericus* e *Bos taurus batavicus*. Estes primeiros animais povoaram os campos nativos brasileiros adaptando-se ao clima e vegetação, dando origem a grandes rebanhos com diversas variedades genéticas. Algumas destas raças estão presentes na atualidade e melhoradas geneticamente (PRIMO, 1992).

O bovino Curraleiro Pé-Duro tem origem destes animais, sendo descendente da união de raças portuguesas como a Alentajana e Galena, e raças espanholas pertencentes ao tronco *Bos taurus aquitanicus*. De maneira mais precisa relata-se que estes bovinos descendem da raça Mirandesa, particularmente da variedade Beiroa, encontrada ainda hoje nas províncias de León e Trás-os Montes, na Espanha e Portugal, respectivamente (CARVALHO & GIRÃO, 1999). Entretanto, é possível que outros grupamentos genéticos tenham participado da formação do Curraleiro Pé-Duro, porém naquela época ainda não eram estabelecidos como raça.

No ano de 2012 a raça Curraleiro Pé Duro foi reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e caracterizadas como uma raça de dupla aptidão, produzindo leite e carne de alta qualidade. Além de ser reconhecida pelo MAPA, possui também uma associação que nasceu da Associação dos Criadores Piauienses (ACP) pelo fato de congregar grande parte dos criadores dessa raça, se tornando, então, Associação Brasileira de Criadores de Bovinos Curraleiros Pé Duro (ABCPD), a qual hoje tem se empenhado em promover a conservação dessa raça histórica.

O gado Curraleiro Pé-duro possuem características raciais como peso mínimo de 380 kg para os machos e 300 kg para as fêmeas, são considerados de porte pequeno por possuir uma altura mínima de 1,34 m para os machos e 1,20 m para as fêmeas. As pelagens mais comuns são a baía e vermelha clara, sendo as extremidades como vassoura da cauda e focinho, pretos, podendo alguns apresentar manchas escuras ao redor dos olhos. A cabeça pequena apresenta cornos curtos a médios em forma de coroa, sendo as orelhas pontudas, pequenas e revestidas com pelos claros. Possuem barbela e umbigo reduzidos além de membros delgados (BRITTO, 1999; BOAVENTURA et al., 2005; SANTIN, 2008).

São animais rústicos e resistentes a condições desfavoráveis, resultado de um sistema de criação extensiva, com pouco ou nenhum cuidado sanitário, em pastagens de baixa qualidade, baixa umidade e altas temperaturas. Características como resistência a doenças em geral, intoxicações, ecto e endoparasitas, baixa mortalidade de bezerros e abortos são descritas pelos proprietários (MARIANTE & EGITO, 2002).

São discriminados pelo pequeno porte e preteridos por outros com maior rendimento de carcaça (RANGEL et al., 2004). Entretanto esta morfologia é uma adaptação a regiões com déficit alimentar e hídrico. Tanto que em épocas de estresse nutricional apesar de perderem peso, não adoecem e recuperam-se rapidamente quando as condições melhoram. Isto porque aproveitam bem todos os tipos de pastagens e sem a necessidade de suplementação alimentar. Desta forma o Curraleiro Pé-Duro tem um bom custo-benefício já que não exige grandes investimentos e tem baixo custo de produção, sendo adequado para pequenos e médios produtores (PRIMO, 1992; MARIANTE & CAVALCANTE, 2000).

2.2 Leptospirose

2.2.1 Aspectos históricos

Em 1800, a leptospirose foi descoberta no Cairo, por Larrey, médico militar francês, que observou no exército napoleônico dois casos de icterícia infecciosa, a qual foi descrita em 1881, por Weiss, em Praga, como uma doença que provocava icterícia no homem “Icterus catarrhalis”, nefrite e esplenomegalia, e que posteriormente foi denominada doença de Weil (CACCHIONE, 1962). E três anos após, Wittman caracterizou e descreveu a enfermidade como de início repentino, associada a dores de cabeça, prostração, derrame

conjuntival, icterícia, hemorragias petequiais e reincididas, relacionando-a com a presença de ratos (FAINE et al., 1999; GOMES, 2014).

Em 1907, nos Estados Unidos da América, Stimson observou o agente em cortes histológicos de rim de paciente diagnosticado com febre amarela. As bactérias apresentavam uma forma similar ao ponto de interrogação e se encontravam em conjunto, denominadas de “*Spirochaeta interrogans*” (CACCHIONE, 1962; FAINE et al., 2000). Após dez anos, no Japão, ocorreu o isolamento do micro-organismo, após a inoculação do sangue de mineradores infectados em um porquinho da índia (SOUSA et al., 2014). O micro-organismo isolado foi cognominado de *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*; em 1917 foi sugerida a criação do gênero *Leptospira*, pelo fato da sua morfologia espiralada. No mesmo ano, em pesquisa realizada com ratos, verificou-se que 40% destes eram portadores renais desse micro-organismo e conseqüentemente possíveis carreadores da infecção em humanos. (FAINE et al., 1999).

Durante a década de 30, a doença era concebida como exclusiva de cães, mas, logo foi reconhecido seu potencial zoonótico, sendo descritas as formas *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae* (KLARENBECK et al., 1933). No ano 1939 uma lista de sorotipos e de animais hospedeiros foi publicada internacionalmente. Na década de 40 a enfermidade foi citada como um problema de cunho veterinário na cadeia de produção animal e uma zoonose (WALCH-SORFDRAGER, 1939; SEMSKOV, 1940).

O primeiro relato de leptospirose em bovinos foi em Cáucaso, na Rússia, por Mikhin e Azhino, em 1935, através do isolamento de *Leptospiras spp* em bezerros, com sinais de hemoglobinúria infecciosa aguda (YANAGAWA et al., 1955).

No Brasil, a leptospirose foi constatada, primeiramente no Estado do Pará, por McDowell (1917), após diagnóstico clínico da enfermidade precedido de um surto. E no mesmo ano, na cidade do Rio de Janeiro, foi diagnosticada a *Leptospira icterohaemorrhagiae*, por Aragão, em estudo realizado em seis *Rattus norvegicus*. (BRASIL, 1995).

Em bovinos, efetuaram o primeiro isolamento de *Leptospira spp*, classificada como sorovar *Pomona*, feito por Freitas e colaboradores no ano de 1957. Também Santa Rosa et al. (1970), isolaram uma estirpe do sorovar *Icterohaemorrhagiae*, em bovinos, no estado de São Paulo e, Yanaguita (1972), ao examinar quinhentos bovinos em matadouro, isolou duas estirpes de *Leptospira spp*, classificadas como novos sorovares do sorogrupo *Hebdomadis*: *L.*

guaicururus e *L. goiano* (VASCONCELLOS et al., 2001), e o sorovar *Georgia* por Moreira em 1994.

2.2.2 Taxonomia e Morfologia

A leptospirose é uma antropozoonose, considerada doença emergente que afeta homens e animais com ocorrência endêmica mundialmente, causada por espiroquetas flexíveis e helicoidais de qualquer espécie patogênica de bactérias do gênero *Leptospira*. O gênero *Leptospira* é um dos gêneros pertencente à classe Eubacteriales, família Leptospiraceae da ordem Spirochaetales (FAINE et al., 1999; GOMES, 2014)

A classificação das espécies do gênero *Leptospira* está baseada no grau de parentesco do DNA. O gênero está dividido em 16 espécies definidas e mais recentemente quatro espécies genéticas foram incluídas como espécies distintas com pelo menos, 70% de parentesco (DNA) e cuja sequência contém uma divergência de, pelo menos, 5% de bases não pareadas. Esta classificação coexiste com a antiga classificação sorológica na qual o antissoro era utilizado para estabelecer parentesco entre as amostras isoladas (GOMES, 2014). Na classificação sorológica, a unidade taxonômica básica é o sorovar. Cada sorovar relaciona-se com o(s) seu(s) hospedeiro(s) preferencial (ais), ainda que uma espécie animal possa albergar um ou mais sorovares (BRASIL, 2005; JÚNIOR, 2015).

Atualmente são reconhecidas 13 espécies de leptospirosas patogênicas, com mais de 260 sorovares, e seis espécies saprófitas, com cerca de 60 sorovares (ADLER & MOCTEZUMA, 2010).

São bactérias com diâmetro de 0,1 a 0,2 µm por 6-20 µm de comprimento aproximadamente, com forma de espiroquetas espiraladas, móveis, aeróbias, não capsuladas nem esporuladas, com gancho característico terminal em uma ou ambas as extremidades. E são ativamente móveis devido a dois filamentos axiais, apresentando movimentos de saca rolha (spin), bem como de flexão-extensão e são facilmente visualizadas por microscopia de campo escuro (FAINE, 1999; AVELAR & PEREIRA, 2005; SANTOS et al., 2008).

A composição da membrana das leptospirosas é de lipopolissacarídeo, similar à de bactérias Gram-negativas, porém com baixa atividade endotóxica (LEVETT, 2001). Como fonte de carbono e energia, utilizam ácidos graxos, vitaminas B1 e B12, ferro ferroso e íons de amônio (FAINE, 1999; SANTOS et al., 2008).

As leptospirosas possuem um crescimento ótimo em pH 7,2-7,6, à temperatura de 28-30°C (FAINE et al., 1999). São destruídas em temperaturas ambientais inferiores de 7°C a 10°C ou superiores a 34°C a 36°C, pela exposição direta à radiação solar, às grandes variações de pH (<6,0 e >8,0), à elevada salinidade e a ambientes secos, necessitando 15,2 -31,4% de umidade (FAINE et al., 1999; LEVETT, 2001). Podendo sobreviver no meio ambiente, dependendo de uma combinação de fatores como umidade e textura do solo. As características de solo e das águas de superfície assumem grande importância na perpetuação de focos de leptospirose numa região. A estrutura e o tipo de subsolo são determinantes para a sobrevivência de leptospirosas, que vivem 30 minutos em solo seco (RADOSTITS et al., 2007). Águas da chuva e correntezas inundam as rachaduras provocadas pela dessecação, fazendo com que as leptospirosas sejam liberadas para o ambiente, atingindo as águas de superfície e solo; fechando um ciclo de infecção (SMITH & SELF, 1955; KARASEVA, 1971).

2.2.3 Epidemiologia

A leptospirose é epidemiologicamente bem definida, apresenta ampla distribuição geográfica e está associada às condições climáticas (HAMOND, 2010; MARTINS et al., 2012). Os níveis de ocorrência são elevados em regiões de clima tropical e subtropical, como na América Latina, África e Ásia. O período chuvoso impede a evaporação da urina contendo *Leptospira* expelida de animais infectados, o que pode ocasionar o aumento da incidência da doença (VASCONCELLOS, 2004). A manutenção de *Leptospiras* nas regiões urbanas e rurais do Brasil é favorecida além do clima, por condições sócio-econômico-culturais.

A taxa de morbidade para a doença clínica é alta e pode atingir 100% dos animais, enquanto que, a taxa de letalidade é baixa, em torno de 5%, porém, em bezerros a mortalidade é maior do que em animais adulto (GÓMEZ, 2008). O crescimento das cidades sem planejamento e o excesso de lixo acumulado sobre vias e áreas desprotegidas propiciam a proliferação de roedores, o que favorece a persistência e disseminação da infecção (BRASIL, 1995; BEZERRA et al., 2010).

É uma enfermidade que acomete 160 espécies de mamíferos domésticos e silvestres aproximadamente (JONES et al., 2000). Os diferentes sorovares de *L. interrogans* não apresentam especificidade de hospedeiro, porém, é observada a preferência de certos sorovares por determinados vertebrados. Estas condições configuram-se nas associações estabelecidas entre o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) e o sorovar *Icterohaemorrhagiae*,

tendo como hospedeiro susceptível o homem; o cão doméstico com o sorovar *Canicola*; o suíno com o sorovar *Pomona*; os equinos com o sorovar *Bratislava*, os ovinos com os sorovares *Icterohaemorrhagiae* e *Hebdomadis*, entretanto há evidência que esta espécie seja hospedeira de manutenção do sorovar *Hardjo*; os caprinos com os sorovares *Icterohaemorrhagiae*, *Castellonis* e *Grippytyphosa* e os bovinos, com os sorovares *Hardjo*, *Wolffi* e *Pomona* (FAINE, 1994; GENOVÉZ, 2009). E de acordo com Santa Rosa et al. (1975;1980), as sorovariedades relacionadas aos animais silvestres são: *Patoc*, *Shermani*, *Hebdomadis*, *Autumnalis*, *Pyrogenes*, *Australis*, *Castellonis*, *Sentot* e *Andamana*.

Em artigo de revisão publicado por Levett (2001) os bovinos foram citados como hospedeiros de manutenção do sorovar *Hardjo*, em estudos realizados em vários países. Na Austrália, os sorovares *Hardjo* e *Pomona* foram diagnosticados em abortos bovinos, com evidência sorológica de incidência muito superior do primeiro. Na Escócia e nos Estados Unidos o sorovar *Hardjo* também se revelou como o mais prevalente nos rebanhos estudados.

Favero et al. (2001) relatou que em exames de soroaglutinação microscópica (SAM) realizado no período de 1984 a 1997 em 31.325 bovinos de 1920 propriedades distribuídas em 540 municípios de 21 estados do Brasil, 84,1% das propriedades e 94,18% de municípios foram positivos em pelo menos uma amostra. Entre os estados a média foi de 49,51% de animais reagentes, sendo os sorovares mais prevalentes, *Hardjo*, *Wolffi* e *Grippytyphosa*.

Em investigação da prevalência de anticorpos *anti-leptospira* em fêmeas bovinas no estado de Mato Grosso do Sul, foram detectados animais reagentes para um ou mais sorovares em 1.801 fêmeas (98,8%) de 161 (96,5%) rebanhos. O sorovar *Hardjo* (65,6%) foi apontado como o mais provável, seguido do sorovar *Wolffi* (12,3%). No estudo, os fatores de risco associados à infecção por bactérias do gênero *Lepstopira* foram o tipo de exploração pecuária de corte e a raça Zebu (FIGUEIREDO et al., 2009).

Ao estudar os fatores de risco associados à leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Oliveira et al. (2010) detectaram animais soropositivos em 77,9% das propriedades amostradas. O sorovar *Hardjo* (*Hardjoprajitno*) foi o mais prevalente, com 34,49% das propriedades positivas. Os fatores de risco para leptospirose foram rebanhos com mais de 28 fêmeas bovinas em idade reprodutiva, presença de cervídeos, compra de animais, abate de animais na própria fazenda e utilização de pastos compartilhados.

Em um estudo realizado na microrregião de Goiânia, no Estado de Goiás, Juliano (1999) observou prevalência de 81,9% de animais reagentes entre as 426 amostras de bovinos. Os principais sorovares encontrados foram *Wolffi* (36,1%), *Icterohaemorrhagiae* (20,5%), *Hardjo* (5,2%) e *Tarassovi* (4,9%). No trabalho de Favero et al. (2001), 487 (34,6%) foram positivas, sendo o sorovar *Hardjo* responsável por 63,7% e o sorovar *Wolffi* por 13% das reações positivas.

Também nesse Estado, Marques et al. (2010) de 4.571 amostras foram detectadas 62,2% de amostras positivas para pelo menos um dos dezesseis sorovares testados, com predominância dos sorovares *Wolffi* (14,53%), *Hardjo* (12,70%), *Grippytyphosa* (10,55%) e *Shermani* (6,55%).

2.2.3.1 Situação da leptospirose em gado Curraleiro no Brasil

Geralmente o gado Curraleiro (Pé-duro) é criado em regiões de pastos grosseiros e escassos, clima quente e chuvas reduzidas, passando por restrições alimentares, favorecendo a proliferação da leptospirose (CARVALHO, 2002). E o Brasil possui todas essas características que favorece a criação da raça.

Em estudo com gado Curraleiro, Maggioli et al. (2007) verificaram um índice de 36,2% em 11 propriedades do Estado de Goiás e de 54,1% em dez propriedades no Tocantins. E Juliano (2006) detectou títulos aglutinantes para leptospirose em 31,6% dos 569 animais amostrados. Os sorovares mais prevalentes foram *Hardjo* e *Wolffi* reforçando a importância da espécie bovina na manutenção e disseminação desses sorovares como causadores da Leptospirose. A ocorrência de positividade para outros sorovares como *Hebdomadis* e *Grippytyphosa* sugere a participação de espécies silvestres na transmissão da infecção.

Santin (2008) encontrou 58,6% de Curraleiros com sorologia positiva, dentre os 58 animais testados, confirmando a ampla disseminação do agente nos rebanhos. Os sorovares *L. hardjo*, *L. wolffi* e *L. hebdomadis* foram os mais frequentemente encontrados na totalidade da população amostrada.

Juliano et al. (2016), encontrou uma frequência total de sororeagentes para *Leptospira* spp. de 46,81% (n=469), sendo 39,52% em Goiás e 54,23% no Tocantins. Os sorovares mais frequentes foram *Hardjo*, *Wolffi*, *Grippytyphosa*, *Shermani* e *Hebdomadis*. Já FAVERO et al. (2001) encontrou uma frequência para GO (46,50%), maior do que para TO (41,20%), menores do que os 81,90% de soropositividade, citados por Juliano et al. (2000) e

74,28 % encontrados por Campos Jr. *et al.* (2006) em rebanhos leiteiros na microrregião de Goiânia-GO. Marques (2008) observou prevalência de 62,20% em 4571 animais amostrados em todo o estado de Goiás.

No estudo de Favero *et al.* (2001) *Hardjo* e *Wolffi* foram detectadas como variantes mais prováveis, embora com prevalências distintas, no Mato Grosso do Sul (51,5% e 24,2%), Mato Grosso (82,35% e 5,88%), Goiás (63,7% e 13%) e Piauí (66,5% e 14,2%). Em Minas Gerais Araújo *et al.* (2005) obtiveram 19,7% de reações positivas ao sorovar *Hardjo* e 13,2% de *Wolffi*. Na Bahia Oliveira *et al.* (2010) detectaram predominância de respostas a *Hardjo* (34,49%) seguido pelos sorovares *Shermani* e *Wolffi*.

De acordo com Romani (2012), a frequência de animais sororeagentes para leptospirose em rebanhos curraleiro é elevada, indicando ampla disseminação da infecção nos Núcleos de criação de bovinos de raças localmente adaptadas. Os sorovares mais prevalentes foram *Hardjo* e *Wolffi*.

A ocorrência de positividade para sorovares como *Grippotyphosa*, *Shermani*, *Pomona* e *Hebdomadis* em Curraleiros sugere a participação da fauna local na epidemiologia da leptospirose bovina nos Núcleos de conservação das raças. Para os autores flutuações na sororeatividade no decorrer do tempo podem ser atribuídas a fatores intrínsecos e extrínsecos que modificam a tríade epidemiológica agente, hospedeiro, ambiente.

2.2.4 Cadeia de transmissão

A leptospirose pode ocorrer da forma direta, indireta ou acidental. A infecção direta ocorre pelo contato do indivíduo susceptível, com urina contendo o agente, fluidos placentários, descarga uterina pós-aborto, contato sexual e por via transplacentária. A forma de infecção indireta ocorre pelo contato do animal com o ambiente contaminado ou por inseminação artificial, enquanto a acidental surge do contato dos animais com o meio contaminado por outras espécies animais ou silvestres que são reservatórios, e transmitem a infecção pela via indireta aos animais de produção (GÓMEZ, 2008; CURSI, 2010).

A via transplacentária e mamária pode estar envolvida na transmissão da leptospirose (SPEELMAN, 2008; PHILIP, 2011). Também há probabilidade de transmissão do micro-organismo por meio do sêmen industrializado proveniente de touro infectado, embora o sêmen contenha antibiótico, o glicerol e armazenamento em nitrogênio líquido contribuem para a conservação da bactéria (COSTA *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2002).

A principal via de eliminação da bactéria é através da urina, podendo ser expelida até por 280 dias após a recuperação do animal (PIRES, 2010). Os roedores apresentam leptospiúria prolongada e albergam *Leptospira spp* nos rins, sendo estas, excretadas no ambiente, contaminando o solo, a água e alimentos.

Nos ecossistemas rurais e urbanos, os roedores são considerados portadores universais, pois se deslocam com facilidade e são assintomáticos (SEHGAL, 2006). Embora no meio rural, o rato tenha sua importância como fonte de infecção para o rebanho e o homem, os principais reservatórios da doença no interior de uma propriedade bovina são os próprios animais infectados (VASCONCELLOS et al., 1997) que contaminam o pasto com os fetos abortados, corrimentos uterinos e urina contaminada (CASTRO, 2012).

O ciclo de transmissão da leptospirose compreende a interação entre reservatórios animais, ambiente favorável e grupos humanos suscetíveis (HOMEM et al., 2001; BARCELLOS et al., 2003; SOUZA JUNIOR et al., 2006).

2.2.5 Patogenia

As leptospiplas possuem capacidade de penetrarem no organismo do hospedeiro através da pele lesada ou íntegra e/ou mucosas oral, nasofaríngea, conjuntival, esofágica e vaginal, e sua habilidade de sobrevivência nos tecidos, constituem os maiores componentes de virulência dessas bactérias (REZENDE et al., 1997; FAINE et al., 1999; SOTO et al., 2007).

Após a penetração, as bactérias disseminam-se pela corrente circulatória e tem início o processo de leptospiremia, e atinge diversos órgãos como: pulmão, fígado, baço, órgãos reprodutores e no líquido cefalorraquidiano. O período de incubação é em torno de 7 a 14 dias. Conforme a dose e variante infectante inicia-se a fase de multiplicação sistêmica dos micro-organismos, denominada de leptospiremia, com duração de quatro a cinco dias (FAINE et al., 1999; CINCO, 2010).

Com a evolução da infecção, ocorre a reação imunitária do hospedeiro, que antagoniza o agente e faz com que o mesmo persista em áreas do organismo onde não há imunidade humoral, ou encontra-se em níveis baixos. Em seguida as bactérias passam a persistir em locais comuns como a câmara anterior do globo ocular, a luz dos túbulos renais, o sistema nervoso central e o trato genital (REZENDE et al., 1997; FAINE et al., 1999).

As multiplicações destes micro-organismos nos túbulos renais dão o início à fase de leptospiúria, que ocorre entre o sétimo e décimo dia da evolução da doença, e sua

permanência depende da resistência do hospedeiro. Além da eliminação de bactéria viável, durante essa fase também ocorre à formação de complexos imunes e reação inflamatória, o que leva vários órgãos a uma vasculite generalizada (VASCONCELOS, 1987; FAINE et al., 1999).

Na fase aguda as principais alterações macroscópicas são os graus variáveis de icterícia, hemorragia e anemia, bem como a presença de sangue na urina, os rins podem estar aumentados e com hemorragias petequiais na superfície. Na fase crônica da enfermidade, pode haver a presença de manchas esbranquiçadas na superfície renal em decorrência da infiltração de células inflamatórias, com evidência de atrofia glomerular (FAINE et al., 1999).

De acordo com Gomes, 2014, o aparecimento de anticorpos circulantes coincide com a eliminação de *Leptospiras* dos órgãos. Estas podem permanecer nos rins e trato urinário ou podem ser eliminadas por semanas a meses, após a infecção.

2.2.6 Imunidade

Na leptospirose a imunidade a uma infecção inicial depende dos mecanismos humorais envolvendo a opsonização de *Leptospiras* e fagocitose por macrófagos e neutrófilos (FAINE et al., 1999). Os macrófagos conseguem fagocitar amostras de leptospiras patogênicas com a presença de anticorpos específicos, no entanto, as amostras patogênicas necessitam estar opsonizadas para que haja a fagocitose por estas células (MARINHO et al., 2003). A interação destas células, de complementos e anticorpos específicos, seria responsável pelo efeito bactericida sobre *Leptospiras* patogênicas (WANG et al., 1984).

A primeira resposta sorológica relacionada à infecção é a produção de imunoglobulinas da classe M (IgM). Essas são desenvolvidas no período entre 2 a 10 dias da infecção, de acordo com a espécie acometida, resposta imunológica do animal e do tamanho da partícula antigênica (ADLER, 1976; 1977). A produção de anticorpos IgG surge com 1 a 2 semanas da infecção. Os níveis de anticorpos produzidos podem perdurar por semanas a meses, assim como, por períodos de 2 a 20 anos na espécie humana e por momentos comparáveis em animais, onde podem persistir por toda sua existência (FAINE et al., 1999).

A imunidade pode ser conferida passivamente por antissoro ou por anticorpos monoclonais. Em mamíferos os anticorpos maternos são transferidos para o feto e neonatos através da via transplacentária (IgG) e colostro (IgA) (FAINE, 1982). As quantidades de

anticorpos dependerão do tipo de placenta e do nível de imunoglobulinas maternas. Nos bezerros, os anticorpos maternos podem manter-se durante 2 a 6 meses.

2.2.7 Sinais Clínicos

Em bovinos os sinais clínicos encontrados na infecção são variados e dependem do sorovar infectante e da susceptibilidade do animal (FAINE et al., 2000). As espécies acometidas podem ou não apresentar sintomas, tornando-se portadores inaparentes, o que contribui para a disseminação da bactéria no ambiente (ACHA, 2003; COELHO, 2011).

A leptospirose pode ocorrer tanto na forma aguda, como subaguda e crônica. Na forma aguda, ocorrem, sinais de febre, hemoglobinúria, icterícia, anorexia, aborto e queda na produção do leite devido a uma mastite atípica, com o úbere podendo apresentar-se edematoso e flácido à palpação, com o leite apresentando-se amarelado ou sanguinolento, sinais clássicos da infecção pela sorovariedade *Hardjo*. Já na forma subaguda, difere da aguda só em grau, são também descritas diminuição na produção do leite, febre, leve icterícia e diminuição da ruminação.

De acordo com Vasconcellos (1997), na forma aguda anticorpos são produzidos ocorrendo à regressão da septicemia que desaparece após uma semana. As bactérias sobreviventes se alojam nos rins e trato genital evoluindo para a fase crônica.

Na forma crônica, é representada por distúrbios reprodutivos, mais associados aos sorovares *Hardjo* e *Pomona*. Ocorre abortamento entre o 5º e 6º mês de gestação e retenção de envoltórios em 20% dos animais que abortam; baixa eficiência reprodutiva, retenção de placenta, infertilidade, natimortos e morte fetal (BOLIN, 1999; RIET-CORREA et al. 2001). Existem relatos que os sorovares *Grippotyphosa* e *Icterohaemorrhagiae* também estão relacionados a surtos de abortamentos (DHALIWAL et al., 1996; VASCONCELLOS et al., 1997; FAINE et al., 1999; ANZAI et al., 2002; FAVERO et al., 2002; GARCIA, 2012)

2.2.8 Diagnóstico

O diagnóstico da leptospirose é considerado difícil pela relação complexa entre agente-hospedeiro, alterações no padrão de infecção e devido aos animais domésticos não apresentarem sinais patognomônicos (FAINE et al., 1999; GOMES, 2013). Estão relacionadas ao histórico clínico, as informações epidemiológicas, como a realização ou não de vacinação,

e aos fatores de risco. Diversos métodos laboratoriais são utilizados na confirmação da doença. Existem os métodos diretos, que incidem na detecção do micro-organismo ou do seu DNA e, os métodos indiretos, relacionados à presença de anticorpos frente à atuação do agente etiológico (BOLIN, 1999; 2003; SARMENTO, 2012).

Não existe uma técnica recomendada para uso de todas as situações clínica devido alguns testes perderem a sensibilidade e outros possuem problemas com a especificidade. Por isto, o uso de uma combinação de testes permite uma maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico (BRASIL, 1995; FAINE, 1999; BOLIN, 2003). Porém, o teste padrão é a soroaglutinação microscópica (SAM) com os sorovares predominantes na região de criação do rebanho (OIE, 2009).

Deve ser estabelecido diagnóstico diferencial com outras doenças que cursam com o aborto, distúrbios reprodutivos ou até mesmo de abortos de origem não infecciosa. Como a Clostridiose que causa a hemoglobinúria bacilar dos bovinos. Doenças parasitárias, como a Tripanossomose por *Trypanosoma vivax*, que causa anemia, icterícia, palidez de mucosas e edema facial; pode ocorrer febre, prostração e morte. Plantas tóxicas, como o Fedegoso, *Cassia occidentalis* (sin. *Senna occidentalis*), que causa diarreia, tremores musculares, incoordenação motora e urina cor de sangue (mioglobínia), também a Samambaia, *Pteridium aquilinum*, que causa hematuria enzoótica e síndrome hemorrágica aguda. A Tannergrass, *Brachiaria radicans*, que causa anemia hemolítica e urina de cor marromavermelhada. Por desequilíbrios alimentares, como a Intoxicação por cobre, onde o excesso de cobre na alimentação pode resultar em anemia hemolítica com manifestação de fraqueza, urina cor de sangue e icterícia. No entanto, essa intoxicação é mais comum em ovinos. Em bovinos sua ocorrência é acidental. A deficiência de fósforo que pode ocorrer hemoglobinúria pós-parto em vacas com duas a três semanas após o parto, caracterizada por anemia, urina cor de sangue e fraqueza geral (Kessler & Schenk, 1998a; Lemos et al., 1998; Tokarnia et al., 2000).

2.2.8.1 Métodos diretos

O isolamento bacteriano é um teste de alta especificidade, porém com limitações, pois, trata-se de uma técnica difícil, onerosa e desenvolvida em laboratórios específicos (BOLIN, 1999; BOLIN, 2003). Os espécimes clínicos de eleição são urina, útero, rim e produtos oriundos de abortamento (ELIIS, 1994).

A técnica de Microscopia em Campo Escuro é um método simples, utilizado como teste populacional, no entanto, apresenta a desvantagem de baixa especificidade e sensibilidade, devido à presença de elementos nos fluidos corporais que pode dificultar a visualização do agente. Identifica a *Leptospira spp.* presentes em soro sanguíneo, líquido cérebro espinhal, fluido peritoneal, tecidos ou conteúdo gástrico de fetos abortados. É utilizada amostras de urina na fase de leptospirúria; quando realizada de forma imediata após colheita, aumenta a probabilidade da obtenção de resultado positivo, pois, o diagnóstico é fundamentado na motilidade e morfologia das *Leptospiras*. (SANTA ROSA, 1970; FAINE, 1982; BOLIN, 1996; LEVETT, 2001).

A prova de Imunofluorescência direta é utilizada para identificar o agente no sangue, tecidos, urina e sedimentos. É uma técnica restrita para de estudo experimental com pouco uso no diagnóstico de casos clínicos (LEVETT, 2001). Já a técnica de Imunohistoquímica pode ser realizada para diagnóstico de *Leptospira spp* em órgãos, visando correlacionar as lesões com a presença da bactéria nos tecidos (BOLIN, 2003).

O teste de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) é utilizado para a investigação em quantidades mínimas do DNA do micro-organismo, porém possui desvantagens por apresentar dificuldade no isolamento, devido ser laborioso utilizado de forma restrita por alguns laboratórios e ser oneroso. Utiliza-se amostras biológicas, como soro, líquido cérebro-espinhal, urina, fezes, tecidos, leite, sêmen e embrião (BAL et al., 1994; PINHEIRO et al., 2001; FRAGA, 2009).

2.2.8.2 Métodos indiretos

O método da prova de Macro Aglutinação e de Imunofluorescência Indireta (RIFI), são provas que diagnosticam a leptospirose na fase aguda da doença do susceptível (LEVETT, 2001). A técnica de RIFI pode ser utilizada para identificar *Leptospira spp* em tecidos, sangue, urina ou sedimentos, com antígenos inativados pelo formol. (BRASIL, 1995; BOLIN, 2003).

A prova de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) é realizada com kits comerciais, que tem como vantagens serem de fácil execução, os reagentes podem ser armazenados por maior período de tempo sem perderem a reatividade e a capacidade de diferenciar a infecção ocorrida no passado com o presente. Ocorre uma detecção de

imunoglobulinas específicas da classe IgM e IgG, contudo, é contra indicada para a identificação dos sorogrupos e das sorovariedades (WHO, 2003; SOUZA, 2012).

A Soroaglutinação Microscópica (SAM), segundo Lilenbaum (1996) e Vasconcellos (1997), é considerada a reação sorológica padrão para o diagnóstico da leptospirose, tornando-se preconizada pela OIE (padrão ouro) de referência internacional. É um procedimento laboratorial mais amplamente empregado para o diagnóstico etiológico da infecção animal. (LEVETT, 2001; BRASIL, 2005; OIE, 2014). Possui sensibilidade e especificidade elevadas, porém, há desvantagem de não diferenciar anticorpos IgM e IgG (anticorpos resultantes de infecção ou vacinais). O SAM detecta anticorpos séricos específicos, contra uma coleção de antígenos vivos dos diferentes sorogrupos de *Leptospira spp.* O ponto de corte (cut-off) do teste é a diluição dos soros igual ou superior a 1:100 (LEVETT, 2001; OIE, 2014).

2.2.9 Controle

O controle da leptospirose devem conter estratégias que envolvam os fatores ambientais, os reservatórios e o homem, desta forma, deve estar relacionada à cadeia de transmissão do agente, englobando a investigação dos sorovares, detecção das fontes de infecção com realização de diagnóstico, prevenção da entrada de animais portadores, detecção e eliminação dos mesmos das propriedades, realização de exames sorológicos, tratamento e imunoprofilaxia dos susceptíveis (HASHIMOTO, 2012; LIBENBAUM, 1996).

Outras medidas devem ser tomadas para o controle da leptospirose como: o condicionamento e a eliminação do excesso de água livre, armazenamento dos alimentos para o uso humano e animal em instalações que impeçam a entrada e permanência de roedores e de outras espécies domésticas, destino correto do lixo, descarte de materiais em desuso, desratização, realização de inseminação artificial através de centrais idôneas, além de tomadas de medidas de biossegurança (COELHO, 2011; SILVA et al., 2012).

Conforme Brasil (1995), a vacinação obviamente é o método de controle de escolha. A proteção específica dos animais susceptíveis é obtida com o uso de vacinas inativadas que contenham os sorovares de *Leptospiras spp.* presentes na região (SALLES & LILENBAUM, 2000). Deve ser aplicada entre três a quatro meses de idade, com dose de reforço após trinta dias e com vacinações semestrais ou anuais, de acordo com as condições

ambientais, levando em consideração que quanto maior o risco de exposição, menor deve ser o intervalo entre as revacinações (LEITE, 2000).

No que concerne as vacinas contra *Leptospira* spp., CHIARELI et al. (2012) citaram que essas devem conter as sorovariedades presentes no rebanho para que a vacina seja eficiente. Os autores também descreveram que os anticorpos gerados pela vacina anti-*Leptospira* são da classe IgG, que atuam nos epítomos (sítios de ligação do antígeno com receptores celulares ou anticorpos) do antígeno e que podem ser transudados para o útero, agindo sobre a infecção uterina. Contém os sorovares de *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. pomona* e *L. wolffi*, inativadas pelo formol e adsorvidas em hidróxido de alumínio.

A Organização Mundial da Sanidade Animal menciona a importância do programa de vacinação, que deve ser adaptada à população alvo e que o rebanho seja vacinado antes de sua exposição a áreas contaminadas. Os bovinos destinados à reprodução que necessitam ser transportados deverão conter certificação quanto à ausência de sinais clínicos para leptospirose, conforme preconizado pelo Código Sanitário para os Animais Terrestres (OIE, 2014).

2.2.10 Tratamento

O tratamento visa minimizar o potencial de transmissibilidade, tendo em vista, o bloqueio da eliminação através da urina, sêmen e secreção vaginal. Diante de diversos produtos testados, a estreptomicina e seus análogos (diidro), é o medicamento mais indicado.

De acordo com Moreira (2010) a dose recomendada usualmente é única, na concentração de 25mg/Kg de peso vivo, aplicada por via intramuscular, porém, a terapia com diidroestreptomicina é limitada, por ser dispendiosa. Em animais para reprodução com alto valor zootécnico, há necessidade de 50 mg/Kg por peso vivo, para obtenção de boa eficácia (FAINE et al., 1999; LEITE, 2000).

O tratamento com estreptomicina pode ser combinado com ampicilina ou com grandes doses de penicilina G. Uma única dose de estreptomicina (25 mg / kg) poderia remover o portador renal crônico causado pela *Leptospira Pomona* e outros antígenos; infecções crônicas pela *Leptospira Hardjo* tipo *Hardjo-prajitno* podem resistir ao tratamento. Oxitetraciclina injetáveis de longa duração, na dose de 20 mg / kg ou amoxicilina, na dose de

15 mg / kg (48 h de intervalo) pode substituir a estreptomicina no tratamento das infecções crônicas.

2.2.11 Importância Econômica

A leptospirose acarreta grandes prejuízos, pois além de ser uma zoonose, causa consideráveis perdas econômicas no rebanho bovino, devido a problemas reprodutivos e redução na produção de leite (BOLIN, 2003; GENOVEZ, 2009). Em criações de subsistências, que são dependes da produção animal para o sustento, perdem produtos e subprodutos para alimentação de seus familiares (FAINE et al., 1999). E por não ser uma doença de notificação compulsória, não há organização de campanhas sistematizadas no combate a esta enfermidade (ARAÚJO et al., 2005).

As perdas econômicas estão associadas aos custos diretos, como falhas no desempenho reprodutivo, que implica em infertilidade, aumento da frequência de abortamentos, podendo atingir até 30%, nascimento de natimortos, atraso no retorno à atividade ovariana pós-parto, aumento no período de intervalo entre partos, diminuição da produção de bezerros, nascimento de crias fracas, bem como, à queda da produção leiteira (FAINE et al., 1999; AZEVEDO, 2001; RADOSTITS et al., 2002).

Os custos indiretos estão relacionados às despesas com assistência veterinária, tanto com animais de produção, quanto animais domésticos, vacinas, exames laboratoriais, implementação de programas sanitários, controle de roedores em pastos e na obtenção de equipamentos de proteção individual (EPI's) para as pessoas que se encontram sujeitas aos riscos (FAINE et al., 1999; AZEVEDO, 2001).

3 OBJETIVOS

3.1. Geral

Realizar um estudo sobre a ocorrência de *Leptospira spp.* em rebanhos bovinos curraleiros (pé-duro) dos municípios de Amarante e Grajaú do Estado do Maranhão, Brasil.

3.2 Específicos

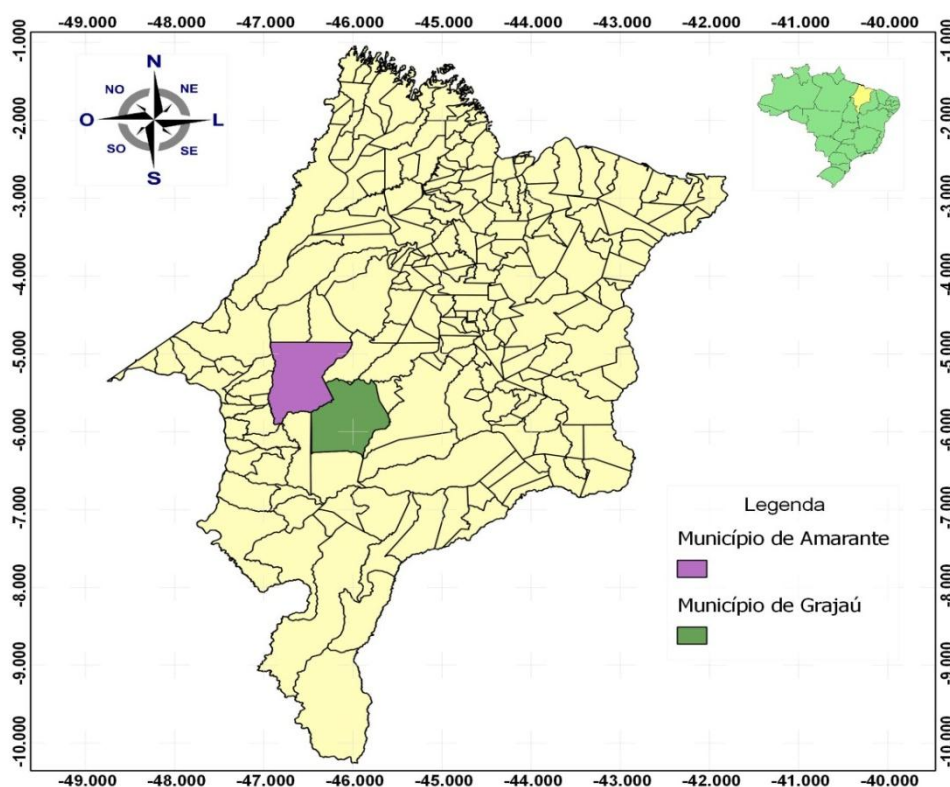
- Estimar a frequência da leptospirose em rebanhos bovinos curraleiros (pé-duro) dos municípios de Amarante e Grajaú do Estado do Maranhão, Brasil;
- Identificar os sorovares predominantes do complexo *Leptospira spp.* em rebanhos bovinos pé-duro do Estado do Maranhão, Brasil.

4 METODOLOGIA

4.1 Área de estudo

O Estado do Maranhão está localizado a 05° 05' 12" latitude Sul e 42° 48' 42" a oeste do Meridiano de Greenwich, com temperatura em torno de 26°C e precipitação pluviométrica de 197 mm (LABMET, 2014). Possui área territorial de 331.937,450 km². Está localizado a Noroeste da Região Nordeste e limita-se ao Norte com o Oceano Atlântico, Sul e Sudoeste com o Estado do Tocantins, Leste, Nordeste e Sudeste com o Estado do Piauí e ao Oeste e Noroeste com o Estado do Pará. O Estado contém 217 municípios e uma população estimada em 6.954.036 habitantes (IBGE, 2016).

O estudo foi realizado nos municípios de Amarante e Grajaú, no Estado do Maranhão, localizados na regional de Imperatriz e Barra do Corda, respectivamente, observado na figura 1.



Fonte: Elaborado pela autora

Figura 1 - Mapa do Estado do Maranhão, em destaque os municípios de Amarante e Grajaú, MA, Brasil, 2017.

Grajaú encontra-se ao noroeste de Amarante. Em 2008, conforme a Produção da Pecuária Municipal (PPM), esses municípios se classificam entre maiores rebanhos bovinos do maranhão. Esses municípios também possuem proximidades de reservas indígenas como os Povos Indígenas Araribóia, Bacurizinho, Cana-Brava, Governador, Krikatí, Morro Branco e Urucu-Juruá.

O município Amarante, Oeste Maranhense, possui uma área territorial de 7.438,192 km², com uma população estimada em 40.756 mil habitantes. Apresenta um efetivo rebanho bovino de aproximadamente 251.609 cabeças. O município Grajaú, Centro Maranhense, possui um área territorial 8.863,570 km², com uma população estimada em 68.458 mil habitantes. Possui um rebanho efetivo bovino de aproximadamente 160.822 cabeças (IBGE, 2015).

4.2 Seleção das propriedades e animais

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) trata com tanta preocupação a raça que considera o gado Pé-Duro/Curraleira um patrimônio genético de valor incomensurável que precisa ser resgatado e deve ser tratado como uma questão de segurança nacional. Com isso, o critério de seleção baseou-se nos municípios que possuem criação de gado da raça curraleira/pé-duro. Estes municípios, conjuntamente fazem parte de projetos à preservação da raça, rebanhos com no mínimo 10 animais, presença de fêmeas e machos na faixa etária de ≥ 24 meses.

Foi considerado um efetivo de 95 bovinos curraleiro, distribuídos em dois rebanhos de dois municípios distintos, resultando 42 animais no município de Amarante e 53 animais em Grajaú. A distribuição dos rebanhos e o número total de amostras, conforme as UR's e municípios encontram se distribuídos na (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição das Unidades Regionais com seus respectivos municípios, número de rebanhos e amostras, Maranhão, Brasil, 2017

Unidades Regionais	Municípios	Nº de Rebanhos	Nº de amostras
IMPERATRIZ	Amarante	1	42
BARRA DO CORDA	Grajaú	1	53

TOTAL	2	95
--------------	----------	-----------

Fonte: Elaborado pela autora

4.3 Coleta das amostras

As amostras de soro foram colhidas nos meses abril e julho de 2015. A cada coleta era registrado a identificação do animal, sexo, avaliação do escore corporal, nome da propriedade, data da coleta e sequência das amostras. A coleta foi realizada por meio de punção da veia jugular, após a limpeza e desinfecção da área com álcool-iodado, utilizando agulhas descartáveis (25x8mm) e tubos a vácuo de 10 mL (vacutainer), devidamente esterilizados e identificados. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente até ocorrer coagulação e retração do coágulo, sendo conduzidas posteriormente sob refrigeração até o Laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, onde foram centrifugadas a 1.000rpm, durante 15 minutos. As alíquotas de soro obtidas foram transferidas com pipeta Pasteur para tubos plásticos de polipropileno - Eppendorf®, com capacidade de 2,0 mL e mantidas sob temperatura de congelamento (-20°C) até o momento da realização do teste sorológico (SAM).

4.4 Obtenção de Informações

Durante as coletas eram questionado algumas informações visando obter uma noção do manejo de criação e sanitário. No manejo de criação era discutida sobre o tipo de criação, aquisição, quarentena, quantidade de machos e fêmeas, tipo de exploração, criação com outros animais e identificação dos animais. No manejo sanitário sobre a assistência veterinária, vacinação, controle de ecto e endoparasitas, taxa de aborto e mortalidade e doenças predominante no rebanho. E também sobre a fonte de água e alimentação, manejo reprodutivo e pasto oferecido.

4.5 Técnica Sorológica

Para detectar anticorpos contra *Leptospira interrogans*, todos os soros foram submetidos à prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), descrita por Galton et al. (1965) e Cole et al. (1973), recomendada pela WHO (1967) e OIE (2010). Foram utilizados

antígenos vivos compostos por 31 sorovares do complexo *Leptospira spp.*, provenientes do banco do Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), listados na tabela 2.

Tabela 2 - Coleção de antígenos do complexo *Leptospira spp.* de referência utilizados na prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), segundo sorovar, 2017

31 SOROVARES					
1a	<i>L.Australlis</i>	9	<i>L.Grippotyphosa</i>	18	<i>L.Taransovi</i>
1b	<i>L.Brastilava</i>	10	<i>L.Hebdomadis</i>	19	<i>L.Adamanda</i>
2a	<i>L.Autuminallis</i>	11a	<i>L.Compenahgue</i>	21	<i>L.Patoc</i>
2b	<i>L.Butembo</i>	11b	<i>L.Icterohemorragiae</i>	22	<i>L. Guaricura</i>
3	<i>L.Castellonis</i>	12	<i>L.Javanica</i>	23	<i>L. Nupezo</i>
4a	<i>L.Batavae</i>	13	<i>L.Panamá</i>	24	<i>L. H. Miniwazizak</i>
5	<i>L.Canícola</i>	14a	<i>L.Pomona</i>	25	<i>L. Hardjoprajitno</i>
6b	<i>L.Whitcombi</i>	15	<i>L.Pyrogenes</i>	26	<i>L. Cantagalo</i>
7	<i>L.Cynope</i>	16a	<i>L.Hadjo</i>	27	<i>L. H. Bovis</i>
8a	<i>L. Djasiman</i>	16b	<i>L.Wolff</i>		
8b	<i>L.Sentot</i>	17	<i>L.Shermani</i>		

Fonte: Elaborado pela autora

4.6 Preparação do antígeno

O antígeno foi preparado utilizando-se culturas vivas de 31 variantes sorológicas de *Leptospira spp.* mantidas em meios semissólidos de FLETCHER (1928) e meio líquido EMJH (DIFCO®-USA), suplementados com 10% de soro de coelho estéril, filtrado em membrana Millipore de 45 µm para retenção de resíduos que poderiam estar contidos no soro. A metodologia adotada foi modificada por Santos (2013), sendo os dois meios preparados, esterilizados e posteriormente transferidos para 31 tubos de ensaio e adicionados o meio de FLETCHER e aos outros 31 tubos foram adicionados o meio de EMJH (DIFCO®-USA).

Sequencialmente os tubos foram incubados em estufa bacteriológica à temperatura de 28° a 30°C durante 7 a 14 dias. Os inóculos foram repicados semanalmente em novos tubos contento os dois meios. Como parte do protocolo laboratorial, todas as culturas eram examinadas ao microscópico de campo escuro antes de iniciar a técnica, como o propósito de averiguar o grau de pureza, motilidade, possível auto aglutinação e contaminação.

4.7 Realização e interpretação da Técnica de SAM

Inicialmente cada amostra de soro foi diluída a 1:50 (0,1ml de soro testado + 0,4ml de solução tamponada de Sorensen com pH acertado para 7,2.) Desta diluição, foi retirada com auxílio de um pipetador automático 50µL e foram distribuídas em placas de porcelana escavadas (placa de toque), logo após foi adicionado 50µL de cada antígeno correspondente obedecendo a numeração das placas (soro testado x antígeno), obtendo-se uma diluição acertada de 1:100, marcou-se no cronômetro 4 minutos para aguardar a reação. Cada amostra sorológica foi testada frente à bateria antigênica de 31 sorovares do complexo *Leptospira spp.* A seguir, as diluições de 1:100 eram transferidas das placas para lâminas de fundo fosco, para visualização das reações de aglutinação no microscópico de campo escuro, com lente objetiva de 10 x 0,20 e ocular de 10 x 100.

Para interpretação da prova SAM foi considerado reação positiva a presença de aglutininas *anti-Leptospira spp.* nas amostras com aglutinação microscópica igual ou superior a 50% em relação ao controle positivo. Após a leitura o grau de aglutinação seguia o seguinte critério: 1 + (menos de 50% de *Leptospira* aglutinada), 2 + (cerca de 51% a 74% de aglutinações) e 3 + (75 a 100% de aglutinações). Foram então consideradas positivas as amostras examinadas com título igual ou superior a 1:100, com 50% de aglutinação ou desaparecimento das células do campo, em microscopia de campo escuro.

4.8 Análises dos dados

A prevalência estimada dos animais soropositivos em cada município foi calculada pela razão do número de animais soropositivos multiplicado por 100 e dividido pelo total de animais a serem testados.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas um total de 95 amostras de soro bovino da raça Curraleira Pé-duro provenientes dos municípios de Amarante (42) e Grajaú (53), Maranhão, Brasil. Destes, 95 (100%) foram reagentes ao teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) (Tabela 3).

Tabela 3 – Distribuição da frequência de anticorpos anti-*Leptospira spp.* por amostras de soro de animais bovinos da raça Curraleira Pé-duro dos municípios de Amarante e Grajaú, Maranhão, Brasil, 2017

Municípios	Nº de animais		
	Examinados	Reagentes*	Freq..(%)
Amarante	42	42	100,0%
Grajaú	53	53	100,0%
Total	95	95	100,0%

Fonte: Elaborado pela autora

A frequência citada no referido trabalho assemelha-se a de Favero et al. (2001) em 21 estados brasileiros, com pelo menos um animal positivo, foi de 84,1%, com valores variando entre 74% e 100%, incluindo rebanhos positivos em todos os estados analisado. Também, com Figueiredo et al. (2009) em 22 municípios de Mato Grosso do Sul, de 90,4%, por Homem et al. (2001) no município de Uruará, Pará, de 97%, Aguiar et al. (2006), no município de Monte Negro, Rondônia, de 95,3% e por Santos et al., (1988), no município de São Luís, Maranhão, de 94%.

Em relação à prevalência em rebanhos bovinos da raça Curraleira Pé-duro corroboram com os citados de Juliano *et al.* (2000) com 81,90% de soropositividade, com Marques (2008) que observou prevalência de 62,20% em 4571 animais em todo o estado de Goiás e com os achados por Campos Jr. *et al.* (2006) em rebanhos leiteiros na Microrregião de Goiânia-GO com 74,28 %.

Neste sentido, o fator racial parece não ter influenciado na resposta sorológica em relação à leptospirose, ao se comparar a raça Curraleiro com outras raças bovinas, resultado respaldado por Lilenbaum & Souza (2003), que citaram que o fator raça, em bovinos, não é considerado fator de risco, apesar deste ser citado para outras espécies animais como equinos (LANGONI et al., 2000) e caninos (PRESCOTT et al., 2002).

Entretanto, os resultados obtidos no referido estudo, discordam de Juliano *et al.* (2016) com uma frequência de sororeagentes de 46,81% para leptospirose em um total de 1002 amostras, no estado de Goiás com 39,52% e 54,23% no Tocantins. Também, diferente dos resultados descrito por Favero *et al.* (2001) para GO (46,50%), e TO (41,20%) e de Santin (2008) encontrou índices mais elevados (58,6%) com 58 amostras.

Por meio de informações fornecidas por proprietários ou funcionários dos criatórios foi possível constatar que todos os animais eram criados em regime extensivo, sendo que em todas as propriedades era utilizada monta natural, alimentação a pasto e não havia pasto maternidade. Em relação ao esquema de vacinação, todos os rebanhos eram vacinados contra aftosa, brucelose e raiva, exceto contra leptospirose. Nas propriedades foi relatada diversidade de fauna e flora nativas. Quanto à presença de mananciais e outros animais domésticos, em todas as fazendas havia água corrente e açudes, e criação concomitante de suínos, ovinos, caprinos, equinos, galinhas, cães e gatos. Apesar dos animais não possuírem contato direto. E a ocorrência de aborto e a taxa de mortalidade baixa. Todos os fatores de riscos descritos interferem para a alta frequência de soropositividade nos rebanhos do estudo.

Apesar de se tratar de animais de raça distinta, os animais dos municípios avaliados foram detectados bovinos sororeagentes, com positividade em 100% das propriedades de Curraleiros Pé duro, indicando comportamento enzoótico da infecção. Devido às condições ecológicas do Maranhão são altamente favoráveis à ocorrência da leptospirose bovina, uma vez que o agente sobrevive mais tempo em áreas alagadas, com temperaturas elevadas e solo com pH neutro ou ligeiramente alcalino com presença de matéria orgânica (CORRÊA,1992).

Dos 31 sorovares pesquisados, os mais frequentes foram: *Sentot* 64/95 (67,4), *Patoc* 61/95 (64,2), *Guaricura* 57/95 (60,0), *Gryppotyphosa* 56/95 (58,9%), *Anadamana* 52/95 (54,7), *Wolff* 50/95 (52,6), e *H-CTG* 48/95 (50,5) (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição de anticorpos detectados contra os sorovares de *Leptospira spp* submetidos à prova de SAM nos municípios de Amarante e Grajaú, Maranhão, Brasil, 2017.

Sorovar	Municípios								
	Amarante			Grajaú			Total		
	N	Reag*	%	N	Reag*	%	N	Reag*	%
<i>Australlis</i>	42	5	11,9	53	1	1,9	95	6	6,3
<i>Brastilava</i>	42	-	-	53	-	-	95	-	-
<i>Autuminallis</i>	42	-	-	53	-	-	95	-	-
<i>Butembo</i>	42	3	7,1	53	4	7,5	95	7	7,4
<i>Castellonis</i>	42	1	2,4	53	-	-	95	1	1,0
<i>Batavae</i>	42	-	-	53	2	4,8	95	2	2,1
<i>Canícola</i>	42	-	-	53	-	-	95	-	-
<i>Whitcombi</i>	42	3	7,1	53	1	20,7	95	14	14,7
<i>Cynope</i>	42	1	2,4	53	3	5,7	95	4	4,2
<i>Djasiman</i>	42	10	23,8	53	37	69,8	95	47	49,5
<i>Sentot</i>	42	19	45,2	53	45	84,9	95	64	67,4
<i>Grippotyphosa</i>	42	27	64,3	53	19	45,2	95	56	58,9
<i>Hebdomadis</i>	42	12	28,6	53	21	39,6	95	33	34,7
<i>Compenahgue</i>	42	5	11,9	53	5	9,4	95	10	10,5
<i>Icterohemorrhagiae</i>	42	4	9,5	53	7	13,2	95	11	11,6
<i>Javanica</i>	42	4	9,5	53	5	9,4	95	9	9,5
<i>Panamá</i>	42	2	4,8	53	2	4,8	95	4	4,2
<i>Pomona</i>	42	3	7,1	53	1	1,9	95	4	4,2
<i>Pyrogenes</i>	42	11	26,2	53	10	18,9	95	21	22,1
<i>Hadjo</i>	42	3	7,1	53	5	9,4	95	8	8,4
<i>Wolff</i>	42	24	57,1	53	16	30,2	95	50	52,6
<i>Shermani</i>	42	11	26,2	53	34	64,1	95	45	47,4
<i>Taransovi</i>	42	2	4,8	53	5	9,4	95	7	7,4
<i>Adamanda</i>	42	20	47,6	53	32	60,4	95	52	54,7
<i>Patoc</i>	42	26	61,2	53	35	66,0	95	61	64,2

<i>Guaricura</i>	42	26	61,2	53	31	58,5	95	57	60,0
<i>Nupez</i>	42	8	19,0	53	16	30,2	95	24	25,3
<i>H.Miniwazizak</i>	42	5	11,9	53	2	4,8	95	8	8,4
<i>Hardjoprajitno</i>	42	24	57,1	53	7	13,2	95	31	32,6
<i>Cantagalo (CTG)</i>	42	26	61,2	53	22	41,5	95	48	50,5
<i>H. Bovis</i>	42	4	9,5	53	1	1,9	95	5	5,3

*Titulação de anticorpos = 1:100; n= quantidade de animais

Fonte: Elaborado pela autora

A frequência de resposta sorológica por sorovar nos dois municípios estudados está apontada nas figuras 2 e 3. Em decorrência da frequência elevada de co-aglutinações por antígeno diferentes, foi necessário realizar uma análise separada. Foi possível verificar predominância de resposta ao sorovares *Patoc* e *Guaricura*, elevada ocorrência de co-aglutinações, além de resposta importante ao sorovar *Grippotyphosa* e *Sentot*.

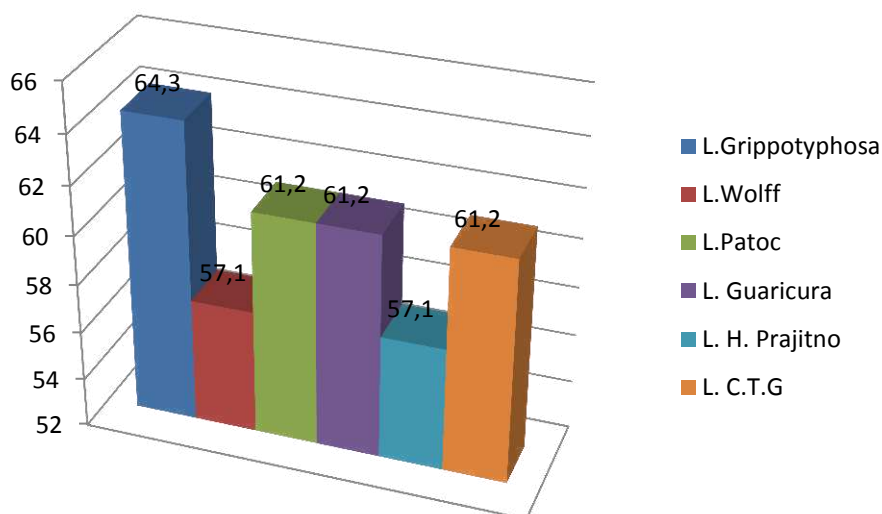


FIGURA 2 - Frequência de reações positivas pelos principais sorovares de *Leptospira* spp. em rebanho bovino Curraleiro reagentes no teste de SAM do município de Amarante, Maranhão, Brasil.

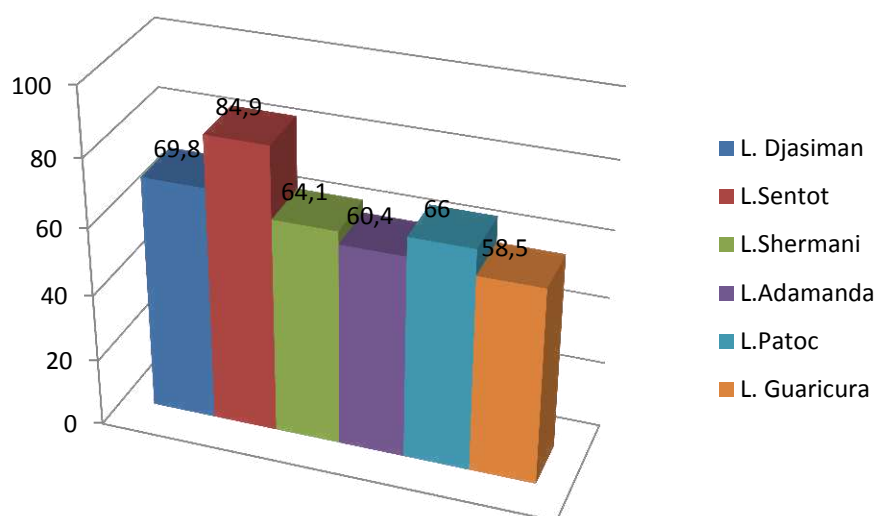


FIGURA 3 - Frequência de reações positivas pelos principais sorovares de *Leptospira* spp. em rebanho bovino Curraleiro reagentes no teste de SAM do município de Grajaú, Maranhão, Brasil.

A sorovariedade *Sentot* (67,4%) foi a mais encontrada reagentes a prova de SAM, seguida pelas *Patoc* (64,2), *Guaricura* (60,0), *Gryppotyphosa* (58,9%). As altas frequências obtidas neste estudo, em relação a esses sorovares, podem estar associadas à presença de roedores e animais silvestres no ambiente. Conforme Cubas et al. (2007), a constante presença dessas espécies em áreas rurais atuam como importantes reservatórios.

Além do sorovar *Sentot*, variantes sorológicas encontradas neste estudo como *Hebdomadis* (34,7%), *Tarassovi* (7,4%), *Pyrogenes* (22,1%), *Copenhageni* (10,5%), *Australis* (6,3%), *Castellonis* (1,0%), *Icterohaemorrhagiae* (11,6%), *Panamá* (4,2%), e *Andamana* (54,7%) remetem, também, a suspeita da existência de animais selvagens de vida livre nas propriedades. Estas sorovariedades encontradas são acidentais e suas descrições estão associadas à animais silvestres, que de acordo com Santa Rosa et al. (1975;1980).

No presente estudo, a alta prevalência observada para a sorovariedade *Sentot* e *Patoc*, corrobora com Oliveira (2013), onde relata que *Patoc* (95,3%) foi a mais encontrada, seguido pelo sorovar *Sentot* (76,6%) no Estado do Maranhão. A observação de maior prevalência para o sorovar *Sentot* difere da maioria dos inquéritos sorológicos realizados em bovinos no Brasil (FAVERO et al., 2001; LANGONI et al., 2001; MINEIRO et al., 2003; ARAÚJO et al., 2005; AGUIAR et al., 2006; MAGAJEVSKI et al., 2007), que observaram a maior ocorrência das sorovariedades *Hadjo* e *Wolff* em rebanhos bovinos, e no Estado do Maranhão trabalhos realizados por Silva et al. (2012), que relataram uma frequência de 12,

42% para o sorovar *Patoc*. Os bovinos Curraleiros apresentaram aglutininas *anti-leptospira* para o sorovar *Patoc* em 64,2% das amostras positivas, diferente dos achados de Romani (2012), com apenas 3%.

No estudo de Juliano (2006) variedades de *Leptospira* spp. para as quais os bovinos são hospedeiros acidentais também foram registradas em níveis importantes em Curraleiros, com 10,85% para *Grippotyphosa* e 12,81% para *Hebdomadis*. E Romani (2012) descreve em bovinos Curraleiros 8,0% das reações tiveram como sorovar mais provável *Grippotyphosa*.

Resultados diferentes do presente estudo para raça Curraleira Pé duro, foram encontrados por Favero et al. (2001) e Aguiar et al. (2006) determinaram que os sorovares, mais frequentes foram *Hardjo*, *Wolff* e *Pomona*, nos estados do Paraná e Minas Gerais. E nos estudo de Santin (2008) com *Hardjo* e *Wolff* frequentes, também observadas por Castro (2006).

De acordo com Ellis *et al.* (1994), os fatores ambientais e práticas de manejo são importantes na infecção de bovinos susceptíveis por sorovares nos quais o reservatório natural são outras espécies animais. Esta afirmativa parece ser aplicável aos rebanhos estudado, pois teriam sua ocorrência dependente de espécies da fauna local, principalmente oriundas de reservas indígenas possuindo contatos esporádicos dos bovinos com esses reservatórios.

Este resultado reveste-se de especial significado, pois, os bovinos são susceptíveis à infecção por vários sorovares de *Leptospira spp* patogênicas que existam no seu habitat, podendo esta infecção ocorrer direta ou indiretamente através de duas fontes: de outros bovinos portadores ou outros hospedeiros que habitem o mesmo ambiente (ELLIS et al., 1976).

De acordo com Marques et al. (2010), é correto afirmar que quando transmissão é de bovino a bovino, algumas medidas devem ser realizadas: evitar a introdução de novos animais no rebanho, ou apenas aquelas que constatarem negatividade ao sorodiagnóstico; tratar os animais sororeagentes e fortalecer a imunidade utilizando uma vacina que contenha as principais variedades presentes na região. E em casos de infecções incidentais, determinadas por sorovares que não são mantidos pelos bovinos, deve-se identificar de que forma o rebanho está sendo exposto ao contato com os reservatórios naturais, como ratos e animais silvestres. E após a identificação adotar medidas de higiene e da criação, controlando a leptospirose. O processo de controle deve ser monitorado por sorodiagnóstico anual.

6 CONCLUSÃO

Em rebanho de bovinos Curraleiros a frequência de animais sororeagentes para leptospirose é alta nos municípios de Amarante e Grajaú do Estado Maranhão. Indicando ampla disseminação da infecção nos Núcleos de Conservação da Raça.

Os sorovares *L. Sentot*, *L. Patoc*, *L. Guaricura* e *L. Gryppotyphosa* foram os mais encontrados na totalidade da população amostrada.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante desses resultados, se faz necessário implantar medidas sanitárias, com vistas na imunonoprofilaxia, entre outras estratégias de controle, para a detecção precoce e o fortalecimento na redução de focos da Leptospirose nestes criatórios.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3 ed. Washington, D.C.: Pan American Health Organization, 2003. v. 1, p. 28-45.
- ADLER, B.; FAINE, S. Host immunological mechanisms in the resistance of mice to leptospiral infections. **Infect. Immun.** 17: 67-72, 1977.
- ADLER, B.; FAINE, S. Susceptibility of mice treated with cyclophosphamide to lethal infection with *Leptospira interrogans* serovar Pomona. **Infect. Immun.** 14:703-708p., 1976.
- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. Leptospira and leptospirosis. **Vet. Microbiol.**, v. 140, n. 3, p. 287-296, 2010.
- AGUIAR, D. M. et al. Seroprevalence of *Leptospira* spp in cattle from Monte Negro municipality, western Amazon. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 26, n. 2, p. 102-104, 2006.
- ANZAI, T. et al. Evaluation of the Field application of PCR in the eradication of contagious equine metritis from Japan. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 64, p. 999-1002, 2002.
- ARAÚJO, V. E. M. et al. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 57, n. 4, p. 430-435, 2005.
- AVELAR, K. E. S.; PEREIRA, M. M. Espiroquetídeos. In: TRABULSI, L. R.; ALBERTUM, F. **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2005, p. 405-408.
- AZEVEDO, P. M. M. R.; AZEVEDO, A. R. Eficiência reprodutiva em bovino de leite. **Rev. Cient. Prod. Anim.**, v. 3, n. 2, p. 48-61, 2001.
- BAL, A.E.; GRAVEKAMP, C.; HARTSKEERL, R.A.; MEZA, B.J.; KURVER, H.; TERPSTRA, W.J. Detection of Leptospirosis in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, n.8, p.1894-1898, 1994.
- BARCELLOS, C.; LAMMERHIRT, C. B.; ALMEIDA, M. A. B.; SANTOS, E. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1283-1292, set./out., 2003.
- BEZERRA, D. C. et al. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em soros sanguíneos de asininos (*Equus asinus*) e de condutores de veículos de tração animal na cidade de São Luís, MA, Brasil. **Ciênc. Animal Bras.**, v. 11, n. 4, p. 931-937, 2010.
- BOAVENTURA, V. M.; FIORAVANTI, M. C. S. JULIANO, R. S. **Gado Curraleiro: relação dos criadores e aspectos gerais da raça**. Goiânia: Sebrae GO, 2005, 80p.
- BOLIN, C. A. Diagnosis and control of bovine leptospirosis. Proceedings of the Western Dairy Management. **Conference Reno**, p. 155-160, 2003.

BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars Vet. Med. Surgery** (Small animal), Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 166-171, 1996.

BOLIN, C. A.; ALT, D. P. Clinical signs, diagnosis and prevention of bovine leptospirosis. **Bovine Practitioner**, v. 33, p. 50-55, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. **Manual de leptospirose**. 2. ed. Brasília, DF, 1995.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6^a. ed. Brasília, 2005. 816p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: <http://ww2.prefeitura.sp.gov.br/arquivos/secretarias/saude/vigilancia_saude/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf>. Acesso em: 10 jan 2017

BRITTO.C.M.C.; MELLO, M.L.S. Morphological dimorphism in the Y chromosome of “pé-duro” cattle in the Brazilian state of Piauí. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.22, n.3, p.369-373, 1999.

CACCHIONE, R. A. Leptospiras y técnicas de laboratorio. Secretaria de Estado de Agricultura y Ganadería de La Nación. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. **Rev. Investigación Ganadera**, v. 14, n. 16, p. 105-124, 1962.

CAMPOS JR A.C.P., FRENEAU G.E., JULIANO R.S., ACYPRESTE, C.S., DIAS FILHO F., & MARTINS M.E. Prevalência de anticorpos anti-Leptospira em machos bovinos na microrregião de Goiânia. **Ciência Animal Brasileira** 7, 439-446. 2006.

CARVALHO J.H.; GIRÃO R. N. Conservação de recursos genéticos animais: a situação do bovino Pé-duro ou Curraleiro. In: **Simpósio de recursos genéticos para a América Latina e Caribe**. SIRGEAL, 2., BRASILIA. **Anais...** Brasília:

CARVALHO, J.H de. **Potencial econômico do bovino pé-duro**. Documentos 65. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002. 14f. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/65454>. Acesso em 20 jan. 2017.

CARVALHO, J.H. Pé-duro, patrimônio preservado no Piauí. **Dirigente Rural**. 24 (5): 26-28, 1985.

CASTRO, V. Estudo da soroprevalência da leptospirose em bovina em fêmeas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil. **Dissertação** do Programa de Pós Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada a Zoonoses) - Universidade de São Paulo. São Paulo, São Paulo, 2006.

CASTRO, V. Leptospirose em bovinos. Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal. **Inst. Biol.**, 2012. Disponível em: <<http://www.biologico.sp.gov.br>>. Acesso em: 24.jan.2017.

CINCO, M. Novos inquéritos sobre a patogenicidade de leptospira: evasão de defesas dos hospedeiros. **Nova Microbiologia**, v. 33, p. 283-292, 2010.

CHIARELI, D.; COSATE, M.R.V.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C.; LOBATO, F.C.F.; DA SILVA, J. A.; TEIXEIRA, J.F.B.; MARCELINO, A. P. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. [online]. Rio de Janeiro, vol.32, n.7, p. 633-639, 2012

COELHO, E. L. M. Diagnóstico de *Leptospira* spp utilizando as técnicas de soroaglutinação microscópica e imunohistoquímica. 2011. 60f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2011.

COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PULSSELY, P. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. **Appl. Microbiol.** v. 25, p. 976-980, 1973.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992.

COSTA, M. C. R. et al. Avaliação da imunidade cruzada entre *L. hardjo* e *L. wolffi*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 50, n. 1, p. 11-17, 1998.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Roca, 2007, p. 736-741.

CURSI, V. C. L. M. Atividade sanitária em rebanhos leiteiros de agricultura familiar da Região Noroeste do Estado de São Paulo. **Pesq. Tecnol.**, v. 7, n. 18, 2010. Disponível em: <www.aptaregional.sp.gov.br>. Acesso em: 24. jan. 2017.

DHALIWAL, G. S. et al. Reduced conception rate in dairy cattle associated with serological evidence of *L. interrogans* sorovar *hardjo* infection. **Vet. Rec.**, v. 139, p. 110-114, 1996.

EGITO, A. A.; MARIANTE, A. S.; ALBUQUERQUE, M. S. M. Programa Brasileiro de Conservação de Recursos Genéticos Animais. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 51, p. 39-52, 2002.

ELLIS, W. A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v. 10, p. 463-478, 1994.

ELLIS, W. A., Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine**, London, v. 2, p. 411-422, 1984.

ELLIS, W.A., MICHNA, S.W. Bovine leptospirosis: A serological and clinical study. **Veterinary Record**, n. 99, p. 387-391, 1976.

EMBRAPA, MEIO NORTE. **Pé Duro: O boi do Piauí**. Teresina – PI. 2006.

EMBRAPA. **Recursos Genéticos e biotecnologia**, 1999. CD-Rom.

FAINE, S. et al. **Leptospira and Leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: MedSci, 2000.

FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization, 1982. (Who off set Publication, 67).

FAINE, S. **Leptospira and Leptospirosis**. Boca Raton: CRC Press, 1994.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C. A.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MedSci, 1999. 272p.

FAVERO, M. et al. Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 Estados do Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.

FIGUEIREDO, A. O. et al. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 29, n. 5, p. 375-381, 2009.

FIORAVANTI, M. C. S., JULIANO, R. S.; COSTA, G. L.; ABUD, L. J.; CARDOSO, W. S.; CARPIO, M. G.; COSTA, M. F. O. Conservación del bovino Curraleiro: cuantificación del censo y caracterización de los criadores. **Animal Genetic Resources**, Roma, v. 48, p. 109–116, 2011.

FLETCHER, W. Recent work ou leptospirosis, tsugmushi disease and tropical typhus in the Federated Malay States. Trav. Roy Soc. Med. Hug., 21^a.m, 267 – 87, 1928. In: **Manual sobre métodos de la laboratorios para leptospirose**. Centro Panamericano de Zoonosis (Nota Técnica, 9, 1928).

FRAGA, T. R. Estudo de potenciais antígenos vacinais de *Leptospira interrogans* sorovar Copenhageni. 2009. 149f. **Dissertação** (Mestrado em Biotecnologia). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

GALTON, M. M. et al. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Appl. Microbiol.**, v. 13, p. 81-85, 1965.

GARCIA, M.; DELLA LIBERA, M. M.; BARROS FILHO, I. R. **Guia on line de Clínica Buiátrica 2012**. Disponível em: <<http://www.mgar.com.br/clinicabuiatrica>>. Acesso em: 24 de jan de 2017.

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

GOMES, J. P. **Gênero *Leptospira* spp. 2014**. Disponível em: <www.ufrgs.br/labacvet/files/Gênero%20Leptospira%204-2014-2_0.pdf>. Acesso em: 10 jan 2017.

GOMES, J. P. **Gênero *Leptospira* spp.** Favet/UFRGS. 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAneros%20Leptospira%204-2013-1.pdf>>. Acesso em: 14.jan.2017.

GÓMEZ, R. G. **Enciclopédia Bovina**. Facultad de Medicina Veterinária y Zootecnia - UNAM. 1^a ed., 420p., 2008.

HAMOND, C. Avaliação do impacto da *Leptospira* no desempenho atlético de equinos. **Dissertação** (Mestrado Ciência Animal). Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2010.

HASHIMOTO, V. Y. et al. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp em rebanhos bovinos da Região Centro-Sul do Estado do Paraná. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 32, n. 2, p. 99-105, fev., 2012.

HOMEM, V. S. F. et al. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia Oriental Brasileira. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 2, p. 173-180, mar./abr., 2001.

IBGE. Indicadores IBGE. **Estatística da produção pecuária 2015**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=ma&tema=pecuaria2015>> Acesso em: 10.jan. 2017.

IBGE. Indicadores IBGE. **Indicadores populacionais dos estados brasileiros 2016**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ma>>. Acesso em: 16.jan.2017.

JONES, T. C.; HUNT, H. D.; KING N. W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. Barueri: Manole, 2000.

JULIANO R.S.*, FIORAVANTI M.C.S., JAYME V.S., DA SILVA L.A.F., SERENO J.R.B.3, COSTA G.L., ABUD L.J., MAGGIOLI M.F. 2017. Ocorrência de anticorpos anti-*brucella abortus* e anti-*leptospira interrogans* em bovinos da raça curraleiro pé duro. **Actas Iberoamericanas en Conservación Animal**. AICA 7, 16-23. 2017.

JULIANO, R. S. **Aspectos sanitários e do sistema de fagócitos de bovinos da raça curraleiro**. 2006, 125 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiás.

JULIANO, R. S. Estudo da prevalência e aspectos epizootiológicos da leptospirose bovina, no bebanho de fêmeas mestiças produtoras de leite na microregião de Goiânia – GO. 1999. 60 f. **Dissertação** (Mestrado em Sanidade Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

JULIANO, R. S.; CHAVES, N. S. T.; SANTOS, C. A., RAMOS L.S., SANTOS H.Q., MEIRELES L.R., GOTTSCHALK S, & CORREA FILHO, R.A. 2000. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microrregião de Goiânia-GO. **Ciência Rural** 30, 5, 857-862.

JULIANO, R.S. 2006. Aspectos sanitários e do sistema de fagócitos de bovinos da raça Curraleiro. 125f. **Tese** (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás.

JÚNIOR, F. A. M. V. Infecção pelo vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAE), *Leptospira* spp., e georreferenciamento de focos e perfil zootécnico de rebanhos caprinos nas Regionais

de Chapadinha e Itapecuru-Mirim – MA, Brasil, 2015. 168f. **Dissertação** (Mestrado) – Curso de Ciência Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2015.

KARASEVA, E. V. Ecological features of mammal-carriers of leptospires (*L. grippotyphosa*) and their role in natural foci leptospirosis. **Fauna and Ecology of the Rodents**, v.10, p.30-144, 1971.

KLARENBEEK, A., AND W.SCHÜFFNER. 1933. **Het voorkomen van een afwijkend Leptospira-ras in Nederland. Nederlandsche Tijdschrift voor Geneeskunde**, v. 77: Quoted by van Thiel (1948).

KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998a, 157 p.

LABMET. **Informações climáticas**. Disponível em: <<http://www.nemrh.uema.br>>. Acesso em: 23 fev.2014.

LANGONI, H. et al. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 67, n. 1, p. 37-41, 2000.

LANGONI, H.; SOUZA, L. C.; DA SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P.; SILVA, R. C. Epidemiological aspects in leptospirosis. Research of anti-*Leptospira* spp antibodies, isolation and biomolecular research in bovines, rodents and workers in rural properties from Botucatu, SP, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 190-199, 2008.

LEITE, R. M. H.; LEITE, R. C.; BANDEIRA, D. A.; LAGE, A. P. Surto de leptospirose em rebanhos bovinos do Estado da Paraíba. **Ciênc. Vet. Trop.**, v. 3, p. 144-149, 2000.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 1, p. 296-326, 2001.

LILENBAUM, W. Atualização em leptospiroses bovinas. **Rev. Bras. Med. Vet.** v. 18, n. 1, p. 913, 1996.

LEMONS, R. A. A.; NAKAZATO, L.; SALVADOR, S. C. Diagnóstico anatomopatológico da tristeza parasitária bovina. In: KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M. (Ed.). **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998. p. 109-119.

LILENBAUM, W.; SOUZA, G. N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Research Veterinary Science**. Oxford, v. 75, p. 249-251, 2003.

MAGAJEVSKI, F. S.; GÍRIO, R. J. S.; MEIRELLES, R. B. Pesquisa de *Leptospira* em fetos de vacas abatidas no estado de São Paulo, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 74, n. 2, p. 67-72, abr./jun., 2007.

MAGGIOLI, M.F.; R.S. JULIANO; F.G. LIMA; S.N. SOUZA; A.R.B. SILVA; G.L. COSTA; L.J. ABUD; V.S. JAYME; M.C.S. FIORAVANTI. 2007. Soroprevalência de

leptospirose em rebanho da raça Curraleiro. In: **Anais do VII Congresso Brasileiro de Buiatria**, Curitiba, CD.

MARIANTE, A.S.; CAVALCANTE, N. **Animais do descobrimento – raças domésticas da história do Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2000, 232p.

MARIANTE, A.S.; EGITO, A.A. Animal genetic resources in Brazil: result of five centuries of natural selection. **Theriogenology**, Stoneham, v. 57, p.223-35, 2002.

MARINHO, M.; LANGONI, H.; OLIVEIRA, S. L.; CARREIRA, R.; PERRI, S. H. V.; LUZIVOTO, M. C. Humoral immune response, bacterial recovery and time lesion in mice genetically Bolb/c mice face to *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae. **Pesq. Vet. Bras.**, 23(1):5-12, 2003.

MARQUES, A. E. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e aspectos epidemiológicos da infecção em bovinos do estado de Goiás. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 72f. 2008.

MARQUES, A. E.; ROCHA, W. V.; BRITO, W. M. E. D.; FIORAVANTI, M. C. S.; PARREIRA, I. M. e JAYME, V. S. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e aspectos epidemiológicos da infecção em bovinos do Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 607-617, jul/set. 2010.

MARTINS, G.; PNNA, B.; LILENBAUM, W. Differences between seroreactivity to leptospirosis in dairy and beef cattle from the same herd in Rio de Janeiro, Brazil. **Tropical Animal Health Production**, 2012.

McDOWELL, A. "Do icterus epidemicus". **Arq. Bras. Med.**, v. 7, p. 635-645, 1917.

MINEIRO, A. L. B. B. **Agglutininas anti-*Leptospira* em bovinos leiteiros da microrregião de Parnaíba, Piauí**: associação com histórico de transtorno reprodutivo e condições climáticas. 2003. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2003.

MOREIRA E.C. 1994. Avaliação de métodos para erradicação de leptospiroses em bovinos leiteiros. **Tese** de Doutorado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 93p.

MOREIRA, E. C. Avaliação de métodos para erradicação de leptospirose em bovinos, 94f. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

OIE, WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. OIE Listed Diseases and Other Diseases of Importance to International Trade. In: **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals** 2009, v.1, cap. 2. Disponível em: <<http://www.oie.int>> Acesso em: 14 fev 17.

OIE. **Leptospirosis**. 2010. Chapter 2.2.4. Disponível em: <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00043.htm>. Acesso em: 21 fev. 2017.

OIE. **Terrestrial Manual** 2014 1. This disease is no longer listed by the OIE. Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2014. Leptospirosis, C H A P T E R 2.1.9. Disponível em : <http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00043.htm>. Acesso em: 21. jan.2017.

OLIVEIRA, F. C. S.; AZEVEDO, S. S.; PINHEIRO, S. R.; BATISTA, S. A.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G. O.; GONÇALES, A. P.; VASCONCELLOS, S. A. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.30, n. 5, p. 398-402, mai. 2010.

OLIVEIRA, R. M. et al. Seroepidemiology of bovine leptospirosis and brucellosis in family farm rural properties in the State of Paraíba, northeastern Brazil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 80, n. 3, p. 303-311, 2013.

PHILIP, S. S. Spirochetal Infections. En: McPhee SJ, Papadakis MA editors. **Current Medical Diagnosis & Treatment**. USA: Mc Graw Hill; p. 1414-1415, 2011.

PINHEIRO, R. R.; PINHEIRO, A. A.; GOUVEIA, A. M. G. **Métodos de diagnósticos das lentivirose de pequenos ruminantes**. Sobral: Embrapa, 2001.

PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. FEALQ, v. 2, cap. 51, p. 971-975, 2010.

PRESCOTT J.F., MCEWEN B., TAYLOR J., WOODS J.P., ABRAMS-OGG A. & WILCOCK B. 2002. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: **Recent findings**. Can.Vet. J. 43:955-961.

PRIMO, A T. El ganado bovino ibérico em las américas 500 años despues. **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v. 41, n. 154, p. 421-432, 1992.

RADOSTITS OM, GAY CC, BLOOD DC, HINCHCLIFF KW. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, suínos, caprinos e equinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1737, 2002.

RANGEL, P.N. ZUCCHI, M.I.; FERREIRA, M.E. Similaridades genéticas entre raças bovinas brasileiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n. 1, p.97-100, 2004.

REZENDE, M. B. et al. Leptospirose. Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico. Ed. Cejup. Universidade do Estado do Pará. **Instituto Evandro Chagas**, 1997.

RIET-CORREA, F.; LEMOS, R. A. A. Leptospirose. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2 ed., São Paulo: Varela, v. 1, 2001.

ROMANI, A. F. Investigação soroepidemiológica e molecular de brucelose e leptospirose em núcleos de conservação de gado Curraleiro Pé Duro e Pantaneiro. 2012. 92f. **Tese** - Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

SALLES, R.S., LILENBAUM, W. (2000) Leptospirose bovina no Brasil. **Rev. CFMV Suplemento Técnico**, Brasília/DF n. 21 p. 42-46.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial das Leptospiras. **Rev. Microbiol.**, v. 1, p. 97, 1970.

SANTA ROSA, C. A. et al. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of serovars canicola, pyrogenes and grippotyphosa. **Intern. J. Zoonosis**. Taipei, v. 7, p. 40-43, 1980.

SANTA ROSA, C. A. et. al. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of a new serotype in pyrogenes group. **Am. J. Veter. Research**, Chicago, v. 36, p. 1363-1365, 1975.

SANTIN, A. P. I. Perfil sanitário de bovinos da raça curraleiro frente a enfermidades de importância econômica. 78f. **Tese** (Doutorado em Ciência Animal). Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2008.

SANTOS, H. P. Alguns aspectos do sistema de produção e da sanidade dos bovinos de leite da Ilha de São Luís, MA. 1988. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1988.

SANTOS, J. P. et al. Aglutininas anti-Leptospíricas em gatos do município de Uberaba-MG. **Ciê. Anim. Bras.**, Goiânia, n. 1, p. 41-43, 2008.

SARMENTO, A. M. C. et al. Emprego de estirpes *Leptospira* spp isoladas no Brasil na microtécnica de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico de leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 32, n. 7, p. 601-606, 2012.

SEHGAL, S.C. Epidemiological patterns of leptospirosis. **Indian J. Med. Microbiol.**, New Delhi, v. 24, n. 4, p. 70-75, 2006.

SEMSKOV, M. V. To the materials on etiology of infectious yellow fever of cattle. **Sovetskaya Veterinaria**, v. 6, p. 22-23, 1940.

SERRANO, G.M.S. 2001. Uso de marcadores moleculares RAPD na caracterização genética das raças bovinas nativas brasileiras. 88f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Distrito Federal.

SILVA, F. S. et al. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 32, n. 4, p. 303-312, 2012.

SMITH, D.J.W., SELF, H. R. M. Observations on the survival of *Leptospira australis* A in soil and water. **J Hyg.** v. 53, p. 436-444. 1955.

SOTO, F. R. M. et al. Leptospirose Suína. **Arq. Inst. Biol.**, v. 74, n. 4, p. 379-395, 2007.

SOUZA JÚNIOR, M.F.; LOBATO, Z. I. P.; LOBATO, F. C. F. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do Estado do Tocantins. **Rev. Sociol. Brasil. Med. Tropical**, v.39, p. 292-294, 2006.

SOUZA, M. A. et al. Padronização e validação de Elisa indireto para o diagnóstico da leptospirose bovina. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 28, n. 6, p. 993-999, nov./dec. 2012.

SPEELMAN, P.; HARTSKEERL, R. Leptospirosis. In: FAUCI, A. S. et al. **Harrison's principles of internal medicine**. USA: Mc Graw Hill, 2008. p. 1048-1051.

TOMICH, R. G. P.; BOMFIM, M. R. Q.; KOURY, M. C.; PELLEGRIN, A. O.; PELLEGRIN, L. A.; KO, A. I.; BARBOSA-STANCIOLI, E. F. Leptospirosis serosurvey in bovines from Brazilian Pantanal using Igg Elisa with recombinant protein LipL32 and microscopic agglutination test. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, n. 38, p. 674-680, 2007.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas tóxicas do Brasil**. Rio de Janeiro: Helianthus, 2000. 320 p.

VASCONCELLOS, S. A. et al. Isolation of *Leptospira Santarosai* serovar Guricura from Buffloes (*Bubalus bubalis*) in Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. **Braz. J. Microbio.**, v. 32, p. 298-300, 2001.

VASCONCELLOS, S. A. Laboratory diagnosis of leptospirosis in animals. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE LEPTOSPIRA Y LEPTOSPIROSIS EM LAS AMÉRICAS. MÉXICO. 2004, México. **Anais...** México: Divisões education continua de La Universidade Nacional Autônoma do México, v.1, p. 70-76. 2004.

VASCONCELLOS, S. A. O papel dos reservatórios na manutenção da leptospirose na natureza. **Comunicado Científico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Universidade de São Paulo, v.11, n. 1, p. 17-24, 1987.

VASCONCELLOS, S. A. Prova de soro-aglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose: elementos fundamentais para a interpretação dos resultados. **Circular Técnico - FMVZ-USP**, São Paulo, 1997.

VELLOSO, L. Evolução e tendências da pecuária bovina de corte no Brasil, Produção de novilho de corte In: **SIMPOSIO SOBRE PECUÁRIA DE CORTE**, 1996, Piracicaba, Anais..., Piracicaba, FEALQ, 1996. p. 1-40.

WALCH-SORGDRAGER, B. Leptospirosis. **League of Nations: Bulletin of the Health Organization**, v. 8, p. 143-386, 1939.

WANG, B.; SULLIVAN, J. A.; SULIVVAN, G. W. Role of specific antibody in interaction of leptospirosis with human monocytes and monocyte-derived macrophages. **Infect. Immun.**, 46:809-813, 1984.

WHO. **Human leptospirosis**: Guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003.

YANAGAWA, R.; KAWASHIMA, H.; HIROTA, E. Studies on the bovine leptospirosis in Japan. I. **Epizootiological investigations**. Expl. Rep. Govt. Exp. Stn. Anim. Hyg., v. 29, p. 261-275, 1955.

YANAGUITA, R. M. Contribuição ao estudo das leptospiroses bovina. Isolamento de dois novos sorotipos no sorogrupo Hebdomadis: sorotipos *Guaicurus e Goiano*, 1972. 71f. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 1972.