

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E
REPRODUTIVOS DE UM SURTO DE LEPTOSPIROSE
EM UMA FAZENDA DE BOVINOS DE PRODUÇÃO
LEITEIRA

Danilo Mundim Silva
Médico Veterinário

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
ABRIL de 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E
REPRODUTIVOS DE UM SURTO DE LEPTOSPIROSE
EM UMA FAZENDA DE BOVINOS DE PRODUÇÃO
LEITEIRA

Danilo Mundim Silva

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Anna Monteiro Correia Lima

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária - UFU, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre
em Ciências Veterinárias Saúde Animal.

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS - BRASIL
Abril de 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S586a
2018 Silva, Danilo Mundim, 1990
Aspectos epidemiológicos e reprodutivos de um surto de leptospirose em uma fazenda de bovinos de produção leiteira / Danilo Mundim Silva. - 2018.
36 f. : il.

Orientadora: Anna Monteiro Correia Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.792>
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Leptospirose em animais - Teses. 3. Bovinos - Doenças - Teses. 4. - Teses. I. Lima, Anna Monteiro Correia. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Ata da defesa de Dissertação de **MESTRADO ACADÊMICO** junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa de: Dissertação de mestrado acadêmico nº **PPGCV/004/2018**

Data: 16/04/2018

Discente: **Daniilo Mundim Silva** – Matrícula – 11612MEV007

Título da Dissertação: **ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE UM SURTO DE LEPTOSPIROSE EM UMA FAZENDA DE BOVINOS DE PRODUÇÃO LEITEIRA**

Área de concentração: SAUDE ANIMAL

Linha de pesquisa: CLÍNICA MÉDICA E INVESTIGAÇÃO ETIOLÓGICA

Projeto de Pesquisa de vinculação: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E LABORATORIAIS DA OCORRÊNCIA DA LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS DOMÉSTICOS DO TRIÂNGULO MINEIRO.

No dia 16 de abril do ano de 2018 às 14:00 horas no Auditório do Bloco 4K - Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Comissão Julgadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, composta pelos Professores(as)/Doutores(as): **Cristiano Pereira Barbosa** – UNIVERSIDADE DE UBERABA; **Walter Lilenbaum** – UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE e **Anna Monteiro Correia Lima** orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da comissão Dr./Dra. Anna Monteiro Correia Lima concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para uma exposição do seu trabalho, contando com o tempo máximo de 50 minutos. A seguir o(a) senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir o(a) candidato(a), durante o prazo máximo de (30) minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para resposta. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Comissão Julgadora, em sessão secreta, considerou o(a) candidato(a) **APROVADO COM EXIGÊNCIAS DA BANCA**

Esta defesa de dissertação de mestrado é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme Regulamento do Programa, Legislação e a Regulamentação Interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar o(a) Presidente encerrou os trabalhos às 17 horas e 00 minutos, lavrou esta ata que será assinada por todos os membros da Comissão Examinadora. Uberlândia, 16 de Abril de 2018.

Prof. Dr. Cristiano Pereira Barbosa

UNIVERSIDADE DE UBERABA

Prof. Dr. Walter Lilenbaum

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE

Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima

ORIENTADORA

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Danilo Mundim Silva - Nascido em Uberlândia, Estado de Minas Gerais, em 28 de março de 1990. Filho de Ricardo José da Silva e Marta Regina Araújo Mundim Silva. Graduado em Medicina Veterinária, em março de 2014, pela Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduado em Residência Uniprofissional, na área de concentração Medicina Veterinária Preventiva, em março de 2016, pela Universidade Federal de Uberlândia, na qual foi bolsista pelo Ministério da Educação (MEC), de março de 2014 a março 2016. Em março de 2016, ingressou no mestrado, por meio do programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Saúde Animal, pela Universidade Federal de Uberlândia, na qual foi bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), de março de 2016 a março de 2018.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a Deus, aos meus pais, aos meus irmãos e a toda minha família, que sempre foram meu alicerce, minha referência na vida e minha motivação.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, pois sem sua vontade nada disto seria possível.

Aos meus pais, Ricardo José da Silva e Marta Regina Araújo Mundim Silva, pelo amor, apoio incondicional e dedicação.

Aos familiares e amigos, que independente da distância, sempre estiveram ao meu lado, me fortalecendo nos momentos mais difíceis dessa jornada.

À Prof^a. Dr^a. Anna Monteiro Correia Lima que me concedeu a oportunidade de ingressar no mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (FAMEV-UFU). Obrigado pela confiança e pelos ensinamentos.

Ao Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia (LADOC -UFU), onde passei quatro anos da minha vida aprendendo e me qualificando.

Aos coautores deste trabalho, que foram fundamentais para o desenvolvimento desta pesquisa, Andreia Zago Ciuffa, Anna Monteiro Correia Lima, Dayane Olimpia Gomes, Lais Miguel Rezende e Rafael Quirino Moreira. Obrigado pela amizade, ensinamentos e trabalho em equipe, serei sempre grato pelo auxílio.

Aos amigos do LADOC-UFU que compartilharam alegrias e dificuldades de se estar em uma pós-graduação.

À CAPES pela concessão da bolsa de pesquisa.

A todos que contribuíram de maneira direta ou indireta, para finalização de mais uma etapa acadêmica, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

REFERENCIAL TEÓRICO	9
Leptospirose e agente etiológico	9
Transmissão.....	10
Leptospirose em bovinos.....	10
Fatores de risco	10
Prevenção e controle	11
REFERÊNCIAS	13
EFEITOS DE UMA ABORDAGEM ESTRATÉGICA <i>in situ</i> NO CONTROLE DA LEPTOSPIROSE EM UM REBANHO BOVINO LEITEIRO NATURALMENTE INFECTADO	15
RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO	17
METODOLOGIA	18
Caracterização da propriedade	18
Animais em lactação	18
Manejo das Crias.....	18
Manejo das Novilhas.....	19
Manejo reprodutivo	19
Manejo sanitário.....	19
Histórico de problemas reprodutivos.....	19
Exame sorológico de monitoramento.....	20
Medidas de controle do surto de leptospirose	21
Análise estatística.....	24
Teste de Aglutinação Microscópica (MAT).....	24
RESULTADOS.....	25
DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Precipitação anual referente ao ano de 2017, na região de Uberlândia, MG.	21
FIGURA 2 - Divisão estratégica do rebanho bovino leiteiro para o controle do surto de leptospirose.....	23
FIGURA 3 - Ocorrência de abortamentos entre o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017, em propriedade de produção leiteira, na região de Uberlândia, MG.....	27
FIGURA 4 - Ocorrência de vacas repetidoras de cio entre o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017, em propriedade de produção leiteira, na região de Uberlândia, MG.	28
FIGURA 5 - Intervalo entre partos em dias, entre o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017, em rebanho Jersey sororreagente para leptospirose, na região de Uberlândia, MG.....	29

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Frequência de sorogrupos de *Leptospira* spp. obtida no MAT.....25

TABELA 2 – Frequência de títulos por sorogrupo entre os bovinos de leite sororreagentes..... 26

REFERENCIAL TEÓRICO

Leptospirose e agente etiológico

A leptospirose é uma doença transmissível que ocorre nos animais e seres humanos, determinada pela infecção de espécies patogênicas do gênero *Leptospira*. *Leptospiras* são espiroquetas que apresentam 0,1µm de diâmetro e 6-20 µm de comprimento (FAINE et al. 2000). O gênero *Leptospira* possui espécies patogênicas e não patogênicas. São conhecidos aproximadamente 250 sorovares patogênicos, distribuídos em 26 sorogrupos (MURRAY et al., 2013).

Existem duas classificações para o gênero *Leptospira*, sendo uma fenotípica e outra genotípica. A classificação fenotípica foi baseada em características antigênicas da *Leptospira*, as quais produzem padrões de reações sorológicas utilizadas como critérios de classificação. Nessa classificação, o gênero foi dividido em duas espécies, as quais agrupam cepas patogênicas (*Leptospira interrogans*) e cepas saprófitas (*Leptospira biflexa*). A relação antigênica entre sorovares foi utilizada para agrupá-los em sorogrupos (FAINE et al., 2000).

A classificação genotípica foi baseada na hibridização do DNA da *Leptospira*, sendo determinadas genoespécies que inclui todos os sorovares patogênicos e não patogênicos. São conhecidas espécies patogênicas, *L. interrogans*, *L. alexanderi*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. kirshneri*, *L. kmetyi*, *L. alstoni* e *L. mayottensis*, espécies com patogenicidade intermediária, *L. inadai*, *L. broomii*, *L. fainei*, *L. wolffi*, *L. licerasiae* e *L. venezuelensis* sp. nov. e espécies saprófitas, *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *L. idonii*, *L. vanthielli*, *L. yanagawae* e *L. terpstrae* (PUCHE et al., 2017).

Atualmente a classificação genotípica é bastante aceita e utilizada, pois proporcionou um protocolo de tipificação rápido e reproduzível, apesar de tornar a classificação taxonômica do gênero confusa (ELLIS, 1994). O inconveniente dessa classificação é que um mesmo sorovar pode pertencer a mais de uma genoespécie (BRENNER et al., 1999). Nesse sentido, a classificação fenotípica ainda é bastante aceita e utilizada na microbiologia clínica e na epidemiologia (BHARTI et al., 2003)

Várias espécies de mamíferos podem ser acometidas, sendo a manifestação da doença frequentemente subclínica (SCHULLER et al., 2015). Esses animais são

considerados hospedeiros de manutenção, pois eliminam a *Leptospira* por muito tempo no ambiente (ADLER et al., 2011). Já os hospedeiros incidentais são aqueles não adaptados a determinados sorovares. Nesses animais, a manifestação da doença é geralmente severa e com sinais clínicos evidentes (QUINN et al., 2005).

Transmissão

Leptospira coloniza os túbulos renais proximais de animais portadores, sendo excretada intermitentemente pela urina. A transmissão da leptospirose ocorre pelo contato de animais não portadores com água ou solo contaminado, além da urina de animais portadores (ADLER e MOCTEZUMA, 2010). A presença da *Leptospira* em fluido vaginal e sêmen sugere potencial para a transmissão venérea (LILENBAUM et al., 2008).

O ciclo de infecção entre hospedeiros adaptados ou de manutenção ocorre principalmente pela transmissão direta entre animais de uma mesma espécie. Por manterem o agente no ambiente, os hospedeiros de manutenção podem transmitir a *Lepstopira* indiretamente para hospedeiros incidentais. O ser humano é considerado hospedeiro acidental, pois geralmente não são transmissores do agente (FAINE et al., 2000).

Leptospirose em bovinos

Os bovinos são considerados hospedeiros de manutenção do sorovar Hardjo, manifestando a doença na forma crônica e frequentemente caracterizada por problemas reprodutivos (CHIARELI et al., 2012). A leptospirose na espécie bovina é responsável por grandes perdas econômicas relacionadas com baixa eficiência reprodutiva, redução dos índices produtivos, além de despesas com assistência veterinária, vacinas e exames de diagnóstico. Frequentemente, ocorrem abortos, nascimentos de crias fracas, repetição de cio, natimortalidade, aumento do intervalo entre partos e redução da produção de carne e leite (FAINE et al. 2000).

Fatores de risco

Para o controle da leptospirose, é fundamental determinar os fatores de risco da região, além da realização de inquéritos sorológicos (FAINE et al. 2000). No estado da Paraíba, foram identificados como fatores de risco propriedade ser localizada no Sertão, presença de animais silvestres, presença de pastos alagados e não resfriar o leite. O fato

de não resfriar o leite está relacionado com a falta de tecnificação das propriedades (PIMENTA et al., 2014).

No estado da Bahia, foram observados fatores de risco como presença de mais de 28 fêmeas bovinas em idade reprodutiva no rebanho, presença de cervídeos, compra de animais, abate de animais na própria fazenda e utilização de partos compartilhados (OLIVEIRA et al., 2010). Já no estado do Maranhão, os fatores observados foram não realização de inseminação artificial, criação conjunta de caprinos, ovinos, equinos e caninos, além de maior taxa de nascimento de bezerros no período seco (PAIXÃO et al., 2016).

A pluviometria foi observada como fator de risco na microrregião de Parnaíba, PI. Verificou-se maior prevalência de animais sororreagentes para leptospirose no período chuvoso (MINEIRO et al., 2007). O acesso de cães às pastagens e de roedores à ração dos bovinos, foram associados à leptospirose bovina na região sul do Brasil (FAVERO et al., 2017).

Prevenção e controle

Existe a tendência de alguns hospedeiros manterem sorovares específicos, como o sorovar Hardjo na espécie bovina. Essa manutenção parece não ter relação direta com fatores como condições climáticas e região geográfica. Nessa situação, o mecanismo de transmissão ocorre entre hospedeiros da mesma espécie. A infecção por sorovares mantidos por outras espécies de hospedeiros, como animais silvestres ou outros animais domésticos, caracteriza infecção incidental, a qual está relacionada com problemas de manejo (ELLIS, 1984).

O controle da leptospirose é realizado por meio da vacinação, do diagnóstico, do tratamento dos animais e da alteração de manejo. Entretanto, vacinas comerciais são parcialmente eficientes, pois sorovares locais podem ser diferentes daqueles presentes nas vacinas (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). A vacinação dos animais é capaz de reduzir drasticamente os problemas reprodutivos apresentados no rebanho (PEREIRA et al., 2013), porém somente ela não elimina o estado de portador renal dos animais (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). Por essa razão, os animais doentes devem ser tratados.

O tratamento dos animais infectados é fundamental, pois elimina o estágio de portador renal e, conseqüentemente, reduz a disseminação do agente para animais não portadores (GERRITSEN et al., 1994). A estreptomicina é um dos primeiros

antibióticos utilizados para o tratamento da leptospirose, sendo considerada a droga de eleição (GIRIO et al., 2005).

REFERÊNCIAS

- ADLER, B. et al. Pathogenesis of leptospirosis: the influence of genomics. **Vet. Microbiol.**, v. 153, p. 73-81, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.055>.
- ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. Leptospira and leptospirosis. **Vet. Microbiol.**v. 140, p. 287-296, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.012>.
- BHARTI, A. R. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lanc. infec. dis.**, v. 3, n. 12, p. 757-771, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00830-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00830-2).
- BRENNER, D. J. et al. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. **Int. J. of Syst. and Evolut. Microb.**, v. 49, n. 2, p. 839-858, 1999. <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-839>.
- CHIARELI, D. et al. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. **Pesq. Vet. Bras.** v. 32, n.7, p. 633-639, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012000700008>.
- ELLIS, W.A. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Prev. Vet. Med.**, v.2, p.411- 421, 1984. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(84\)90085-0](https://doi.org/10.1016/0167-5877(84)90085-0).
- ELLIS, W. A. Leptospirosis as cause of reproductive failure. **Vet. C. of N. A.: F. and Anim. Prac.**, v. 10, p. 463-478, 1994. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30532-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30532-6).
- FAINE, S. et al. **Leptospira and Leptospirosis**. 2 ed. Melborne: MediSci, 2000, 296 p.
- FÁVERO, J. F. et al. Bovine leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. **Microb. Pathog.**, v. 107, p. 149-154, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.032>
- GERRITSEN, M. J. et al. Effective treatment with dihydroestreptomycin of naturally infected cows shedding *Leptospira interrogans* serovar Hardjo subtype Hardjo bovis. **Am. J. Vet. Res.** v.55, p. 339-343, 1994.
- GIRIO, T. M. S. et al. Uso de estreptomicina na eliminação da leptospirose em touros (*Bos taurus indicus*) naturalmente infectados pelo sorovar Hardjo. **Arq. do Inst. de Biol.** v.72, n. 2, p.161-170, 2005.
- LILENBAUM, W. et al. Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 837-842, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.10.027>.
- MINEIRO, A. L. B. et al. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arq. bras. med. vet. zootec**, p. 1103- 1109, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000500003>.
- MURRAY, G. L. et al. Evaluation of 238 antigens of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo for protection against kidney colonization. **Vaccine**, v. 31, p. 495-499, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.11.028>.
- OLIVEIRA, F. C. S. et al. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Pesq. Vet. Bras.** v. 30, n. 5, p. 398-402, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2010000500004>.

PAIXÃO, A. P. et al. *Leptospira* spp. em bovinos leiteiros do estado do Maranhão, Brasil: frequência, fatores de risco e mapeamento de rebanhos reagentes. **Arq. do Inst. Biol.**, v. 83, p. 01-12, 2016. <https://doi.org/10.1590/1808-1657001022014>.

PEREIRA, M. H. et al.: Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI. **Anim. Reprod. Sci.** v. 137, p. 156-162, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.12.011>.

PIMENTA, C. L. R et al. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. **Pesq. Vet. Bras.** v. 34, n. 4, p. 332-336, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000400006>.

PUCHE, R. et al. *Leptospira venezuelensis* sp. nov., a new member of the intermediate group isolated from rodents, cattle and humans. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** v. 68, n. 2, p. 513-517, 2017. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002528>.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed Editora, 2005.

SCHULLER, S. et al., European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **J. Small Anim. Pract.**, v. 56, p. 159-179, 2015. <https://doi.org/10.1111/jsap.12328>.

**EFEITOS DE UMA ABORDAGEM ESTRATÉGICA *in situ* NO CONTROLE
DA LEPTOSPIROSE EM UM REBANHO BOVINO LEITEIRO
NATURALMENTE INFECTADO**

RESUMO - A leptospirose é uma doença cosmopolita que acomete os animais domésticos, selvagens e o homem, sendo determinada pela infecção de cepas patogênicas de espiroquetas pertencentes ao gênero *Leptospira*. Os objetivos do presente estudo foram verificar os reflexos da adoção de uma conduta terapêutica e preventiva estratégica *in situ* nos índices reprodutivos e no perfil sorológico de um rebanho bovino leiteiro naturalmente infectado por *Leptospira* spp. e com histórico de problemas reprodutivos. Após o diagnóstico sorológico da doença, em julho de 2016, foi adotada uma conduta terapêutica e preventiva estratégica. Para verificar os efeitos dessa abordagem estratégica nos índices reprodutivos, foi realizado um levantamento dos casos de abortos, de vacas repetidoras de cio e do intervalo entre partos referente ao período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017. A conduta terapêutica e preventiva estratégica mostrou-se eficaz na redução dos títulos de anticorpos. Além disso, o tratamento e a adoção de medidas preventivas planejadas estrategicamente contra essa doença influenciaram na redução dos problemas reprodutivos pesquisados (aborto, repetição de cio e intervalo entre partos elevado).

Palavras-chave: Controle, prevenção, problemas reprodutivos

EFFECTS OF A STRATEGIC APPROACH *in site* ON THE CONTROL OF LEPTOSPIROSE IN A NATURALLY INFECTED DAIRY BOVINE HERB

ABSTRACT- Leptospirosis is a cosmopolitan disease affecting domestic animals, wild animals and man, being determined by the infection of pathogenic strains of spirochetes belonging to the genus *Leptospira*. The objectives of the present study were to verify the reflexes of the adoption of a therapeutic and preventive strategy *in situ* in the reproductive indices and the serological profile of a dairy herd naturally infected by *Leptospira* spp. and with a history of reproductive problems. After the serological diagnosis of the disease, in July 2016, a therapeutic and preventive strategy was adopted. In order to verify the effects of this strategic approach on the reproductive indexes, a survey of abortion cases, estrus-rearing cows and the interval between births from January 2015 to December 2017 was carried out. The therapeutic and preventive strategy was shown, is effective in reducing antibody titers. In addition, the treatment and the adoption of preventive measures strategically planned against this disease influenced the reduction of the reproductive problems surveyed (abortion, estrus repetition and interval between high deliveries).

Key words: Control, prevention, reproductive problems

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença cosmopolita que acomete os animais domésticos, selvagens e o homem. A doença é determinada pela infecção de cepas patogênicas de espiroquetas pertencentes ao gênero *Leptospira*. São conhecidas 13 espécies patogênicas, distribuídas em aproximadamente 260 sorovares, os quais estão agrupados em 26 sorogrupos (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Em bovinos, a leptospirose gera perdas econômicas diretamente ou indiretamente relacionadas com assistência veterinária, medicamentos, vacinais, testes laboratoriais, problemas reprodutivos e aborto. A principal manifestação da leptospirose crônica em fêmeas bovinas são os problemas reprodutivos, sendo geralmente os únicos sinais observados no rebanho (FAINE et al., 2000).

O fato de uma vaca não emprenhar após o período ideal serviço pode ser devido a problemas infecciosos que causam metrite e endometrite clínica. Quando a falta de prenhez persiste por três inseminações consecutivas, as fêmeas são denominadas repetidoras de cio (YUSUF et al., 2010, 2012).

Esse comportamento pode estar relacionado à infecção persistente do útero, a qual é a responsável por infertilidade e aumento do intervalo entre partos (DHALIWAL et al., 1996; GUITIAN et al., 1999).

A viabilidade econômica da produção leiteira está diretamente relacionada à eficiência reprodutiva. Problemas reprodutivos geram impactos significativos na produção de leite, no número de bezerros produzidos por ano, no intervalo entre partos e, conseqüentemente, afetam a rentabilidade da produção (GROOMS, 2010).

Além disso, a antibioticoterapia utilizada no controle da leptospirose em animais em lactação é responsável pelo descarte de grandes volumes de leite devido à presença de resíduos de antibióticos, intensificando os impactos econômicos gerados pela doença. Assim, faz-se necessário o estudo de abordagens terapêuticas estratégicas que sejam eficazes no controle da doença no rebanho e que gerem o menor descarte de leite possível.

Diante do exposto, os objetivos do presente estudo foram verificar os reflexos da adoção de uma conduta terapêutica e preventiva estratégica *in situ* nos índices reprodutivos e no perfil sorológico de um rebanho bovino leiteiro naturalmente infectado por *Leptospira* spp. e com histórico de problemas reprodutivos.

METODOLOGIA

A presente pesquisa foi submetida e aprovada pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA-UFU), sob o protocolo nº 035/17..

Caracterização da propriedade

A propriedade localiza-se na região de Uberlândia, MG, possui 17 hectares destinados à produção de leite. Apresenta localização geográfica 18°54'16.02"S e 48°22'02.40"O. Os animais do rebanho são da raça Jersey, puros por cruza. A produção de leite era intensiva, utilizando o método *Compost Barn*. O fornecimento de água para os animais, anteriormente ao diagnóstico sorológico da leptospirose no rebanho, era feito através do bombeamento de água proveniente de curso natural que passa pela propriedade. Devido ao acesso de capivaras a esse curso de água, o fornecimento hídrico passou a ser através de poço artesiano com cloração da água.

A área de pastagem era formada por 14 hectares de *Brachiaria decumbens* e três hectares de Tifton 85 associado com Tifton 63, sendo realizada a irrigação no período seco.

Animais em lactação

Os animais em lactação ficavam confinados em galpão climatizado, com ampla área de descanso, visando o bem-estar dos animais e maior produção de leite. A pastagem era cortada e fornecida direto no cocho. A água era fornecida *ad libitum* através de bebedouros automáticos. O sistema de ordenha da propriedade era mecânico com circuito fechado, sendo realizada duas ordenhas diárias, uma no período da manhã e outra no período da tarde. A secagem dos animais era realizada 60 dias antes do parto.

Manejo das Crias

As crias eram mantidas em bezerreiros onde era realizado o aleitamento artificial à base de leite em pó. O desmame era feito aos 60 dias ou quando atingem duas vezes o peso ao nascimento. Após o desmame, os machos eram levados para piquetes separados onde eram alimentados à base de grãos inteiros e, as fêmeas eram levadas para piquetes de recria e mantidas até atingirem maturidade sexual.

Manejo das Novilhas

Após o desmame, as novilhas eram mantidas em piquetes com *Brachiaria decumbens*, utilizando sistema de pastejo rotacionado com período de ocupação de dois dias. Ao atingirem a maturidade sexual, elas eram levadas para piquetes de reprodução, onde ficavam até a fase de pré-parto. A fase reprodutiva das novilhas se iniciava a partir dos 15 meses de idade e, após o parto, elas eram levadas para *Compost Barn*, onde ficavam por todo o período de lactação.

Manejo reprodutivo

A reprodução era realizada por meio de inseminação artificial com detecção de cio visual. Novilhas primíparas eram inseminadas com sêmen sexado até a segunda tentativa, não ocorrendo prenhez, na terceira tentativa era utilizado sêmen convencional e a partir da quarta tentativa era utilizado touro de repasse também da raça Jersey. A inseminação de vacas era realizada com sêmen convencional até a terceira tentativa, a partir da quarta tentativa era realizado o repasse com touro.

Manejo sanitário

O controle sanitário era realizado por meio da vacinação e vermifugação dos animais. Para a prevenção de doenças reprodutivas, as fêmeas de três a oito meses de idade foram vacinadas para brucelose, de acordo com o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Além disso, fêmeas e machos com idade superior a cinco meses foram vacinados, anualmente, para Diarreia Viral Bovina (BVD) e Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR). Como o rebanho não possuía histórico de vacinação recente para leptospirose, foi instituído um calendário de vacinação para leptospirose, em que fêmeas e machos foram vacinados a partir do quinto mês de vida e animais adultos foram vacinados semestralmente. Os animais também receberam vacina para clostridioses, botulismo, raiva, febre aftosa e paratifo.

Histórico de problemas reprodutivos

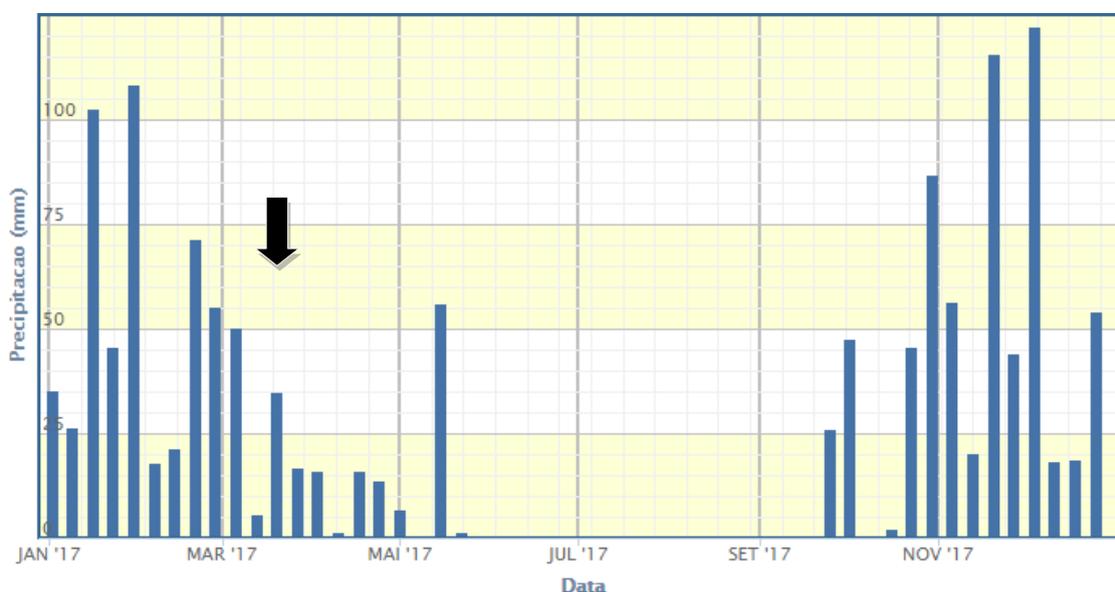
O proprietário relatou notório aumento de problemas reprodutivos no rebanho, como abortamentos, repetição de cio, dificuldade de prenhez e aumento do intervalo entre partos e, conseqüentemente, piora dos índices zootécnicos da produção. Em junho de 2016, amostras de sangue de todos os animais com idade reprodutiva foram coletadas e enviadas ao Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal de Uberlândia (LADOC-UFU) para a realização do diagnóstico sorológico para

leptospirose, no qual foi verificada a presença de animais sororreagentes. Após o diagnóstico sorológico da doença, em julho de 2016, foi adotada uma conduta terapêutica e preventiva estratégica. Para verificar os efeitos dessa abordagem estratégica nos índices reprodutivos, foi realizado um levantamento dos casos de abortos, de vacas repetidoras de cio e do intervalo entre partos referente ao período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017. Também foi realizado um exame sorológico de monitoramento em março de 2017 a fim de analisar a influência da conduta terapêutica e preventiva estratégica no perfil sorológico do rebanho.

Exame sorológico de monitoramento

A coleta de amostras de sangue dos animais para a realização do exame sorológico de monitoramento foi realizada no final do período chuvoso do ano de 2017 (figura 1), pois o objetivo desse exame foi verificar a influência da conduta terapêutica e preventiva estratégica no perfil sorológico do rebanho após um período de alta pluviosidade.

FIGURA 1 - Precipitação anual referente ao ano de 2017, na região de Uberlândia, MG.



Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Seta representa a coleta de amostras sanguíneas do rebanho em 21/03/2017.

Medidas de controle do surto de leptospirose

Devido ao elevado número de animais em lactação sororreagentes para leptospirose, os objetivos da conduta terapêutica e preventiva estratégica adotada foram eliminar o estágio de possíveis portadores da *Leptospira* spp. sem gerar grandes perdas econômicas devido ao descarte de grandes volumes de leite, evitar que possíveis animais não reagentes nos exames sorológico, porém portadores mantivessem o agente no ambiente e que animais não reagentes nos exames e não portadores se infectassem. Para isso, os animais foram divididos em lotes de acordo com o status sorológico.

A presença de sinais clínicos em animais não reagentes também foi utilizada como parâmetro para a formação dos lotes (figura 2), porque o MAT, apesar de ser a técnica de diagnóstico sorológico para leptospirose recomendada pela OIE, apresenta algumas limitações, como variabilidade de sensibilidade de acordo com os antígenos utilizados e incapacidade de distinção entre infecção aguda e crônica (PICARDEAU, 2013). Os animais foram mantidos em lotes separados até o término do tratamento.

Em julho de 2016, os animais sororreagentes foram tratados com estreptomicina, na dosagem de 25mg/kg, via intramuscular e dose única (ELLIS, 2015). Esse tratamento foi realizado antes da vacinação para reduzir ou eliminar a infecção dos

possíveis bovinos portadores da *Leptospira* spp. (FAINE et al., 2000). Animais não reagentes foram vacinados com bacterina contendo os sorovares Pomona, Wolfii, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippotyphosa. Após 21 dias da primeira dose, os animais receberam outra dose. Esta revacinação foi realizada a fim de induzir maiores títulos de anticorpos protetores e, conseqüentemente, conferir boa resposta imune frente à *Leptospira* spp. (MUGHINI-GRAS et al., 2014).

FIGURA 2 - Divisão estratégica do rebanho bovino leiteiro para o controle do surto de leptospirose



Análise estatística

Para verificar a existência de diferença estatística significativa dos abortamentos e dos casos de vacas repetidoras de cio que ocorreram antes e após da adoção da conduta terapêutica e estratégica preventiva, foi utilizado o teste estatístico *qui-quadrado* (X^2) ao nível de 5%. O tratamento estatístico dos dados foi realizado por meio do programa Biostat 5.0.

Teste de Aglutinação Microscópica (MAT)

Todos os exames foram realizados no LADOC-UFU, por meio do MAT, segundo protocolo descrito pela OIE (2012), com uma coleção de antígenos vivos que inclui 15 sorovares de leptospiros: Autumnalis, Australis, Bataviae, Bratislava, Canicola, Copenhageni, Gryppotyphosa, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi, Wolffi e Djasiman.

Os antígenos foram obtidos das culturas de *Leptospira* spp. mantidas no laboratório e repicadas semanalmente em meio de cultura EMJH (Ellinghausen, MacCullough, Johnson, Harris) enriquecido com 10% de soro de coelho. Essas culturas eram mantidas em estufa a 28°C e utilizadas próximo ao terceiro dia de incubação, livre de autoaglutinação e contaminação (OIE, 2012).

Alguns autores defendem que as amostras de soro sanguíneo devem ser triadas na diluição 200 para aumentar a especificidade do MAT. Neste estudo, as amostras foram triadas na diluição 100, pois mantendo a sensibilidade padronizada da técnica, o maior número de animais portadores seriam detectados pelo teste. Aquelas que apresentaram 50% ou mais de *leptospiras* aglutinadas visualizadas, por meio de microscopia de campo escuro, foram consideradas positivas e então diluídas seriadamente para determinação da diluição máxima positiva.

RESULTADOS

No exame de diagnóstico, foram observadas reações para os sorogrupos Sejroe e Hebdomadis. Já no exame de monitoramento, também foram observadas reações para os sorogrupos Serjoe e Hebdomadis, além de reações para sorogrupos presentes na bacterina utilizada, como Pomona, Icterohaemorrhagie e Canicola. (Tabela 1).

TABELA 1 - Frequência de sorogrupos de *Leptospira* spp. obtida no MAT

SOROGRUPOS DE <i>Leptospira</i> spp.	Nº DE BOVINOS REAGENTES	%
Exame de diagnóstico		
Hebdomadis + Sejroe	24	77,4
Sejroe	6	19,4
Hebdomadis	1	3,2
TOTAL	31	100
Exame de monitoramento		
Hebdomadis + Sejroe	13	50,0
Hebdomadis	4	15,4
Sejroe	5	19,2
Icterohaemorrhagie	2	7,6
Hebdomadis + Sejroe + Pomona	1	3,9
Canicola	1	3,9
TOTAL	26	100

Os títulos de anticorpos variaram de 100 a 800 no exame de diagnóstico. No exame de monitoramento, houve uma redução dos títulos, sendo observada uma titulação máxima de 100 (Tabela 2).

TABELA 2 – Frequência de títulos por sorogrupo entre os bovinos de leite sororreagentes

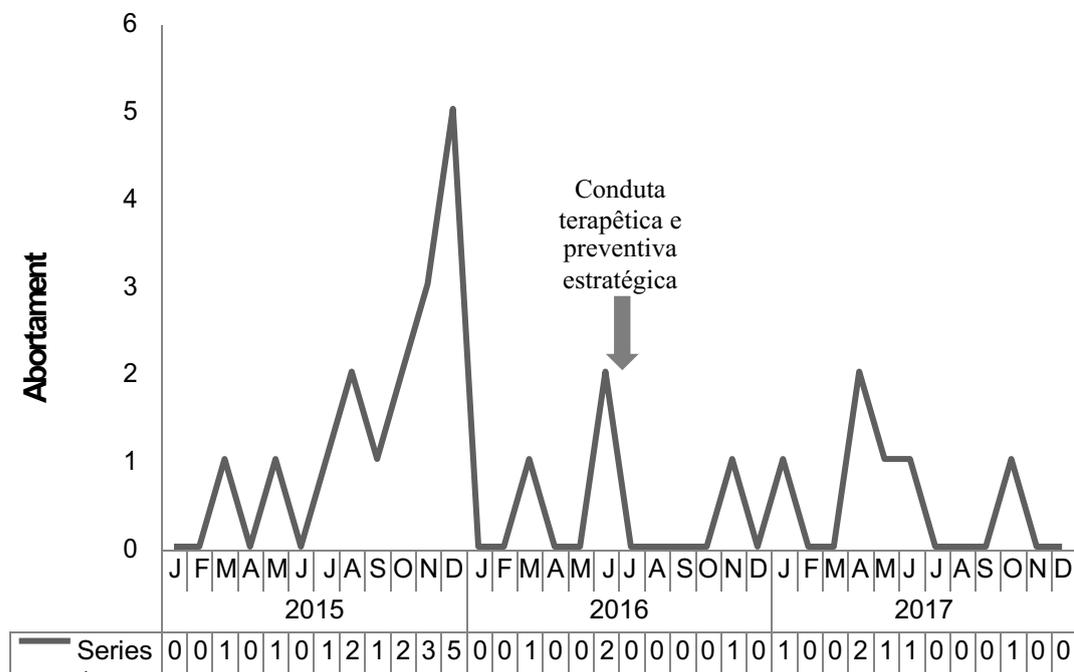
SOROGRUPO	100	200	400	800	TOTAL*	% TOTAL**
Exame de diagnóstico						
Sejroe	20	03	06	01	30	96,8 (30/31)
Hebdomadis	14	06	04	01	25	80,6 (25/31)
Exame de monitoramento						
Sejroe	19	00	00	00	19	73,1 (19/26)
Hebdomadis	18	00	00	00	18	69,2 (18/26)
Icterohaemorrhagiae	02	00	00	00	02	7,7 (2/26)
Canicola	01	00	00	00	01	3,8 (1/26)
Pomona	01	00	00	00	01	3,8 (1/26)

*Total de reações por sorogrupo desconsiderando os casos de coaglitinação

**Frequência de sorogrupos desconsiderando os casos de coaglutinação = Total de reações por sorogrupo/ Total de animais positivos

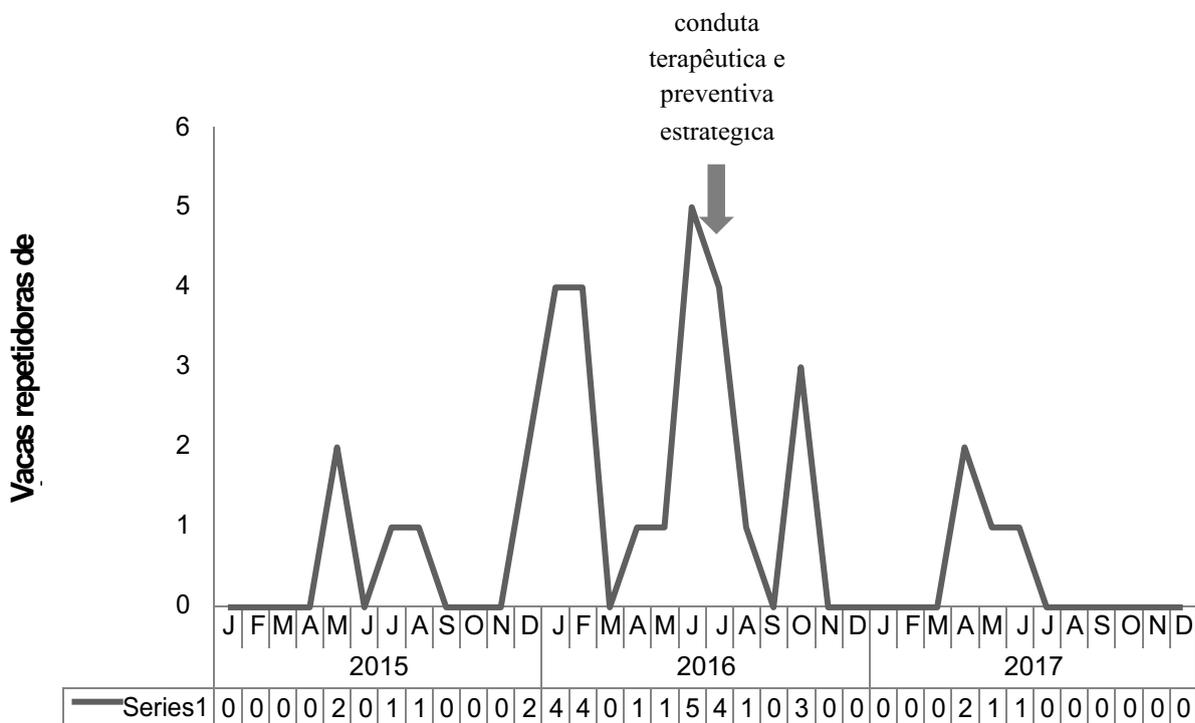
No que se refere à ocorrência de abortamentos, observou-se que houve uma redução estatística significativa dos casos de aborto após a adoção da conduta terapêutica e preventiva estratégica ($P < 0,05$) (figura 3).

FIGURA 3 - Ocorrência de abortamentos entre o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017, em propriedade de produção leiteira, na região de Uberlândia, MG



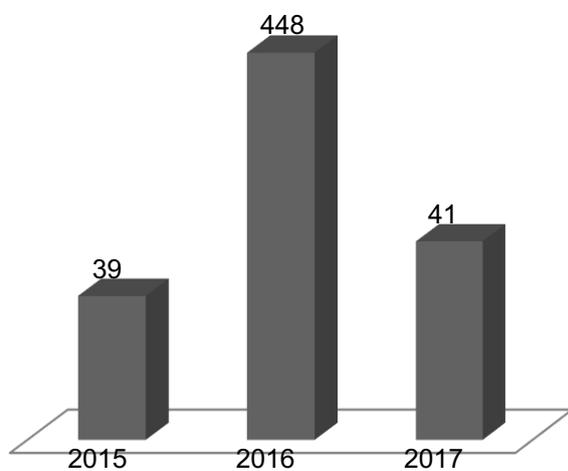
No que tange à ocorrência de vacas repetidoras de cio, verificou-se que os casos diminuíram após a adoção da conduta terapêutica e preventiva estratégica, no entanto, essa redução não apresentou diferença estatística significativa ($P > 0,05$) (figura 4).

FIGURA 4 - Ocorrência de vacas repetidoras de cio entre o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017, em propriedade de produção leiteira, na região de Uberlândia, MG



Em relação ao intervalo entre partos, observou-se um aumento no ano de 2016. É importante ressaltar que a conduta terapêutica e preventiva estratégica foi adotada em julho de 2016, e após sua adoção, verificou-se uma redução do intervalo entre partos no ano de 2017 (figura 5).

FIGURA 5 - Intervalo entre partos em dias, entre o período de janeiro de 2015 a dezembro de 2017, em rebanho Jersey sororreagente para leptospirose, na região de Uberlândia, MG



DISCUSSÃO

A alta prevalência de animais em lactação sororreagentes observada sugere estar associada à vacinação deficiente e à aglomeração dos bovinos durante o manejo para a realização da ordenha. O fato dos animais ficarem em alta taxa de lotação no curral de espera, urinando em solo impermeável, pode ter favorecido a disseminação da doença no rebanho. Apesar de ser uma propriedade que utiliza o *Compost Barn*, esse manejo parece não ter favorecido a transmissão da leptospirose entre os bovinos em lactação. Apesar dos animais ficarem aglomerados em galpão climatizado, o solo era bastante permeável, facilitando a drenagem da urina dos bovinos. Além disso, o solo era revirado duas vezes ao dia, juntamente, com as excretas para que ocorresse o processo fermentativo e, consequentemente, a eliminação dos patógenos.

A presença de animais silvestres na propriedade também sugere estar relacionada à elevada prevalência de animais em lactação sororreagentes. A fonte hídrica utilizada para o fornecimento aos animais e para a irrigação das pastagens era proveniente de curso de água natural, onde era comum a presença de capivaras. É importante ressaltar que a reposição do rebanho era realizada com animais nascidos na propriedade, eliminando a possibilidade de disseminação da doença por meio da introdução de animais oriundos de outras propriedades.

Pimenta et al. (2014) relataram que a presença de animais silvestres é fator de risco e está relacionada à prevalência de propriedades positivas. Silva et al. (2009) pesquisaram a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em capivaras abatidas em um frigorífico do Rio Grande do Sul. Foi verificado que 27,3% dos animais foram sororreagentes no MAT, com uma variação de títulos de anticorpos de 100 a 3.200. Esses resultados mostram a importância de animais silvestres, como a capivara, na epidemiologia da leptospirose e alertaram para a necessidade de evitar o contato entre animais de produção e potenciais hospedeiros de manutenção da *Leptospira*.

No que se refere aos reflexos da adoção da conduta terapêutica e preventiva estratégica no perfil sorológico do rebanho, a redução dos títulos de anticorpos observada sugere que a separação dos animais em lotes aliada à vacinação do rebanho e ao tratamento dos animais sororreagentes com estreptomicina evitaram a reinfecção dos bovinos. Ademais, o fato dos títulos de anticorpos terem se mantido baixos mesmo após um período chuvoso reforça essa eficácia do tratamento estratégico no controle da

reinfeção dos animais. Segundo Mineiro et al. (2007), existe uma maior tendência de ocorrência da leptospirose em um rebanho bovino no período de alta pluviosidade.

Em relação aos problemas reprodutivos estudados, a ocorrência de abortamentos e de vacas repetidoras de cio refletiram negativamente no intervalo entre partos ao longo dos anos estudados. É importante salientar que a conduta terapêutica e preventiva estratégica foi iniciada em Julho de 2016. Essa conduta teve reflexos positivos nos índices reprodutivos do rebanho, pois os casos de aborto, de vacas repetidoras de cio, além do intervalo entre partos reduziram no ano de 2017. Ademais, esta pesquisa foi realizada em um rebanho naturalmente infectado, sendo todas as medidas de controle e de prevenção do surto da doença realizadas *in situ*, mostrando os reflexos de uma conduta estratégica em uma situação prática.

Mori et al. (2017) avaliaram parâmetros reprodutivos em rebanho bovino sororreagente para leptospirose e verificaram que o intervalo entre partos variou de 450 a 500 dias. Esse resultado está em consonância com o maior intervalo entre partos observado no presente estudo, que ocorreu no ano de 2016. Isso se deve principalmente a ocorrência de vacas repetidoras de cio observada nesse ano.

Do mesmo modo, Guitian et al. (1999) avaliaram a fertilidade de vacas sororreagentes para leptospirose. Nesse estudo, verificaram que vacas sororreagentes apresentavam um intervalo médio entre o parto e a concepção de 132,6 dias. No entanto, os animais não reagentes apresentaram um intervalo médio entre o parto e a concepção de 95,4 dias. Essa diferença entre animais sororreagentes e não reagentes apresentou diferença estatística, bem como a probabilidade de 2,04 vezes de não concepção quando se tratando de animais sororreagentes para leptospirose. Esses resultados aliados aos do presente estudo demonstram a influência negativa da leptospirose no intervalo entre partos do rebanho.

Martins et al. (2015) analisaram a eficiência de um programa de controle padrão para leptospirose com estreptomicina 25 mg/kg e vacinação semestral dos animais em rebanho sororreagente para leptospirose e livre de brucelose no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Tal rebanho apresentava baixos índices reprodutivos e 30% de falhas reprodutivas, além de sorologia positiva com títulos que variaram de 200 a 1600. Um ano após essas intervenções, o rebanho ainda apresentava 12% de falhas reprodutivas e títulos de 100 a 1600. Devido ao elevado título de anticorpos, inferiram que houve reinfeção do rebanho através da água superficial potencialmente

contaminada que os animais tinha acesso. Por conseguinte, limitaram o acesso dos animais às fontes de águas e realizaram novamente a antibioticoterapia com estreptomicina 25 mg/kg. Transcorrido seis meses da adoção dessas condutas, verificaram que os problemas reprodutivos reduziram a 3% e os títulos de anticorpos foram de no máximo 200. Nesse contexto, esse estudo chama a atenção para a importância da adoção de medidas ambientais para o controle da leptospirose em rebanho bovino, principalmente no controle da reinfecção dos animais. Em consonância com os resultados obtidos por eles, a divisão dos animais em lotes realizada no presente estudo foi uma medida estratégica fundamental para o controle da reinfecção dos animais. É importante salientar que devido ao prejuízo que o tratamento de todos animais sororreagentes acarretaria por consequência do descarte de grande volume de leite, foi imprescindível a separação dos animais por categorias, evitando que aqueles portadores da *Leptospira* spp. transmitisse a bactéria para os bovinos não portadores. Ademais, a água fornecida aos animais em 2014 era potencialmente contaminada, pois capivaras tinham acesso ao curso de água utilizada para hidratação do rebanho. Assim, a utilização de fonte de água proveniente de posto artesiano com adição de cloro também foi importante para o controle da transmissão e reinfecção entre os animais.

Em relação a melhoria dos índices reprodutivos obtida nesta pesquisa, a separação estratégica do rebanho em lotes e as medidas adotadas especificamente para cada lote foram essenciais. Como o MAT apresenta limitações relacionadas principalmente à sensibilidade variável e à incapacidade de diferenciar infecção aguda de crônica (PICARDEAU, 2013), o tratamento somente de animais sororreagentes poderia não eliminar todos os bovinos portadores da *Leptospira*. Otaka et al. (2013) verificaram que 50 % de bovinos não reagentes no MAT apresentaram positividade no teste da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em urina. Assim, para eliminar todos os animais portadores da *Leptospira* seria necessário o tratamento de todo o rebanho, o que acarretaria grande prejuízo econômico ao produtor devido ao descarte de grande volume de leite. Além disso, a separação de animais com títulos de anticorpos diferentes também foi importante, pois o fato de um bovino apresentar título alto é indicativo de infecção ativa e, conseqüentemente, potencial fonte de infecção para animais não reagentes. Já aqueles animais com títulos baixos podem estar associados à infecção crônica e estágio de portador renal, ou ainda que não são mais portadores do agente, porém apresentam anticorpos. Por isso, foi fundamental garantir que bovinos

potencialmente portadores da *Leptospira* não transmitissem a doença para aqueles não portadores, os quais foram apenas vacinados e não receberam tratamento com estreptomicina.

No que se refere a presença de resíduos de antibióticos no leite, a conduta terapêutica e preventiva estratégica adotada mostrou-se uma alternativa eficaz que pode reduzir os impactos econômicos quando comparada a um tratamento convencional em que todos os animais recebem a antibioticoterapia. Como o período de carência da estreptomicina no leite é de quatro dias (COSTA, 1996), foi descartado o leite somente dos bovinos que estavam em lactação e que receberam o tratamento com estreptomicina. Nesse contexto, são escassos os dados relacionados à conduta terapêutica a ser adotada em casos específicos da doença em rebanhos bovinos leiteiros como ocorreu no presente estudo. Por isso, é importante a realização de pesquisas científicas relacionadas à abordagens terapêuticas e preventivas que geram resultados e, ao mesmo tempo, não tragam tantos reflexos financeiros aos produtores.

CONCLUSÃO

A conduta terapêutica e preventiva estratégica mostrou-se eficaz na redução dos títulos de anticorpos, pois mesmo após um período chuvoso, a titulação observada do rebanho manteve-se baixa. Além disso, o tratamento e a adoção de medidas preventivas planejadas estrategicamente contra essa doença influenciaram na redução dos problemas reprodutivos pesquisados (aborto, repetição de cio e intervalo entre partos elevado).

REFERÊNCIAS

- ADLER, B.; PEÑA MOCTEZUMA, A. Leptospira and leptospirosis. **Vet. Microbiol.** v. 149, p. 287-296, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.012>.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Bovina (PNCEBT)**. 2017.
- COSTA, E.O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.10, n.44, p.15-17, 1996.
- DHALIWAL, G. S. et al. Reduced conception rates in dairy cattle associated with serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo infection. **Vet. Rec.** p.110-139, 1996. <https://doi.org/10.1136/vr.139.5.110>.
- ELLIS, W. A. Animal leptospirosis, **Curr. Top. Microbiol. Immunol.** v.,387, p. 99-137, 2015. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_6.
- FAINE, S. et al. **Leptospira and Leptospirosis**. 2 ed. Melbourne: MediSci, 2000, 296 p.
- GROOMS, D. L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. **Theriogenology**, v. 66, p. 624-628, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.016>
- GROOMS, D. L. Programas para controle de doenças infecciosas e melhoria do desempenho reprodutivo. In: **CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS**, 14., 2010. Uberlândia. Anais... Uberlândia: Conapex Jr -UNESP, 2010, p. 418-427. Disponível em: <http://www.conapexjr.com.br/index.php>>. Acesso em: 11 set. 2017.
- GUITIAN, J. et al. Infertility and abortion among first-lactation dairy cows seropositive or seronegative for *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. **J Am Vet. Med. Assoc.**, p. 215-515, 1999.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). **MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. ESTAÇÕES AUTOMÁTICAS - GRÁFICOS**. 2018. Disponível em: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=home/page&page=rede_estacoes_auto_graf>. Acesso em: 18/02/2018.
- MARTINS, G. et al. Maintenance of *Leptospira* infection in cattle under tropical conditions. **Vet. Rec.** v. 16, p. 629-630, 2010. <https://doi.org/10.1136/vr.c5695>.
- MINEIRO, A. L. B. et al. Infecção por *Leptospira* em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arq. bras. med. vet. zootec.** p. 1103-1109, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352007000500003>.
- MORI, M. et al. Reproductive Disorders and Leptospirosis: A Case Study in a Mixed-Species Farm (Cattle and Swine). **Vet Sci.** v. 4, n. 4, p. 64, 2017. <https://doi.org/10.3390/vetsci4040064>.
- MUGHINI-GRAS, L. et al. Application of an integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds. **Epid. and Infect.**, v. 142, p. 1172-1181, 2014. <https://doi.org/10.1017/S0950268813001817>.

OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. 6 ed. Paris: World Organisation for Animal Health, 2012. 1343 p.

OTAKA, D. Y. et al.: Serology and PCR for bovine leptospirosis: herd and individual approaches. **Vet. Rec.**, v. 170, 338 p., 2012. <https://doi.org/10.1136/vr.100490>.

PEREIRA, M. H. R. F. et al. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 137, p. 156-162, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.12.011>.

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Méd. Malad. Infec.**, v. 43, p. 1-9, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2012.11.005>.

PIMENTA, C. L. R et al. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. **Pesq. Vet. Bras.** v. 34, n. 4, p. 332-336, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000400006>.

SILVA, E. F. et al. Seroprevalence of leptospiral infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a slaughterhouse of Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesq. Vet. Bras.** v. 29, p. 174-176, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000200016>.

YUSUF, M. et al. Reproductive performance of repeatbreeders in dairy herds. **Theriogenology**, Stoneham, v.73, n. 9, p. 1220-1229, jan., 2010. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.01.016>.

YUSUF, M. et al. The Incidence of repeat breeding in dairy cows under tropical condition. **J. of Anim. Sci. and Tech.**, Polones, v. 35, n. 1, p. 28-31, abr. 2012. <https://doi.org/10.5398/medpet.2012.35.1.28>.