

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBELÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

MARIANE OLIVEIRA MOURA

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *LEPTOSPIRA* spp. EM REBANHOS DE
BOVINOS DE CORTE NO MUNICÍPIO DE MINEIROS – GO

Uberlândia - MG

2017

MARIANE OLIVEIRA MOURA

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI - *LEPTOSPIRA* spp. EM REBANHOS
BOVINOS DE CORTE NO MUNICÍPIO DE MINEIROS - GO

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito parcial à
obtenção do grau de Medica Veterinária.

Orientador (a): Anna Monteiro Correia Lima

Coorientador (a): Ana Beatriz Garcez Buiatte

Uberlândia - MG

2017

MARIANE OLIVEIRA MOURA

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *LEPTOSPIRA* spp. EM REBANHOS DE BOVINOS DE CORTE NO MUNICÍPIO DE MINEIROS - GO

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial à obtenção de grau de Médico Veterinário, no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Uberlândia,

Banca examinadora:

Anna Monteiro Correia Lima
(Orientadora - UFU)

Alessandra Aparecida Medeiros Ronchi
(Examinadora - UFU)

Müller Carrara
(Examinador - UFU)

Rafael Quirino Moreira
(Examinador - UFU)

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo conhecer a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em bovinos destinados ao corte no município de Mineiros, Goiás, correlacionando os resultados encontrados com os dados obtidos por meio de questionário aplicado junto aos produtores. Foram coletadas 130 amostras de soro sanguíneo de bovinos, de idades diferentes e de ambos os sexos, de três propriedades rurais distintas, e em seguida foi realizado um inquérito epidemiológico da região. Foi realizado o teste de soroprecipitação microscópica em campo escuro (SAM), utilizando-se de 22 sorovares diferentes de *Leptospira interrogans*, no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia. A prevalência de animais positivos reagentes foi de 86,15%, tendo os sorovares Hardjiprajitino (8,03%), Tarassovi (7,14%) e Wolffi (6,25%) como os mais frequentes, a maioria dos casos de soropositividades foi de coagulações que representou 67,85% das positivities. Todas as propriedades apresentaram mais de 50% dos animais testado positivos para leptospirose, e aspectos como a presença de outras espécies animais e falta de vacinação foi determinante para esta alta prevalência. Este resultado mostra que esta infecção ainda é bastante presente nos rebanhos bovinos no município de Mineiros, necessitando assim maiores pesquisas e métodos de prevenção.

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

ABSTRACT

The present study aimed to know the seroprevalence of anti-*Leptospira* spp. in cattle for slaughter in the municipality of Mineiros, Goiás, correlating the results found with the data obtained through a questionnaire applied to the producers. A total of 130 blood serum samples were collected from cattle of different ages and of both sexes from three different rural properties, followed by an epidemiological survey of the region. The microscopic seroagglutination test in the dark field (SAM) was performed using 22 different serovars of *Leptospira interrogans*, in the Laboratory of Infectious Diseases of the Federal University of Uberlândia. The prevalence of reactive positive animals was 86.15%, and the serovars Hardjioprajitino (8.03%), Tarassovi (7.14%) and Wolffi (6.25%) were the most frequent, most cases of seropositivity was of coagglutinations that represented 67.85% of the positivities. All properties showed more than 50% of the animals tested positive for leptospirosis, and aspects such as the presence of other animal species and lack of vaccination were determinant for this high prevalence. This result shows that this infection is still very present in bovine herds in the municipality of Mineiros, thus requiring more research and prevention methods.

Keyword: *Leptospira*. Reproductive problems. SAM test.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Soroprevalência de anticorpos anti-*Lepstospira* ssp. no teste de soroaglutinação de 112 bovinos de corte no município de Mineiros, Goiás, 2017.....21

Tabela 2 - Número de bovinos com coaglutinação no teste de SAM para o diagnóstico de leptospirose em bovinos de corte, no município de Mineiros, Goiás, 2017.....22

Tabelas 3 - Distribuição espacial dos resultados obtidos pelo teste de SAM para o diagnóstico de leptospirose em bovinos de corte, no município de Mineiros, Goiás, 2017.24

Sumário

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 Objetivo	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Características do agente	10
2.2 Vias de Transmissão e Infecção.....	11
2.4 Fatores de Risco	12
2.5 Sinais Clínicos em bovinos	13
2.6 Diagnóstico	15
2.8 Leptospirose em bovinos no estado de Goiás	16
3 MATERIAIS E METODOS	18
3.1 Localização do município.....	18
3.2 População estudada	18
3.3 Procedimento para colheita e análise das amostras	19
3.4 Obtenção de dados referentes aos fatores de risco	20
3.5 Análise estatística.....	20
4 RESULTADOS	21
5 DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÃO.....	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose foi considerada uma doença essencialmente ligada a algumas atividades profissionais realizadas pelo o homem como mineração, manuseio de esgoto, criação de gado e abatedouros, fazendo com que pessoas que realizassem essas atividades tomassem medidas de proteção (BHARTI et al., 2003).

Esta patologia é reconhecida como uma doença infecciosa emergente, responsável por grandes surtos na Nicarágua, Brasil, Índia, Sudeste da Ásia e Estados Unidos, principalmente após grandes períodos chuvosos em que se têm inundações e alagamento. Entretanto os episódios de surtos de leptospirose que surgiram após estes períodos de grande pluviosidade não são um evento atual e não estão restritos apenas nas regiões tropicais (LEVETT, 2001).

É uma zoonose de ordem primária, de curso agudo, com ampla disseminação no cenário mundial, que causam graves problemas resultando na diminuição da lucratividade nas criações de gado. Mesmo tendo distribuição cosmopolita, sua ocorrência é mais favorecida em regiões de clima tropical e subtropical, que apresentam temperaturas elevadas e altos índices pluviométricos (BRASIL, 2004; MARQUES, 2008; MARQUES et al., 2010).

Esta doença é popular em animais de companhia, produção e animais silvestres, que podem abrigar a bactéria nos rins, e quando a eliminam pela urina contaminam o ambiente, que irá atuar como fonte de infecção para outros animais, inclusive para o homem (FAINE et al., 1999).

Em bovinos, a leptospirose pode causar grandes perdas econômicas que estão ligadas direta ou indiretamente com problemas relacionados a abortos, queda na produção leiteira, falhas na reprodução, aumento dos custos com assistências de médicos veterinários, medicamentos, vacinas e exames laboratoriais (FAINE et al., 1999).

O Brasil retém o segundo maior rebanho bovino mundial, tendo aproximadamente 215 milhões de animais. O estado de Goiás ocupa a terceira posição no país, tendo cerca de 21.877.720 milhões de animais (IBGE, 2016), sendo que neste rebanho boa parte é destinada para o corte. Apesar do tamanho do rebanho, este convive com entraves que fazem com que sua produtividade possua valores médios de produtos e produtividade, acompanhando a tendência do país (MARQUES, 2008; MARQUES et al., 2010).

Dentre estes problemas que se instalaram por diversos motivos, se viu a necessidade de que ocorressem mudanças que aumentassem a produtividade e desempenho. Para que isto acontecesse às formas de exploração foram modificadas e com isso se teve uma maior movimentação de animais, um aumento de introdução de novos animais nos rebanhos, a

utilização de novas práticas de reprodução como a inseminação artificial, o aumento dos confinamentos para a engorda precoce, entre outras medidas que foram essenciais para o aumento da produtividade. No entanto, essas mesmas práticas, sem o devido cuidado com a sanidade destes animais serviram como fontes favoráveis à introdução, manutenção e disseminação de doenças transmissíveis como a leptospirose (MARQUES, 2008; MARQUES et al., 2010).

Goiás pertence ao grupo de estados brasileiros que é livre de febre aftosa, tendo em vista um mercado consumidor cada vez mais exigente em relação à qualidade dos produtos que tem como origem animais de produção, a grande relevância que a saúde dos animais de produção tem em relação à saúde pública, juntando a grande relevância que a pecuária bovina tem para a economia do país, faz-se necessário um maior estudo nesta área (CAMPOS JR et al., 2006).

A leptospirose já foi detectada em várias regiões do estado de Goiás, inclusive o município de Mineiros já esteve presente na pesquisa de Favero et al. (2001) e Marques (2008), entretanto ainda não existem estudos específicos em bovinos de corte e muitos produtores desconhecem a gravidade desta infecção e os prejuízos que pode causar em seus rebanhos. Devido à falta de estudos em bovinos de corte e na região em foco, se fez necessário a pesquisa para conhecer melhor a ocorrência, a prevalência e os modos prevenção desta infecção visto que é de suma importância para o aumento da produtividade dos rebanhos e para garantir o bem-estar dos animais.

1.1 Objetivo

Este trabalho teve como objetivo conhecer a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em rebanho de bovinos destinados ao corte no município de Mineiros - GO, e os sorovares mais prevalentes.

Ainda foram relacionados os resultados com o histórico reprodutivo dos rebanhos, produtividade, sistema de produção, ambiente em que esses animais viviam, sendo assim possível elaborar sugestões para o controle de leptospirose bovina para o município em questão.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características do agente

A leptospirose é uma doença bacteriana, da classe *Eubacteriales*, da ordem *Spirochaetales*, da família *Leptospiraceae* que pode ser classificada em duas formas: uma baseada na genética e outra baseada nos determinantes antigênicos. Nestas duas classificações podem ser encontradas tanto espécies patogênicas que são responsáveis por provocar a infecção tanto em animais domésticos quanto no homem, este grupo composto de 8 espécies diferentes e nele então presente a *Leptospira interrogans* “*sanso stricto*”, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. inadai*, *L. noguchii*, *L. weilli*, *L. kirshneru* e *L. faineii*, quanto espécies de vida livre, que são consideradas saprófitas e não causando doenças, neste grupo estão presentes 5 espécies sendo elas a *Leptospira biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *Turneria parva* e *Leptonema illini* (LEVETT, 2001; PAIM, 2016).

São espiroquetas de 0,1 µm de diâmetro e de 6 a 20 µm de comprimento, são bactérias móveis, finas, helicoidais, podendo apresentar ganchos em suas extremidades e com dois filamentos axiais ou endoflagelos fazendo com que elas tenham um movimento rotacional, progressivo e circular (BHARTI et al., 2003). São aeróbias obrigatórias e que possuem um bom crescimento nas temperaturas entre 28 a 30 °C, com pH entre 7,2 a 7,6 (LEVETT, 2001; BHARTI et al., 2003) e tem multiplicação e crescimento de forma lenta sendo a sua divisão celular em torno de 7 a 12 horas (HAACKE, 2000).

São produtores de catalase e oxidase, precisam de B2 e B12, fósforo, cálcio, magnésio, amônia e ferro como fatores de crescimento e tem como fonte de energia os ácidos graxos de cadeia longa (LEVETT, 2001; BHARTI et al., 2003). Sensíveis à luz solar direta, desinfetantes comuns e aos antissépticos. A sua sobrevivência no ambiente, como na água, vai depender da sua temperatura, pH, salinidade e a quantidade de produtos poluidores presentes, podendo sobreviver por até 180 dias. Em situações como o frio ou o congelamento pode sobreviver até 100 dias em temperatura de -20° C. Em contato com os ácidos, como HCl a 1:2000, perde sua motilidade em 15 minutos (LANGONI, 1999).

Em microscopia eletrônica a *Leptospira* spp. possui um corpo de células cilíndricas (cilindro protoplasmático), enroladas helicoidalmente em torno de um eixo axial, com dois filamentos inseridos nas partes terminais da estrutura do corpo da célula e com suas extremidades livres encaminhadas para o meio da célula. Ainda se tem uma bainha externa que envolve o cilíndrico protoplasmático que também é limitada por uma membrana citoplasmática. Os filamentos axiais têm a função de citoesqueleto permitindo a movimentação da bactéria, ele

está ligada a superfície interior da membrana e periodicamente retrai provocando a rotação da espiral e assim realizando o movimento (BHARTI et al., 2003).

Apresenta um genoma consistente em dois cromossomas circulares, possui um tamanho grande em comparação aos genomas de outras espiroquetas como a *Treponema* spp e *Borrelia* spp o que explica a diversidade de sobrevivência da *Leptospira* spp, que pode viver tanto nos hospedeiros animais quanto ter vida livre no ambiente (BHARTI et al., 2003).

2.2 Vias de Transmissão e Infecção

Nos ecossistemas rurais e urbanos, os principais reservatórios são os roedores como o *Rattus norvegicus* (ratazana) que ocupam uma posição de portadores sadios, abrigo das leptospiras nos rins e as eliminam no ambiente contaminando a água, o solo e os alimentos (NALLY et al., 2011). Ainda vale lembrar que mesmo o rato sendo a principal fonte de infecção, nos rebanhos bovinos a doença se mantém através dos próprios animais doentes que eliminam a bactéria a partir de suas secreções (VASCONCELLOS, 1997).

O cão é julgado como o hospedeiro natural do sorovar Canicola e o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) o hospedeiro natural dos sorovares Icterohemorrhagiae, Copenhageni e Pyrogenes. O sorovar Pomona tem como hospedeiro natural os suínos, bovinos e gambas, enquanto o sorovar Grippotyphosa é achado nos rins de animais silvestres como o rato almiscarado, lebre, marta, hamster, entre outros. Já o sorovar Hardjo possui os bovinos como hospedeiro natural (HAGIWARA, 2003).

A transmissão ocorre pelo contato direto com urina, sangue, tecidos de animais que estão infectados e pelo contato indireto através da água e alimentos contaminados, e do leite de animais que estão na fase aguda da doença (JULIANO et al., 2000). Ainda se tem estudos que revelam que a transmissão também pode ocorrer através de aerossóis, contato com produtos de abortos (HARTSKEERL et al., 2011), sêmen e por via transplacentária (BOLIN e PRESCOOT, 1999).

A porta de entrada para essas bactérias são escoriações ou cortes na pele, contato com conjuntivas, a infecção também pode ocorrer através da pele íntegra que fica submergida em água contaminada por tempo prolongado. A inalação de aerossóis ou de água também pode ser fonte da infecção através do contato da bactéria com as mucosas das vias respiratórias. Dificilmente o contágio irá ocorrer por mordidas de animais (LEVETT, 2001).

De acordo com Marques (2008), nos machos onde a uretra é o canal de eliminação de urina e sêmen, tem sido observada a participação do sêmen como fonte de transmissão tanto na monta natural quanto na inseminação artificial.

2.3 Patogenia

Depois do contato com a leptospira, a bactéria se distribui pela corrente sanguínea e a partir disso começam a se multiplicar em diversos órgãos, como fígado, baço e rins. Este período é chamado de leptospiremia que pode variar de 4 a 5 dias. Após este período, os agentes infecciosos penetram na câmara anterior do globo ocular, na luz dos túbulos renais, no sistema nervoso central e no sistema reprodutor. Esta fase é caracterizada como leptospirúria e tem início a partir do sétimo ao décimo dia e é responsável pela formação dos complexos imunes e reação inflamatória (FAINE et al., 1999).

Com a progressão da infecção, resposta humoral surge como um importante mecanismo de defesa contra a leptospirose. No começo da infecção ocorre a formação de imunoglobulinas do tipo IgM que serão responsáveis pelo controle da infecção. Após este período ocorre a formação de outro grupo de imunoglobulinas, as IgG, que irão promover a lise das leptospirosas que estiverem circulantes causando a atenuação dos sinais clínicos, porém a bactéria ainda permanece nos rins e no trato reprodutivo do animal doente (FAINE, 1994).

A leptospira é mantida em uma colonização persistente dos túbulos proximais dos rins dos animais portadores, estes animais podem permanecer sem apresentar qualquer sintoma clínico e eliminando a bactéria constantemente pela urina por toda sua vida (BHARTI et.al, 2003).

2.4 Fatores de Risco

A leptospirose é a zoonose mais distribuída pelo mundo, a sua incidência é consideravelmente maior nos países de clima quente por facilitar a sobrevivência da bactéria no ambiente. Todavia a maioria dos países de clima tropical são também países que estão em desenvolvimento e com isso se tem maior exposição aos animais doentes, quer eles sejam bovinos, animais domésticos ou animais silvestres (LEVETT, 2001).

Segundo a Organização de Saúde Animal (OIE) a leptospirose faz parte da lista B de doenças que são observadas no comércio internacional de animais e de seus produtos. Ainda não se tem um método de diagnóstico ideal para a determinação da situação do animal, mas o teste de aglutinação microscópica ainda é o recomendado sendo a melhor alternativa de diagnóstico da doença (BRASIL, 2013; OIE, 2016).

A determinação da taxa de prevalência é essencial para a quantificação do problema, servindo de base para o estudo epidemiológico, uma vez que o diagnóstico amplo, rápido e preciso da enfermidade é fundamental para a elaboração de alternativas viáveis de intervenção (MARQUES, 2008; MARQUES, 2010). Vale lembrar que a profilaxia e controle da

leptospirose bovina dependem, primeiramente, de um diagnóstico em que se procure identificar na propriedade qual sorovar é predominante e conseqüentemente quais mecanismos que fazem parte da transmissão da doença (LILENBAUM, 1996).

Os diversos sorovares de leptospirose podem na teoria infectar qualquer espécie animal, porém na realidade alguns sorovares são mais populares em determinadas regiões ou países e mais adaptados a hospedeiros específicos, assim beneficiando a sua conservação no ambiente (ELLIS, 1984). De forma geral, no Brasil, a relação sorovar hospedeiros segue as seguintes preferências: os sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni são mais comuns em roedores sinantrópicos; os sorovares Grippothyphosa em marsupiais; Hardjo e Wolffi são comuns em bovinos; o sorovar Pomona e Icterohaemorrhagiae em suínos, O sorovar Icterohaemorrhagiae nas espécies equina, caprina e ovina; e os sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae nos cães (FAVERO et al., 2001; FAVERO et al., 2002).

No Brasil, de acordo com o Manual do Sistema Nacional de Informação Zoossanitária (SIZ) a leptospirose bovina é uma doença que requer notificação mensal de qualquer caso confirmado (BRASIL, 2013), porém não tem um programa de controle e combate organizado tanto por instituições públicas quanto pelas instituições privadas de sanidade animal e isto faz com que não se tenha uma noção da verdadeira extensão da infecção no país (ARAÚJO et al., 2005).

A persistência do agente e sua elevada capacidade de infecção são garantidas por varias razões como a pluralidade se sorovares, a diversidade de espécies hospedeiras que podem abrigá-las e sua resistência no ambiente nas condições adequadas a ela (VASCONCELLOS, 1993). Além disso, se tem a grande quantidade de lixo que é acumulado nos grandes centros que contribui para o aumento da população de roedores, esta condição aumenta quantidade de urina contaminada que é eliminada por esses animais e que serão difundidas pelas enchentes que com a obstrução do curso de água e a impermeabilização das vias públicas nos países subdesenvolvidos que ainda se tem condições sanitárias, de moradia e de trabalho são precárias aumentam as chances de transmissão da doença (CÔRTEZ, 1993).

2.5 Sinais Clínicos em bovinos

Os sinais clínicos ligados a esta doença depende tanto do sorovar quanto do hospedeiro (BOLIN e ALT, 1999). Nos hospedeiros de manutenção geralmente os animais vão apresentar baixa resposta sorológica, apresenta poucos sinais clínicos na forma aguda da doença e vão apresentar um prolongado estado portador renal. Nos hospedeiros acidentais os animais vão ter

a doença na forma mais severa, apresentando altos títulos de anticorpos aglutinantes, porém apresentará um curto estado portador renal (FAINE et al., 1999).

Nos bovinos, os animais podem apresentar as formas aguda, subaguda e crônica da doença, sendo que as formas aguda e subaguda são mais comuns nos animais jovens e em vacas em lactação, e neste caso pode ser a causa de mastite atípica de início imediato e marcada com a queda da produção. A forma crônica é caracterizada por problemas reprodutivos como o aborto do 5º ao 6º mês de gestação (SULLIVAN, 1974 apud LANGONI, 1999).

A forma aguda pode apresentar quadros de hiperemia, hemorragias, hemoglobinúria, icterícia e os animais vão apresentar baixa eficiência reprodutiva, lembrando que sua incidência é incomum e acomete principalmente os animais jovens. Em vacas leiteiras esta fase é marcada com uma febre transitória e com a queda brusca na produção leiteira, conhecida como “*milk drop syndrome*”, este sintoma pode durar de dois a dez dias, o leite pode exibir um aspecto de colostro com a presença de coágulos consistentes de coloração amarelada e com uma alta contagem de células somáticas, o úbere destes animais podem apresentar edemas e com flacidez a palpação, pode ainda está com comprometimento dos quatro quartos, podendo ou não apresentar sintomatologia clínica e geralmente volta ao normal em média após duas semanas depois do começo dos sintomas mesmo em casos de animais que não foram tratados (MARQUES, 2008; MARQUES et al., 2010).

Ainda de acordo com o mesmo autor, os animais que apresentarem a forma crônica vão ter repetição de cio, abortos, mumificação fetal, natimortos e nascimento de produtos debilitados, nesta forma acometem animais mais velhos. Em bezeros os sinais clínicos podem variar de febre alta, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia, congestão pulmonar e eventualmente pode provocar meningites e morte.

Também pode ocorrer o desenvolvimento de vasculites, lesões endoteliais, infiltrado inflamatório de monócitos, é comum em exame macroscópico o aparecimento de petéquias. As alterações histopatológicas são mais evidentes as patologias em fígado onde podem apresentar colestase intra-hepática, hipertrofia e hiperplasia das células de Kupffer, nos rins que podem ter nefrite intersticial, infiltrado celular de neutrófilos e monócitos além da presença das leptospiras nos túbulos renais. No coração podem ocorrer alterações como miocardite intersticial com infiltrado celular predominante de linfócitos e células plasmáticas, petequias, derrame pericárdico, arterite coronariana, e nos pulmões podem ocorrer congestão pulmonar e hemorragias, os outros órgãos também podem ser acometidos dependendo da gravidade da infecção do animal (LEVETT, 2001).

2.6 Diagnóstico

É importante ressaltar que para a determinação do diagnóstico, o perfil bifásico da doença pode interferir na interpretação, a fase inicial a leptospira pode ser encontrada no sangue, líquido e na maioria dos tecidos, já na fase crônica da doença devido ao aparecimento dos anticorpos vai estar mais presente nos tecidos de predileção do agente (HIGINO et al., 2014).

O isolamento da bactéria também pode ser realizado, porém têm alguns problemas que podem atrapalhar o resultado. Para este tipo de exame as amostras têm que ser recém-colhidas, com no máximo 42 horas, o crescimento da bactéria não é satisfatório, pode ocorrer à contaminação da amostra e o exame apresenta baixa sensibilidade. Além destas dificuldades vale lembrar que a eliminação da leptospira pela urina ocorre de maneira salteada e por um período pequeno e indeterminado (FAINE et al., 1999).

Também pode ser realizado o diagnóstico etiológico estabelecido pela provação da presença do agente nos tecidos e humores, este teste pode ser realizado no decorrer da primeira semana de infecção ou até os primeiros 10 dias. Principalmente de três a sete dias da infecção o agente infeccioso pode ser visto por microscopia de campo escuro em exames de sangue, exsudato peritoneal e exsudato pleural. Este tipo de diagnóstico nem sempre é o recomendado, pois a amostra pode apresentar grande quantidade de artefatos que podem se assemelhar com bactérias gerando um falso-positivo (FAINE et al., 1999).

O diagnóstico também pode ser feito através do teste de ELISA, onde se detecta anticorpos da classe IgG e IgM. A imunoglobulina IgM é a primeira a ser detectada após o sistema imune ser estimulado, logo depois o IgG também é estimulando permanecendo por um período mais prologando, enquanto a IgM regride. Com a quantificação destas imunoglobulinas é possível identificar o curso da produção de anticorpos após uma infecção ou vacinação (HARTMAN et al., 1983).

A reação de soroglutinação microscópica (SAM) é o teste sugerido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para se realizar o diagnóstico de leptospirose (LEVETT, 2001). Para a realização deste exame são selecionados os sorovares das leptospirosas, de preferência os mais prevalentes, e estes depois serão colocados em microplacas de fundo chato juntamente com a amostra do soro do animal. Esta etapa é chamada de triagem, onde são selecionados os animais positivos e eliminados os animais negativos, e depois se faz a titulação do soro com diluições diferentes (PAIM et al., 2016). Ainda podem ocorrer reações cruzadas entre diferentes sorovares que pode dificultar a identificação do sorovar mais prevalente (HAGIWARA, 2003).

2.7 Tratamento e Profilaxia

As medidas de controle atribuídas para a eliminação da leptospirose são tomadas a partir de ações que atuam diretamente sobre os animais, como as vacinações, e ações direcionadas ao controle de roedores, tratamento dos animais infectados e desinfecção dos ambientes contaminados (LANGONI, 1999).

O uso de medicamentos também é recomendado, em um estudo foi notada uma alta sensibilidade “*in vitro*” a ampicilina, amoxicilina, penicilina G, cefotaxime, eritromicina, tiamulin, e apresentou resistência para cefalotina, cloranfenicol e sulfonamidas. Nos testes a ampicilina, a cefotaxime, mexalactam obtiveram bons resultados retirando a bactéria dos rins. Neste mesmo estudo, foi revelado que a dihidroestreptomicina é a melhor droga para se administra, pois ela combina a ação bactericida e a capacidade de se preservar no tecido renal e a tetraciclina tem a capacidade de eliminar a leptospira em animais de experimentação, entretanto a penicilina G não apresentou resultados vantajosos (PRESCOTT, 1991).

A vacinação ainda é a melhor forma de se prevenir desta infecção, vacinas contendo o microrganismo morto ou inativado são as mais utilizadas (LANGONI, 1999). A imunização previne contra a doença causada pelo sorovar semelhantes ou que sejam antigenicamente semelhantes, com isso as vacinas tem que conter os sorovares que seja mais expresso naquela região. A maioria das vacinas para bovinos e suínos contém presente os sorovares Hardjo e Pomona, mas na maioria dos países em desenvolvimento não tem vacinas disponíveis com os sorovares mais presentes (LEVETT, 2001).

2.8 Leptospirose em bovinos no estado de Goiás

Em um trabalho realizado por Juliano et al. (2000) em que se buscava a prevalência de leptospirose dos bovinos leiteiros na microrregião de Goiânia, foram analisados um total de 426 soros sanguíneos e obtiveram uma prevalência de 81,9%, sendo os sorovares Wolffii (36,10%), Icterohaemorrhagiae (20,50%) e o sorovar Hardjo (5,20%) os mais prevalentes. Ainda nesta pesquisa foi observado quem em 354 dos 426 animais avaliados vinham de propriedades que tinham a presença de ratos, e apenas 72 vieram de propriedades onde não foram observados a presença dos mesmos.

Favero et al (2001) realizaram um estudo em 21 estados do Brasil, onde foram analisados 31.325 bovinos oriundos de 21 estados brasileiros diferentes, sendo um deles o estado de Goiás, nele foi verificado que a prevalência de leptospirose em bovinos do estado em especial foi de 46,5%, sendo os sorovares Hardjo e Wolffii os mais incidentes. Neste estudo, foram testados 28 municípios e dentre eles está o município de Mineiros. Além disso, o estado

de Goiás ficou entre os que tiveram maiores concentrações de leptospirose, acompanhado pelos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná e Rio de Janeiro.

Outra pesquisa realizada foi analisada 140 bovinos machos da microrregião de Goiânia tanto de produção leiteira quanto para sistema de produção destinada ao corte, vindos de 60 propriedades diferentes. Foi observada uma prevalência de 74,28%, onde os sorovares mais prevalentes foram o Wolffí que apareceu em 19,23% dos animais testados, o sorovar *Hardjo* com uma prevalência de 15,38% e o sorovar Djasiman e Grippytyphosa com 5,77%, ainda existiram as reações que co-aglutinação que apresentarem uma prevalência de 41,34% em que a combinação mais frequente foi entre os sorovares Wolffí e *Hardjo*. (CAMPOS JR et.al, 2006).

Já em outro trabalho que buscava a predominância de leptospirose nos bovinos do estado de Goiás, o estado foi dividido em três zonas distintas, a primeira era representada pela região norte e nordeste que apresentou uma prevalência de 71,99%, a segunda a região sul e sudeste com dominância de 54,09% das amostras e a terceira a região sudoeste e centro com uma predominância de 61,98% das amostras. No total foram testados 4.571 soros de bovinos, sendo que 1715 pertenciam à zona três. Nesta mesma zona está o município de Mineiros que no estudo apresentou uma prevalência de 71,9%. De modo geral os sorovares mais prevalentes foram o Wolffí com 14,53% de positividade e o sorovar *Hardjo* com 12,70%, porem a maior prevalência apresentada foi de co-aglutinação que representou 40,24% de positividade das amostras testadas (MARQUES, 2008).

3 MATERIAIS E METODOS

O presente trabalho tem aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia conforme o protocolo nº 149/16 disponível no anexo 1.

3.1 Localização do município

O município de Mineiros está localizado na Microrregião Sudoeste de Goiás, nas seguintes coordenadas geográficas 17°55'90" de latitude e 52°67'49" longitude (INPE,2016) como pode ser observado na Figura 1. Seu clima possui as estações bem definidas, o período de seca corresponde às estações de outono e inverno que perduram aos meses de maio a setembro, e o período úmido em que se tem a presença das chuvas está presente nas estações de primavera e verão (SILVA et al., 2015). A sua temperatura anual média variando de 24 à 26 °C e precipitação anual média de 1.400 à 1.600 mm (INMET, 2016).



Figura 1: Localização do Município de Mineiros, GO.

Fonte: Fundação Wikimedia, (2016).

3.2 População estudada

O número do rebanho bovino abatidos no estado de Goiás é de 784.35, o município de Mineiros tem aproximadamente 2.683 são destinados ao abate (IBGE, 2006).

Para o estudo foi coletado 130 amostra de sangue de bovinos de corte de três fazendas distintas no município de Mineiros no período de janeiro a junho de 2017. 20

3.3 Procedimento para colheita e análise das amostras

As amostras foram colhidas da veia caudal, foi utilizado o sistema de vácuo em tubos esterilizados sem anticoagulantes. Os tubos foram identificados e deixados em repouso de 1 a 2 horas para que ocorresse a coagulação.

Depois que ocorreu a coagulação do sangue, o soro sanguíneo foi transferido para Eppendorfs® e congelados a - 20° C. O soro foi mantido congelado até o momento de em que foram encaminhados em caixas isotérmicas para Laboratório de Doenças Infectocontagiosas que se localiza na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, para que a realização dos exames.

Para a realização dos exames foi feita a prova de soroaglutinação microscópica em campo escuro (SAM) em busca de aglutininas anti-*Leptospira* spp. Foi feito a prova contra 22 sorovares diferentes: Australis, Autumnalis, Bataviae, Brasiliensis, Bratislava, Canicola, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Djasiman, Guaricura, Hardjobovis, Hardjioprajitino, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Sejroe, Shermani, Tarassovi, Wolffi, estes sorovares são os que mais afetam os bovinos segundo a literatura pesquisada. Para os exames estas sorovares foram cedidos pelo Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

As leptospiras utilizadas foram mantidas em meio Stuart enriquecido com 10% de soro de coelho, mantidos em estufa a 28 °C. Foram utilizadas aqueles cultivos que não apresentavam contaminação e nem auto-aglutinação, com boa motilidade e depois de 5 a 7 dias de crescimento (PAIM et al. 2016).

O soro obtido dos animais foram diluídos em solução salina tamponada na diluição inicial de 1:50. Desta diluição, foi colocada uma amostra de 50µl em microplacas e 50µl de antígeno para a realização da triagem com uma diluição de 1:100. A leitura das microplacas foi feita após um período de uma hora em temperatura de 28°C, em microscópio de campo escuro. Foi considerado reagente o soro que apresentar uma aglutinação mínima de 50% no campo com o microscópio no aumento de 100 vezes (PAIM et al., 2016).

Os resultados positivos obtidos no processo da triagem, foram novamente testados, agora em diluições diferentes de 1:200 até chegar em 1:1600, considerando positivos da mesma forma, aqueles que tiveram mais de 50% de aglutinação, tendo assim a titulação dos animais positivos.

3.4 Obtenção de dados referentes aos fatores de risco

Para complementar o estudo em questão, foi realizado um inquérito epidemiológico para a avaliação de diversos fatores, como tipo de produção, tipo de alimentação que os animais recebem, se existe presença de problemas reprodutivos entre outros fatores, que podem contribuir com o aparecimento dos resultados, conforme o questionário adaptado de Paim et al. (2016) disponível no apêndice 1.

3.5 Análise estatística

Para a análise dos resultados obtidos no teste de soroglutinação, foi realizado percentual simples.

4 RESULTADOS

Das 130 amostras de soro sanguíneo analisados no laboratório pelo teste de soroaglutinação microscópica, 112 foram positivos para pelo menos um dos sorovares testados, com títulos de 1:100 ou mais, ocasionando em uma prevalência de 86,15%. Dos animais positivos os sorovares mais prevalentes foram o Hardjoprajitino com 8,03%, Tarassovi com 7,14% e Wolffi com 6,25%, descritos na tabela 1.

Também pode ser observado nesta tabela, que dos 112 animais positivos para leptospirose, 76 apresentavam soroaglutinação para mais de um sorovar (coaglutinação), representando a maioria dos casos. A maior parte das coaglutinações envolvia dos sorovares Guaricura, Hardjoprajitino, Tarassovi e Wolffi, como mostrado na tabela 2.

Tabela 1 - Soroprevalência de anticorpos anti-*Lepstospira* ssp. no teste de soroaglutinação de 112 bovinos de corte no município de Mineiros, Goiás, 2017.

SOROVAR	POSITIVOS	%
Coaglutinação	76	67,85
Hardjoprajitino	9	8,03
Tarassovi	8	7,14
Wolffi	7	6,25
Sejroe	6	5,35
Copenhageni	2	1,78
Pomona	2	1,78
Djasiman	1	0,89
Guaricura	1	0,89
TOTAL	112	100,0

Como mostra a tabela 1, dos 112 animais positivos para leptospirose, 76 apresentavam soroaglutinação para mais de um sorovar (coaglutinação), o que representou a maioria dos casos. A maior parte das coaglutinações envolvia dos sorovares Garicura, Hardjoprajitino, Tarassovi e Wolffi, como podem ser visto na tabela 2.

Tabela 2 - Número de bovinos com coaglutinação no teste de SAM para o diagnóstico de leptospirose em bovinos de corte, no município de Mineiros, Goiás, 2017.

TIPOS DE COAGLUTINAÇÃO	NÚMERO DE CASOS
Guaricura, hardjoprajitino, wolffi	13
Guaricura, hardjioprajitino	8
Hardjoprajitino, sejroe	8
Icterohaemorrhagiae, tarassovi	2
Guaricura, hardjoprajitino, sejroe	2
Guaricura, hardjoprajitino, tarassovi	2
Guaricura, pomona, wolffi	2
Guaricura, tarassovi, wolffi	2
Hardjoprajitino, sejroe, tarassovi	2
Djasiman, guaricura, hardjoprajitino, wolffi	2
Guaricura, haedjoprajitino, pomona, wolffi	2
Guaricura, hardjoprajitino, icterohaemorrhagiae, tarassovi, wolffi	2
Canicula, copenhageni	1
Djasiman, wolffi	1
Guaricura, wolffi	1
Hardjoprajitino, wolffi	1
Hardjoprajitino, tarassovi	1
Sejroe, tarassovi	1
Canicola, copenhageni, guaricura	1
Castellonis, guaricura, hardjoprajitino	1
Copenhageni, hardjoprajitino, sejroe	1
Djasiman, guaricura, wolffi	1
Djasiman, hardjoprajitino, wolffi	1
Djasiman, sejroe, wolffi	1
Guaricura, hardjobovis, hardjoprajitino	1
Batavie, guaricura, hardjoprajitino, tarassovi	1

Tabela 2 - Número de bovinos com coaglutinação no teste de SAM para o diagnóstico de leptospirose em bovinos de corte, no município de Mineiros, Goiás, 2017 (continuação).

TIPOS DE COAGLUTINAÇÃO	NÚMERO DE CASOS
Canicola, copenhageni, guaricura, hardjoprajitino	1
Castellonis, guaricura, hardjoprajitino, sejroe	1
Guaricura, hardjoprajitino, sejroe, tarassovi	1
Guaricura, hardjoprajitino, sejroe, wolffi	1
Guaricura, hardjobovis, hardjoprajitino, wolffi	1
Guaricura, hardjoprajitino, icterohemorraghia, wolffi	1
Hardjoprajitino, pomona, tarassovi, wolffi	1
Australlis, guaricura, hardjoprajitino, icterohaemorrhagiae, wolffi	1
Canicola, copenhageni, hardjoprajitino, sejroe, wolffi	1
Djasiman, guaricura, icterohaemorrhagiae, tarassovi, wolffi	1
Guaricura, grippotyphosa, hardjobovis, hardjoprajitino, sejroe	1
Australis, guaricura, grippotyphosa, hardjobovis, hardjoprajitino, sejroe	1
Canicola, djasiman, guaricura, icterohaemorrhagiae, tarassovi, wolffi	1
Australlis, canicola, djasiman, guaricura, hardjobovis, hardjoprajitino, wolffi	1
Australlis, canicola, djasiman, guaricura, javanica, panamá, wolffi	1
TOTAL	76

Na tabela 3 é possível verificar que em todas as fazendas apresentou prevalência acima de 70% de animais reagentes, onde a maior prevalência estava na propriedade 3 com 94,11% dos animais testado tiveram resultado positivo para leptospirose, seguido pela propriedade 2 com 83,87%, e propriedade 1 com a menor prevalência de 79,16%. Além disso, é possível observar o quanto a leptospirose esta difundida em todas as propriedades.

Tabelas 3 - Distribuição espacial dos resultados obtidos pelo teste de SAM para o diagnóstico de leptospirose em bovinos de corte, no município de Mineiros, Goiás, 2017.

Propriedade	Nº de animais testados	Nº de animais positivos (%)	Sorovares prevalentes
1	48	38 (79,16)	Guaricura e Hardjoprajitino
2	31	26 (83,87)	Hardjoprajitino e Sejroe
3	51	48 (94,11)	Guaricura e Wolffi

Em análise ao questionário feito em cada propriedade, foi possível observar pontos em comum entre elas, como por exemplo, o tipo de criação de gado extensiva e com a alimentação basicamente a pasto e suplementação com sal mineral. Além disso, fatores como repetição de cio, casos de aborto, nascimento de bezerros fracos foram observados nas propriedades, porém não se tem dados completos sobre essas informações devido à falta de controle do manejo.

Nas três propriedades não se tinha um controle sobre a reprodução, não era feito estação de monta e nem utilização tecnologias da reprodução, o touro fica com as vacas aptas para se reproduzir durante todo o ano e só são apartados antes do parto e enquanto a vaca ainda está com o bezerro ao pé.

Ainda de acordo com o inquérito epidemiológico, a propriedade 1 não tinha a presença de roedores (relato do proprietário). Além disso, foi constatado que não era feita a vacinação contra leptospirose em todas as propriedades. Havia histórico de vacinação para raiva, febre aftosa, brucelose e carbúnculo/botulismo, o que pode ser um dos motivos pela alta incidência nos animais.

Em todas as propriedades foi observada a presença de outras espécies, principalmente equinos, cães e suínos, no convívio com os bovinos.

5 DISCUSSÃO

Devido a poucos estudos sobre leptospirose em bovinos de corte e estudo na região de Mineiros, os resultados obtidos nesta pesquisa vão ser comparados com outros resultados de pesquisas que investigava a leptospirose em bovinos de corte e em bovinos leiteiros do estado de Goiás e estados vizinhos.

Os humanos podem contrair a infecção através de exposições ocupacionais, exposição através de atividades de lazer ou através de atividades ocasionais. O contato direto com os animais que estão doentes é o responsável pelas maiores infecções em agricultores, veterinários, trabalhadores dos matadouros, inspetores de carne, trabalhadores de controle de roedores e quais quer outra profissão que tenha contato com animais. O contato indireto com a bactéria é de fundamental importância para os trabalhadores de esgoto, mineiros, soldados, trabalhadores de limpeza de fosse séptica, piscicultores e trabalhadores de campo de arroz (LEVETT, 2001).

A alta prevalência em todas as propriedades analisadas nesta pesquisa acompanha os resultados da maioria dos estudos semelhantes na região de Goiás, onde a maioria das propriedades estudadas apresentava pelo menos um animal positivo no teste de soroprecipitação em campo escuro, o que deixa claro o quanto ainda somos susceptíveis a esta infecção e a necessidade de um maior controle e conhecimento sobre suas causas e suas consequências.

A partir dos resultados encontrados foi possível traçar um perfil sorológico e epidemiológico de leptospirose no município de Mineiros. Foi possível considerar que a ocorrência de amostras positivas no teste de soroprecipitação microscópica em campo escuro do município foi alta, representando 86,15%, tendo os sorovares mais prevalentes o Hardjoprajitino (8,03%), Tarassovi (7,14%) e Wolffii (6,25%). Os resultados encontrados podem ser comparados com outras pesquisas que também tiveram conclusões semelhantes.

Os resultados obtidos nessa pesquisa concordam com outros autores que já realizaram pesquisas no estado de Goiás e até mesmo no município de Mineiros, como Marques (2008) que encontrou uma prevalência de 71,9% e apresentando os sorovares Wolffii (14,53%) e Hardjo (12,70%) como os mais prevalentes em bovinos, não distinguindo a aptidão. Juliano et al (2000) também realizam uma pesquisa na micro região de Goiana em bovinos leiteiros, e encontraram uma prevalência de 78%, onde os sorovares mais frequentes foram o Wolffii (36,10%), Icterohaemorrhagiae (20,50%) e Hardjo (5,20%), apenas o sorovar Icterohaemorrhagiae não foi encontrado nesta pesquisa.

Já estudo de Miashiro et al (2013) onde foram testados 2.766 fêmeas acima de 24 meses na região do Pantanal em Mato Grosso do Sul, obteve uma prevalência de 79,80%, tendo um

resultado parecido com o desta pesquisa. Os sorovares mais prevalentes foram os Hardjo e Woffi, o que também apresentou um resultado semelhante.

Diferentemente do que foi encontrado nesta pesquisa, o estudo de Favero et al, (2001) encontrou uma prevalência bem inferior, de apenas 46,6% de positividade. Este desfecho tão diferente pode ser explicado pela época em que os exames foram realizados, no período de 1984 a 1997, deste período para cá o perfil do rebanho bovino goiano sofreu bastantes mudanças devido o melhoramento genético e técnicas de manejo mais avançadas. Sarmiento et al (2012) também encontraram um resultado inferior, apenas 63,30% de animais positivos, com fêmeas bovinas em idade reprodutiva de 8 estados brasileiros, sendo um deles o estado de Goiás. Mesmo essas pesquisas apresentando resultados inferiores ao encontrado, os sorovares Hardjo e Woffi ainda são os mais prevalentes em todos os estudos.

Vale lembrar que o sorovar Hardjo e o Woffi são os mais difundidos pelo país, sendo encontrados em diversas pesquisas (JULIANO et. al, (2000); FAVERO et al, (2001); CAMPOS JR. et al (2006); MARQUES et al. (2008); SARMENTO et. al, (2012); MIASHIRO et. al (2013), onde na maioria das vezes eles se encontram como um dos três sorovares mais prevalentes. Nesta pesquisa não foi diferente, esses sorovares também foram encontrados como os mais prevalentes nos rebanhos.

Das 76 reações de coaglutinação, os sorovares Guaricura, Hardjoprajitino e Woffi estão presentes em quase todas as reações, esta condição pode ser explicada, pois os sorovares Hardjoprajitino e Woffi são pertencentes do sorogrupo Sejroe e pode ter ocorrido reação cruzada por serem muito parecidos antigenicamente e com isso fica difícil identificar qual que é o sorovar realmente positivo. Castro et al. (2009) mostraram que associação entre os sorovares Hardjo e Woffi representou a segunda maior prevalência. No estudo de Mineiro et al. (2007) também mostrou que é frequente a associação destes dois sorovares. Esses dois sorovares são os mais comuns encontrados nos bovinos (FAVERO et al. 2001, FAVERO et al. 2002), e o sorovar Hardjo tem os bovinos como hospedeiros naturais (HAGIWARA, 2003).

Dos dados obtidos do inquérito epidemiológico, os pontos em comum entre as fazendas, como tipo de criação e a ocorrência de abortos são fatores determinantes para que se tenha mais incidência de animais positivos. Este resultado concorda com a pesquisa de Marques (2008), que também encontrou esses fatores como causadores da infecção. Porém diferentemente do que encontrado por este autor os maiores casos de leptospirose estavam nos bovinos que realizarão inseminação artificial e os menores índices em dos bovinos que tem monta natural, neste trabalho todos os bovinos se reproduzem por meio da monta natural e mesmo assim apresentou alta prevalência de anticorpos anti-leptospira.

A falta de vacinação contra leptospirose também pode ser um dos motivos para esta alta prevalência, como mencionado por Langoni (1999) a imunização dos animais é uma das formas mais eficaz para o controle e prevenção desta infecção.

A presença de outras espécies animais nas propriedades pode ser o motivo de sorovares como Copenhageni, que é comum em ratos, e os sorovares Pomona e Tarassovi, que tem preferência por suínos, terem sido encontrados nos rebanhos estudados, mostrando que esta infecção esta difundida em várias espécies facilitando a sua transmissão.

6 CONCLUSÃO

Dos resultados obtidos nesta pesquisa podemos concluir que a prevalência de leptospirose em Mineiros é bastante alta, 86,15%. Os sorovares mais prevalentes foram o Hardjoprajitino, Tarassove e Wolffi, sendo que a maior parte das soropositividades foi de reações de coaglutinação.

Do estudo epidemiológico podemos analisar que a falta de vacinação, o tipo de criação, a presença de abortos nas propriedades e presença de roedores e outras espécies animais são fatores comuns que podem explicar a alta incidência desta doença nas propriedades.

A partir disso, fica a necessidade de um maior controle da população de roedores e urgência de um programa de vacinação que insira a Leptospirose para que se tenha uma melhoria na produção de bovinos e a garantia de uma melhor sanidade tanto para os animais quanto para os humanos já que se trata de uma zoonose. 30

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, V. E. et al. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 4, p. 430-435, 2005.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. Brasília, p. 216 - 219, 2004.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Manual do Sistema Nacional de Informação Zoossanitária - SIZ / Ministério da Agricultura. – Brasília: MAPA/ACS, p. 40, 2013.

BHARTI, A R. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet infectious diseases**, v. 3, n. 12, p. 757-771, 2003.

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

BOLIN, C. A.; PRESCOTT, J. F. Leptospirosis. In: HORWARD, J. L.; SMITH, R. A. **Current veterinary therapy**. Philadelphia: Saunders, v. 1, n. 4, p.352-357, 1999.

CASTROS, V. et al. **Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo**. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.61, n.6, p.1438-1442, 2009 - Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2009.

CAMPOS JÚNIOR, A. C. P. et al.,. Prevalência de anticorpos antileptospira em machos bovinos na microrregião de Goiânia. **Ciência Animal Brasileira**, v. 7, n. 4, p. 439-446, 2006.
CÔRTEZ, J.A. Aspectos epidemiológicos e ecológicos da leptospirose. **Anais do III Encontro Nacional em Leptospirose**. Rio de Janeiro, p.53-57, 1993.

ELLIS, W. A. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine**, v.2, p. 411-421, 1984.

FAINE, S. **Guidelines for the control of leptospirosis**. Geneva: World Health Organization, 1982. (WHO Offset publication, 67) apud HASHIMOTO, V. Y. et al. Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 521-524, 2010.

FAINE, S. **Leptospira and leptospirosis**. Boca Raton: CRC Press, p. 353, 1994.

FAINE, S. et al. **Leptospira and leptospirosis**. Melbourne: MediSci, n. 2, p. 272, 1999.

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. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.

FAVERO et.al. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos Estados brasileiros. **Ciência Rural**, v.32, n.4, p.613 - 619, 2002.

HAGIWARA, M. K. Leptospirose canina. São Paulo: **Pfizer Saúde Animal (Boletim Técnico)**, p. 1-7, 2003.

HARTMAN, E. G. et al. Determination of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in sera of experimentally infected dogs by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.7, p. 43 - 51, 1983.

HARTSKEERL, R.A. et al. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. **Clinical Microbiology and Infection**. v.17, n. 4, p.494-501, 2011.

HIGINO, S. S. S.; AZEVEDO, S. S.. Leptospirose em pequenos ruminantes: situação epidemiológica atual no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 86-94, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Efetivo dos rebanhos-cabeças. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/>>. Acesso em 10 out. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Efetivo dos rebanhos-cabeça. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=go>> . Acesso em 1 de nov. 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Efetivos dos rebanhos-cabeças. 2006. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>>. Acesso em 17 de set. 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. Densidade de raios por município. Disponível em: <http://www.inpe.br/webelat/docs/Densidade_de_Raios_por_Municipio.pdf>. Acesso em 2 de nov. 2016.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Precipitação total anual - Temperatura média anual. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/>> . Acesso em 2 de nov. 2016.

JULIANO, R. S. et al. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na Microrregião de Goiania-GO . **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 857-862, 2000.

LANGONI, H. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. São Paulo, v. 2, n. 1, p. 52 - 58, 1999.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **American Society For Microbiology**, Barbados, v. 14, n. 2, p.296-326, abr. 2001.

LILENBAUM, W. Atualização em leptospirose bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 18, n.1, p. 9-13, 1996.

MARQUES, A. E. Prevalência de anticorpos anti- *Leptospira* spp. e aspectos epidemiológicos da infecção em bovinos no estado de Goiás, 2008, 86 f. **Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiania, 2008**.

MARQUES et al. Prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e aspectos epidemiológicos da infecção em bovinos do Estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, [s.l.], v. 11, n. 3, p.607-617, 2010.

MIASHIRO, A. F. et al. **Prevalência de leptospirose em rebanhos bovinos no Pantanal de Mato Grosso do Sul**. 2013. 52 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Saude Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2013.

MINEIRO, A.L.B.B. et al. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1103-1109, 2007. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Teresina, 2007.

NALLY, J.E. et al., Comparative proteomic analysis of differentially expressed proteins in the urina of reservoir hosts of leptospirosis. *PLOS One*. v.6, n.10, p.1-9, 2011.

PAIM, E. R. A. et al. Soroepidemiologia da leptospirose em rebanho bovino leiteiro no município de Ipameri, estado de Goiás, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 1937-1946, 2016.

PRESCOTT, J. Treatment of leptospirosis. *Cornell Veterinary*, v.81, p.7-12, 1991.

SILVA, A. J. et al. Atributos Biológicos e físico-hídricos de um solo cultivado com Eucalipto adubado com cama de frango em Mineiros-GO. **GLOBAL SCIENCE AND TECHNOLOGY**, v. 8, n. 3, 2016.

SARMENTO, A. M.C. et al. Emprego de estripes de *Leptospira ssp.* isoladas no Brasil na microtécnica de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico de leptospirose em rebanhos bovinos de 8 estados brasileiros. 2012. 6 f. Tese (Doutorado) - **Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2012. Cap. 32.

SULLIVAN, N. D., Leptospirosis in animals and man **Australian Veterinary Journal**, v.50, p.216-23, 1974 apud LANGONI, H. Leptospirose: Aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. São Paulo, v. 2, n. 1, p. 52 - 58, 1999.

VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose animal. In: III ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, Rio de Janeiro, p.62-65, 1993.

VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose Bovina. **Atualização Técnica** - Laboratórios Pfizer Ltda., Guarulhos, n 34, p. 1-5 1997.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. Animal Health in the World - Overview <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/>. Acessado em 17/10/2016. 33

APÊNDICE 1 – INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

1. INFORMAÇÕES REFERENTES AO PROPRIETÁRIO E A PROPRIEDADE

Nome do proprietário: _____

Telefone: _____

Nome da Propriedade: _____

Município: _____

Numero de funcionários fixos: _____

2. INFORMAÇÕES REFERENTES AO PLANTEL DE BOVINOS

Sistema de criação:

Intensivo () Semi-extensivo () Extensivo ()

Exploração principal:

Carne ()

Leite () Produção média diária de leite: _____

Alimentação:

Pasto () Volumoso () Concentrado () Outros: _____

Tipo de cobertura:

Monta a campo () Monta controlada () Inseminação artificial ()

Repetição de cio: Não () Sim () Quantos animais: _____

Partos distócitos: Não () Sim () Quantos animais: _____

Abortos: Não () Sim () Quantos animais: _____

Intervalos entre partos: _____

Número de vacas em reprodução: _____

Número de nascimento de bezerros fracos: _____

Os animais são vacinados contra alguma doença? Qual (is)?:

Observou presença de roedores na propriedade? _____

Qual é a fonte de água em sua propriedade? _____

3. INFORMAÇÕES REFERENTES A OUTROS ANIMAIS DA PROPRIEDADE

Há outras espécies animais na propriedade? Qual (is)?:

Há aborto nessas outras espécies? _____

ANEXO 1 - CERTIFICADO DO CEUA



Universidade Federal de Uberlândia
- Comissão de Ética na Utilização de Animais -



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Prevalência de Leptospirose em rebanho bovino no município de Mineiros - GO", protocolo nº 149/16, sob a responsabilidade de Anna Monteiro Correia Lima – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi APROVADA pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião de 09 de dezembro de 2016.

(We certify that the project entitled "Prevalência de Leptospirose em rebanho bovino no município de Mineiros - GO", protocol 149/16, under the responsibility of Anna Monteiro Correia Lima - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was approved for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of December 09th, 2016).

Vigência do Projeto	Início: 01/03/17 Término: 30/06/17
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Bovino - Bos taurus
Número de animais	309 (valor estimado)
Peso / Idade	- / -
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem / Local	Zona rural da cidade de Mineiros - GO
Número da Autorização COBIO	-
Atividade(s)	-

Uberlândia, 12 de dezembro de 2016.

Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU