

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LUCAS COSTA RIBEIRO

LEPTOSPIROSE EM BOVINOS: REVISÃO E ASPECTOS REPRODUTIVOS

UBERLÂNDIA – MG

2022

LUCAS COSTA RIBEIRO

LEPTOSPIROSE EM BOVINOS: REVISÃO E ASPECTOS REPRODUTIVOS

Monografia apresentada a coordenação do curso graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito à aprovação na disciplina de Trabalho de conclusão de curso II.

Orientador: Profa. Dra. Anna Monteiro Correia Lima

UBERLÂNDIA – MG

2022

RESUMO

A leptospirose bovina é uma doença que gera prejuízos na produção, tanto de gado de corte quanto de gado leiteiro. Com boa parte dos seus sintomas já conhecidos, ela também compromete a questão reprodutiva. Embora a literatura aborde isso, ela geralmente menciona os problemas de parto prematuro, morte fetal, abortos e nascimento de bezerros fracos. O objetivo desse trabalho foi, primeiramente, realizar uma revisão geral a respeito da leptospirose e, posteriormente, evidenciar estudos para mostrar que, de fato, existem novos aspectos a serem estudados, como por exemplo, artigos que mostram que também existem problemas de subfertilidade e morte embrionária precoce relacionadas a leptospirose. Com esses pontos apresentados, médicos veterinários e produtores podem adquirir mais conhecimento para prevenir problemas na reprodução e consequente prejuízo.

Palavras-chave: Gado. Rebanho. Leptospira. Reprodutivo.

ABSTRACT

Bovine leptospirosis is a disease that causes losses in the production of both beef and dairy cattle. With a good part of its symptoms already known, it also causes reproductive disorders. Although the literature mentions it, most of the time it's related to premature calve, fetal death, abortion and weak calves. The objective of this work was, first, to carry out a general review about leptospirosis and, later, to highlight new studies to demonstrate that there are other aspects that needs to be consider. Recent papers relate bovine leptospirosis with subfertility and early embryonic loss in cattle. With these points presented, veterinarians and farmers can acquire more knowledge to prevent problems in reproduction and consequent losses.

Key words: Cattle. Herd. Leptospira. Reproductive.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	2
2.1 OBJETIVO GERAL.....	2
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3.1 AGENTE.....	3
3.2 TRANSMISSÃO.....	4
3.3 SINTOMAS.....	6
3.4 DIAGNÓSTICO.....	8
3.5 CONTROLE.....	11
4 DISCUSSÃO.....	13
5 CONCLUSÃO.....	14
REFERÊNCIAS.....	15

1 INTRODUÇÃO

Em Medicina Veterinária temos uma doença conhecida no mundo inteiro que afeta animais domésticos, silvestres e, inclusive, o ser humano: a leptospirose (CORREA et al. 2004). Essa doença foi constatada pela primeira vez em 1850, mas apenas em 1915 foi descoberto o agente etiológico e, desde então, pesquisadores de todo o mundo estudam a doença e seu agente (DE SOUZA, 2011).

A leptospirose bovina é uma das principais responsáveis pela queda de produção, tanto do gado de corte quanto do gado leiteiro. Seus sintomas variam e alguns são assintomáticos. (LOUREIRO et al, 2016). Entretanto, pesquisas e estudos recentes notam, cada vez mais, a influência da leptospirose na questão reprodutiva (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

Esses estudos mostram que, o impacto reprodutivo é maior do que se pensava e que se faz necessária considerar essa enfermidade em diagnósticos médico veterinário alinhado com produtores. Atualmente, casos como subfertilidade e morte embrionária precoce estão cada vez mais em evidencia (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

No artigo que foi a base desse trabalho (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020), os autores criaram uma nova nomenclatura para casos de leptospirose que acometem o trato genital, leptospirose genital bovina, em que a forma de diagnóstico tende a ser diferente do padrão utilizado na detecção de leptospiras pela urina.

Com isso, a importância dessa pesquisa está no fato de ser um alerta a todos os médicos veterinários e produtores rurais a respeito da leptospirose: uma doença negligenciada e perigosa, especialmente no sentido reprodutivo (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi realizar uma pesquisa para elucidar informações sobre a leptospirose no campo da reprodução bovina.

2.2 Objetivos específicos

Alertar os médicos veterinários e produtores sobre essas problemáticas para, com isso, diminuir as falhas reprodutivas e, conseqüentemente, melhorar a produção.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Agente

O agente causador da leptospirose, uma zoonose de distribuição mundial, é uma bactéria da família Spirochaetaceae, da ordem Spirochaetales, gênero *Leptospira* (TORTEN, 1979; FAINE, 1999; BARANTON, 1995; QUINN et al., 2005). Estudos revelam que, atualmente, são reconhecidos aproximadamente 200 sorovares (MYERS, 1985). Homens e animais domésticos ou silvestres são acometidos por essa enfermidade caracterizada por ser uma doença bacteriana infectocontagiosa (BATISTA et al., 2004).

As leptospiras são caracterizadas por serem bactérias Gram negativas e aeróbias obrigatórias. São microrganismos flexíveis com formato espiralado ou helicoidal, também apresentam endoflagelos e motilidade ativa. Em uma ou ambas extremidades podem apresentar forma de gancho (BARANTON, 1995; QUINN et al., 2005; VINH et al., 1986). Medem de 6 a 20 μm de comprimento por 0,1 a 0,2 μm de diâmetro e são fortemente espiraladas (BARANTON, 1995; QUINN et al., 2005; VINH et al., 1986).

Não são vistas em microscopia comum, porque seu índice de refração a luz é parecido com os das lâminas de vidro (TORTEN, 1979). Contudo, podem ser vistas em esfregaços através de prata impregnada em lâminas ou cortes histológicos de tecidos e também em um esfregaço de coloração negativa por nigrosina ou em fluorescência (OLIVEIRA, 1984). Sua estrutura possui parede celular e membrana plasmática que são envoltas por uma membrana externa composta de proteínas, fosfolípídeos e lipopolissacarídeos (LPS) também chamado de endotoxina, que pode ser um potente estimulador das respostas imunológicas (FAINE et al., 1999).

Quando são cultivadas em 30°C podem se reproduzir em um período de 7 a 12 horas (MYERS, 1985) e para seu crescimento o pH do meio está entre 7,2 e 7,4. Utilizam ácidos graxos específicos e glicose como fonte de energia e carbono (TORTEN, 1979).

A penetração no organismo hospedeiro, seja ele animais domésticos ou silvestres e também a espécie humana, se dá através da pele lesionada e das mucosas. Uma vez dentro do corpo, invadem rapidamente a corrente circulatória e se disseminam através

dos órgãos internos (OLIVEIRA, 1984). A invasão do tecido conjuntivo ocorre por movimentos semelhantes a um “saca-rolhas” (STAVITSKI, 1945).

Os bovinos são considerados hospedeiros de manutenção do sorovar Hardjo, uma vez que, apresentam elevada suscetibilidade à infecção. Essa sorovariabilidade possui dois genótipos: o Hardjobovis e Hardjoprajitno que causam grandes problemas reprodutivos em rebanhos de todo o mundo (ELLIS, 1994; GROOMS, 2006; OLIVEIRA et al., 2010). A infecção causada pelo genótipo Hardjobovis é amplamente encontrada em todo o mundo e se caracteriza por apresentar uma forma subclínica causando abortos. Diferentemente do genótipo Hardjoprajitno que foi isolado em poucos países, mas é considerado mais patogênico e ocasiona queda na produção leiteira e problemas reprodutivos (ELLIS, 1994; GIVENS; MARLEY, 2008).

3.2 Transmissão

A transmissão da leptospirose ocorre, normalmente, quando o animal tem contato com as excretas dos reservatórios de leptospira, ou seja, como em ambientes com presença de roedores, que são fontes de leptospirose, enchentes e áreas alagadas que favorecem com que a doença seja disseminada (CAVALCANTE, 2021).

A penetração do agente acontece através da pele com lesões, quando a pele está em contato direto com a água ou lama durante um tempo maior e também por meio do contato com mucosas (PELLISSARI et al. 2011). Entre o gado, pode ocorrer a transmissão da doença através da urina do próprio animal hospedeiro, não necessitando, assim, de uma outra espécie para transmitir a leptospirose. A contaminação pela urina do próprio gado é o principal fator de dispersão da doença no rebanho, uma vez que contamina pastagens, bebedouro e fontes de água; outro fator importante é que um bovino clinicamente recuperado pode eliminar leptospira por até um ano pela urina (CAVALCANTE, 2021).

Na questão reprodutiva, estudos mostram que existe contaminação pela via reprodutiva, através da eliminação no sêmen de touros (MASRI et al., 1997). Outro estudo mostrou que as Leptospiras podem seguir pelo trato reprodutivo sem necessidade dos espermatozoides, conseguindo chegar ao útero e oviduto, causando infecção (BIELANSKI, et al, 1998). Além disso, outro trabalho mostrou que pode existir o agente no corrimento vaginal de várias vacas (50,4%), sugerindo que estas, por conta do

ambiente da vagina, podem permanecer lá por um período desconhecido e causar, até mesmo, formação de biofilmes; o que sugere que também exista transmissão da fêmea para o macho (LOUREIRO et al., 2017).

As biotecnologias, constataram que essas bactérias podem sobreviver ao congelamento de sêmen, mas que são sensíveis aos antimicrobianos usados na preparação do sêmen diluído (GIVENS, 2018). Além disso, outros pesquisadores evidenciaram que embriões fertilizados in vitro podem ser infectados e danificados, e por isso o processo de lavagem múltipla é incapaz de liberá-los desse patógeno. Porém, o tratamento com penicilina e estreptomicina foi eficaz para remover a infecção (BIELANSKI et al, 1998).

Uma vez na corrente sanguínea a bactéria causa lesões primárias em função de sua ação em células endoteliais de revestimento vascular. O extravasamento de sangue para os diversos tecidos, que ocorre entre o quarto e o oitavo dia, é causado por lesões dos pequenos vasos, também podem aparecer trombos e interrupção do aporte sanguíneo quando o organismo está na fase aguda da infecção (FAINE, 1982; MARSHALL, 1986).

Em humanos, o envolvimento renal pode transitar de um curso subclínico, onde se tem ligeira proteinúria com anomalias do sedimento urinário, até uma nefrite intersticial aguda grave, com aparecimento de leucócitos e eritrócitos no sedimento urinário. Um aumento rápido da ureia sérica e da creatinina, associado ou não a icterícia, podem acontecer na lesão renal aguda (SITPRIJA; LOSUWANRAK; KANJANABUCH, 2003).

Nos túbulos renais, principalmente no túbulo proximal, são observadas disfunções, tais como redução na reabsorção proximal de sódio, glicosúria e excreção de ácido úrico e fosfato. Além de um déficit na concentração urinária que pode persistir por longos períodos (DAHER; ZANETTA; ABDULKADER, 2004). Também pode ocorrer aumento dos rins, verificados por exame ultrassonográfico, que voltam ao seu tamanho normal após o tratamento da leptospirose (YANG HY et al., 2005).

Os cães são hospedeiros do sorovar canicola, porém, são frequentemente hospedeiros acidentais do sorovar icterohaemorrhagiae encontrado em ratos (ACHA, 2013; GREENE, 1998). Uma vez dentro do organismo, a leptospira multiplica-se ativamente em órgãos parenquimatosos, sangue, linfa e líquido o que caracteriza o quadro agudo da doença, a leptospiremia (BOLIN, 1996). Contudo, quando a multiplicação do agente ocorre no endotélio vascular um quadro de vasculite generalizada acontece nos animais (CORRÊA E CORRÊA, 1992). Após essa fase, os microrganismos podem permanecer nos túbulos contorcidos proximais e por isso são eliminados na urina de

forma intermitente, ocasionando um quadro de leptospiúria. Essa eliminação renal ocorre de 72 horas após a infecção até semanas e a meses nos animais domésticos.

Aproximadamente dez dias a contar do início da infecção, anticorpos específicos entram na circulação e promovem a eliminação de leptospiras da corrente sanguínea e da maioria dos órgãos acometidos, fase conhecida por leptospiremia. Contudo, rim e trato genital são órgãos protegidos do sistema imune do hospedeiro, por isso os microrganismos localizados nesses locais podem persistir por períodos prolongados (FAINE, 1982).

Nos rins, essa persistência pode acarretar desde pequenos infiltrados inflamatórios focais até grandes lesões que são marcadas por atrofia dos túbulos, necrose celular e hemorragia renal. Com isso, as bactérias passam a se localizar na superfície do lúmen das células tubulares (FAINE, 1982).

A fase de leptospiúria é marcada pela eliminação das leptospiras pela urina, o que pode ocorrer por dias ou meses e acarreta a transmissão pela exposição a esse excremento (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

3.3 Sintomas

Na espécie humana, mais da metade dos indivíduos contaminados apresentam sintomas como febre alta com calafrios, dor de cabeça e dor muscular e 50% apresentam náuseas, vômitos e diarreia. Um sintoma comum da doença no ser humano é a hiperemia conjuntival (BRASIL, 2009b). A sintomatologia menos comum inclui tosse, faringite, dor articular, dor abdominal, manchas pelo corpo e aumento de linfonodos, baço e fígado. Sendo assim, os sintomas da leptospirose não diferem muito de várias outras doenças febris, o que dificulta seu diagnóstico (BRASIL, 2006a). Alguns casos da enfermidade podem se agravar e os pacientes contaminados costumam apresentar icterícia, sinalizando que o fígado não está funcionando corretamente (BRASIL, 2009a).

Em cães, os sinais clínicos de leptospirose diferem de humanos e bovinos. Nessa espécie é possível observar na infecção aguda, letargia, mialgia, halitose, úlceras bucais, icterícia, petéquias, depressão, anorexia, vômitos, febre, poliúria, polidipsia, dor abdominal e/ou lombar, diarreia e sufusões em mucosas e conjutivas. Com o agravamento desses sinais, esse quadro pode, rapidamente, evoluir para o óbito, mesmo que o tempo

para o desenvolvimento da doença renal e hepática seja pequeno (GREENE, 1998; NELSON E COUTO, 2001; CORRÊA E CORRÊA, 1992).

Nos bovinos, a suscetibilidade a leptospirose depende de alguns fatores, tais como a idade, o sexo, o estado fisiológico e a densidade populacional. Animais de ambos os sexos são susceptíveis a doença, contudo, as perdas mais significativas ocorrem nas fêmeas (TORTEN, 1979). Em animais mais jovens, a infecção ocorre de maneira mais severa, principalmente quando acontece nos primeiros meses de vida. Em bezerros os principais sinais clínicos são febre, icterícia e hemoglobinúria, apresentando elevada letalidade (FENNESTAD, 1963; GUIMARÃES, 1982; OLIVEIRA, 1984).

Em bovinos adultos, os sintomas da enfermidade relacionam-se mais a esfera reprodutiva, sendo mais observados na vaca, onde os sinais clínicos estão relacionados com abortos, mastite, diminuição da produção leiteira e infertilidade, mas a letalidade é baixa e ocorre devido a complicações do aborto (FENNESTAD, 1963; GUIMARÃES, 1982; OLIVEIRA, 1984). No gado leiteiro, ocorre o aparecimento da mastite flácida (Síndrome da Queda do Leite ou “Milk Drop Syndrome”) com diminuição da produção leiteira. Essa diminuição pode durar de dois a dez dias e caracteriza-se por apresentar leite de cor amarelada, com consistência de colostro, grumos grosseiros e elevada contagem de células somáticas, o que a diferencia de mamites comuns (FAINE et al., 1999; HIGGINS et al., 1980; PEARSON et al., 1980). Essa síndrome relaciona-se mais ao sorovar Hardjo (ELLIS, 1984).

Quando caracterizada, a leptospirose bovina pode se dividir em duas síndromes: a que bovinos adquirem através de outros animais e também a bovina adaptada, que é mantida pelo próprio gado (ELLIS, 2015). Normalmente a forma mais diagnosticada é a crônica, pois a aguda costuma ser incomum e acontece principalmente em bezerros. Em bovino adulto, existem altas taxas de aborto depois de semanas após a fase aguda da leptospirose (DELOOZ, 2018). A forma aguda da doença ocorre normalmente de forma subclínica (frequentemente causada pelo sorogrupo Sejroe) e faz com que não se dê a atenção necessária para a doença. A atenção ocorre quando uma vaca com a forma aguda da doença manifesta agalactia (ELLIS, 2015).

A forma crônica é subclínica e silenciosa e, embora o aborto seja conhecido nesses casos, está associada a subfertilidade e morte embrionária precoce. E essa negligência sobre essas questões resultam em um problema sério em relação a reprodução desses

animais e consequente perda econômica do produtor, sem ele mesmo entender o que está causando tudo isso (LIBONATI, 2018).

Além da morte embrionária precoce, tem-se também a repetição de cio, em que está evidenciada uma correlação desses sintomas com a sororreatividade do sorogrupo Sejroe (ROCHA, 2018). Embora não exista uma boa patogênese que explique a associação desses sintomas descobertos e a leptospirose. Mas alguns estudos mostram a presença de leptospirosas no corrimento vaginal (LOUREIRO, 2017), no útero (ELLIS, 1986) e no oviduto (BIELANSKI, 1998).

Além disso, um estudo feito de forma experimental em laboratório conseguiu mostrar que as bactérias conseguem invadir a zona pelúcida, entrando em contato com as células embrionárias, resultando em danos ao citoplasma e às membranas do embrião (BIELANSKI, 1998).

Devido à falta de informação que existe a respeito do tema, analogias são necessárias através de outras espécies, como por exemplo, um estudo induzindo cadelas à leptospirose, em que foi constatado que o agente pode causar danos ao endométrio e iniciar uma resposta inflamatória, podendo interromper o desenvolvimento do embrião. Existem, então, duas maneiras deste dano ocorrer, seja pela inflamação uterina ou pela invasão do embrião de forma direta, mas existem casos que as duas formas podem ocorrer (WANG, 2014).

3.4 Diagnóstico

O diagnóstico de Leptospirose possui três bases: o diagnóstico epidemiológico, o clínico e o laboratorial.

O diagnóstico epidemiológico refere-se a informações como baixa eficiência reprodutiva no rebanho, presença de grandes quantidades de roedores, período do ano em que mais ocorre, verificando se coincidem com épocas de chuvas, e sinais clínicos sugestivos da doença. Esse conjunto de fatores podem colaborar para um diagnóstico presuntivo de Leptospirose (GUIMARÃES et al., 1982-1983).

O diagnóstico clínico é dificultado no início, pois na leptospirose bovina os sintomas são comuns a outras enfermidades. Por isso é de extrema importância que o médico veterinário relacione as três bases de diagnóstico (FAINE et al., 1982; ELLIS, 1984).

O diagnóstico laboratorial da doença pode ser confirmado mediante diferentes métodos laboratoriais, que se baseiam na detecção de anticorpos, na detecção direta ou indireta do agente ou do material genético da bactéria na urina ou nos tecidos (SANTA ROSA, 1970; FAINE et al., 1999). O exame realizado em microscópio de campo escuro possui maior sensibilidade, quando realizado imediatamente após a colheita da urina, uma vez que é possível visualizar a morfologia e motilidade das leptospiras, esse método de diagnóstico é bastante usado durante a fase de leptospirúria. Contudo, o teste apresenta algumas limitações no seu uso, pois, apresenta baixa sensibilidade, necessita de um patologista clínico veterinário experiente, que consiga diferenciar leptospiras de artefatos presentes nas amostras e também é necessário que exista eliminação intermitente do agente pela urina (SANTA ROSA, 1970; THIERMAN, 1982).

Outro teste laboratorial baseia-se no isolamento das leptospiras, principalmente em amostras de urina, de órgãos como o útero e rim e produtos de abortamento de bovinos. Quando o microrganismo é isolado, é possível identificar o sorovar infectante e fechar o diagnóstico definitivo da doença (ELLIS et al., 1982; VASCONCELLOS, 1987-1997; FAINE et al., 1999). A complicação deste exame está na demora e na dificuldade em conseguir isolar as bactérias, o que acaba restringindo a poucos laboratórios a sua realização, porque se faz necessário um local adequado para manter os animais que são possíveis candidatos a eliminar leptospiras patogênicas na urina. As chances de isolamento em cultivo são aumentadas quando é possível processar a amostra rapidamente, utilizar meios de transporte e cultivo que atendam às exigências nutricionais do agente causador da doença e técnicas como a de diluições seriadas (THIERMANN, 1984).

As detecções de anticorpos podem ser utilizadas com a prova de soroaglutinação microscópica (SAM), um método de referência para o diagnóstico preconizado pela Organização Mundial de Saúde (SANTA ROSA, 1970; FAINE et al., 1999). Porém, para sua realização é necessária que o laboratório possua uma boa estrutura e pessoal qualificado (SMITH et al., 1994). Esse teste baseia-se na reação entre antígenos de natureza lipopolissacarídica, que são encontrados na superfície das leptospiras, e seus respectivos anticorpos (BALDWIN et al., 1987). Utilizando-se desta técnica os anticorpos IgM e IgG reagem com o antígeno vivo e formam aglutinações visíveis através do microscópio de campo escuro (SANTA ROSA, 1970; GUIMARÃES, 1982/1983; GÍRIO et al., 1990; LEVETT, 2004).

A interpretação desse exame é complexa, pois a SAM é um teste sorogrupo específico e pode acontecer reações cruzadas com outros sorotipos, principalmente quando o animal está na fase aguda da doença (FAINE, 1994; RENTKO, 1992). Embora esse teste possua alta especificidade, sua sensibilidade diminui à medida que o tempo em que o animal está infectado aumenta, incluindo que também não é possível diferenciar se os títulos de anticorpos são de imunizantes ou não (WILLIA; BANARD, 1995).

As leptospirosas podem ser detectadas na urina e órgãos, utilizando-se a interação entre antígenos e anticorpos marcados por imunofluorescência e imunoperoxidase (BASKERVILE, 1986). A utilização da reação em cadeia de polimerase (PCR) vem crescendo para o diagnóstico da leptospirose, quando utilizada em fluidos orgânicos e órgãos de várias espécies animais (HEINEMANN et al., 1999). O teste ELISA (Ensaio de Imuno Absorção Enzimática) também pode ser utilizado como método de diagnóstico pois utiliza apenas frações bacterianas e não necessita do antígeno vivo (YAN et al., 1999).

Alguns trabalhos afirmam que os sintomas da leptospirose no sistema reprodutivo de bovinos acabam sendo mal interpretados. Atualmente o método padrão para detecção de leptospirosas é baseado, principalmente, no teste de aglutinação microscópica (MAT) (OIE, 2008). Contudo esse teste se torna mais eficaz quando empregado na espécie humana e em cães, os bovinos, que são infectados por cepas adaptadas, podem apresentar baixos títulos de anticorpos (BREHM et al., 2018; ROCHA et al., 2018; LIBONATI, 2017). Bovídeos infectados com o agente podem abortar ou serem portadores genitais e mesmo assim apresentar baixos títulos de anticorpos, que não serão detectados por MAT (OIE, 2008; HAMOND et al., 2014; LIBONATI et al., 2017).

A sorologia pode ser utilizada para o diagnóstico da leptospirose bovina, porém, embora seja útil para um diagnóstico coletivo, não é um método de primeira escolha para detectar indivíduos infectados (OIE, AHS et al., 2008; HAMOND, C. et al., 2014; LIBONATI, H. et al., 2017). Neste cenário, é importante a detecção direta de portadores individuais para um diagnóstico adequado (LOUREIRO, 2021). Falando em produtividade de rebanhos bovinos, as perdas de prenhez, subfertilidade e repetições de cio são causadas pela presença de leptospirosas no trato reprodutivo, e por isso o status de portadores genitais dificultam a detecção do agente na urina (LOUREIRO et al., 2017). Na leptospirose genital bovina (BGL), o útero é o órgão com maior envolvimento, e portanto, amostras podem facilitar o diagnóstico, porém, embora sejam facilmente

colhidas em bovinos abatidos, em animais vivos, a colheita é dificultada devido ao tempo gasto para adquirir fragmentos ou lavados uterinos e o conhecimento técnico necessário (ELLIS et al., 2015; BIELANSK et al., 1998; ROCHA et al., 2018).

Atualmente, ainda não existe um padrão estabelecido para a colonização uterina e com isso a colheita de uma única amostra, pode não ser suficiente para representar o órgão em sua totalidade. Como alternativa, pode ser utilizado o corrimento vaginal, uma vez que, pode ser coletado de maneira rápida e fácil, independente da fase do ciclo estral e não necessita de mão de obra especializada. Esse método já é utilizado para o diagnóstico de outras patologias infecciosas reprodutivas como Campilobacteriose e Tricomoniase (ADNANE, et al., 2017; ALBREY et al., 2016).

O método de cultura não é um usado no dia a dia, pois é inviabilizado em diagnósticos de rebanho, uma vez que possui um alto valor agregado e requer verificações semanais de crescimento. Também pode ocorrer contaminação, uma vez que, em campo a possibilidade de coletar amostras de corrimento vaginal puro é difícil (PINNA et al., 2013; CHIDEROLI et al., 2017). Paralelamente, o uso de reação em cadeia de polimerase (PCR) possui crescente aceitação no diagnóstico individual de leptospira em rebanhos, já que fornece uma alta sensibilidade comparado com a cultura, mesmo que a maioria dos protocolos utilizados em PCR sejam projetados para amostras de urina ou tecido, é possível realizar uma adaptação para o uso em amostras de corrimento vaginal, tanto em vacas abatidas, como em animais vivos que apresentarem sintomas reprodutivos (HAMOND et al., 2014).

3.5 Controle

Devido à grande variedade de animais selvagens que são reservatórios, o controle da leptospirose é, consideravelmente, difícil (LOUREIRO et al. 2020). Entretanto, para conseguir diminuir os efeitos dessa enfermidade no rebanho, deve-se usar antibioticoterapia, especialmente a conhecida estreptomicina, vacinação de bacterinas de células inteiras e manejo adequado, principalmente em terrenos alagados ou lamacentos (MARTINS et al. 2017).

Contudo, quando se fala da doença crônica, que está associada a leptospiras adaptadas, seu controle é ainda mais complicado por ser uma doença endêmica, fazendo com que o cuidado com o ambiente seja pouco relevante; por ser uma doença na parte de

reprodução, recomenda-se o uso de vacina e inseminação artificial para evitar a transmissão sexual (MUGHINI-GRAS et al. 2014).

No controle da leptospirose bovina, os antimicrobianos são importantes e bastante utilizados na rotina clínica. No início da infecção, para diminuir o número de animais infectados e minimizar a transmissão de animal para animal, utiliza-se antibióticos. A dihidroestreptomicina é o medicamento recomendado para eliminar o estado de portador renal dos bovinos. Nos Estados Unidos, animais que não são utilizados com a finalidade de alimentação humana, outros medicamentos como a oxitetraciclina, outilmicosin ou ceftiofur são utilizados com resultados satisfatórios em rebanhos bovinos (JAMAS et al., 2020).

A medida de controle menos dispendiosa para a doença é a imunização e, portanto, sua implantação nos rebanhos é essencial, pois além da prevenção, a vacinação é um fator de proteção contra a repetição do estro ocasionada pela leptospirose. Contudo, são disponibilizadas comercialmente apenas bacterinas que possuem eficácia questionável, como vacina para controlar perdas reprodutivas. Para que isso ocorra, é necessário combinar antimicrobianos, para que a infecção seja controlada, até que a imunidade seja induzida pela vacinação e / ou administração completa da vacina, antes da estação de monta. Nos rebanhos de bovinos leiteiros, o sorovar Hardjo é um dos mais importantes e mais frequentes e por isso quando a vacina é produzida com esse sorovar, foi verificado a redução em casos de abortos e mastites, após um período de dois anos de imunizações (JAMAS et al., 2020).

Além disso, a identificação do sorovar é de extrema importância para se ter conhecimento do tipo preponderante na propriedade. Alguns deles indicam ser de sorovares que não são mantidos por bovinos e sim por animais silvestres, que estão sendo fontes de infecção (Icterohaemorrhagiae, Bataviae e Pomona). Em casos assim, o controle é facilitado, pois tendo medidas de higiene e tecnificação da criação, consegue-se estabelecer a profilaxia desse sorovar. Quando se descobre que o sorovar é o Hardjo, deve-se negar a introdução de novos animais no rebanho (ao menos que estejam tratados com antibioticoterapia correta ou com sorodiagnóstico negativo). Aos sororeagentes, usar dihidroestreptomicina 25mg/kg em dose única, além da imunidade com vacinas que tenham as principais soroviedades presentes na região da propriedade (DEL FAVA et al. 2003).

Os dois genótipos pertencem a espécies diferentes, e por esse motivo em vacinas não induzem imunidade cruzada (PEROLAT et al., 1994; MOREY et al., 2006; RAMADAS et al., 1990). A dificuldade para identificar a sorovariedade infectante faz com que os laboratórios acabem produzindo vacinas contendo mais de uma sorovar, com objetivo de atender uma diversificada demanda. Mas a resposta imunológica das vacinas anti-leptospiras é específica para cada sorovar, e por isso o uso de vacinas comerciais se torna uma medida profilática ineficiente (RODRIGUES et al., 2011). Por esse motivo, a elaboração de vacinas deve ser realizada com um número diminuto de soroviedades, dando atenção para aquelas que são endêmicas na região (BOLIN, 2001; ARAUJO et al., 2005).

Por esse motivo, é importante realizar estudos sobre quais leptospiras são mais presentes em cada rebanho, ou seja, realizar a caracterização dos sorovares de maneira individual para cada propriedade, e com isso desenvolver vacinas específicas (FAINE et al., 1999; CHIARELI et al., 2012). Com a inclusão de vacinas contendo soroviedades que estão presentes na infecção dos animais, a imunidade será mais eficiente e duradora e conseqüentemente controlam a doença e eleva os índices reprodutivos da produtividade animal (BOLIN, 2001; ARDUINO et al., 2009).

Porém, não pode deixar de realizar o combate aos roedores, utilizando produtos químicos ou físicos para impedir ao máximo o contato dos animais na propriedade. Outro ponto é o destino correto do lixo produzido no local, além de treinamento de manejo para com os funcionários da propriedade. E tão importante quanto, é o saneamento básico. Todos esses fatores conseguem, com diferentes graus de eficiência, conter os roedores (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

4. DISCUSSÃO

A leptospirose bovina possui características subclínicas se comparado a outras espécies. No humano e no cão observa-se a doença se manifestando de uma forma mais severa e aguda, enquanto no bovino isso não acontece da mesma forma, ocorrendo de forma subclínica e fazendo ela passar despercebida por muita gente, inclusive por médicos veterinários e produtores. É interessante que essas pessoas possam ter mais conhecimento a respeito do assunto, para que possa ser tratado de forma prioritária. Pode ser que determinada propriedade tenha um insucesso na parte reprodutiva com vacas em

constante repetição de cio e os envolvidos na produção não tenham noção do que pode estar acontecendo. O simples conhecimento a respeito do mal que a leptospirose pode causar com a morte embrionária precoce e outros malefícios, pode fazer com que a área da reprodução possa conseguir progredir cada vez mais, diminuindo a subfertilidade e consequentemente aumentar a prosperidade das fazendas (LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

5. CONCLUSÃO

Esse estudo mostrou que a leptospirose bovina, deve ser levada a sério por produtores e médicos veterinários.

Seu impacto reprodutivo é maior do que se pensava e negligenciar isso é ter como consequência, um rebanho mais improdutivo, cuja parte reprodutiva fica bastante comprometida.

Que esse estudo sirva como uma revisão a respeito do tema, e principalmente, um alerta a todos, para que se volte a combater de maneira efetiva a leptospirose bovina, inclusive em sua forma reprodutiva.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales. 3.ed. **Washington: Organizacion Panamericana de la Salud**, 2001.

ADLER B., DE LA PEÑA A.M. **Leptospira and leptospirosis. Vet Microbiol.** 2010;140 (3-4):287-96.

ARAUJO, V.E.M.; MOREIRA, E.C.; NEVADA, L.A.B.; SILVA, J.A.; CONTRERAS, R.L. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.430-435, 2005.

ARDUINO, G.G.C.; GIRIO, R.J.S.; MAGAJEVSKI, F.S.; PEREIRA, G.T. Títulos de anticorpos aglutinantes induzidos por vacinas comerciais contra leptospirose bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p.575-582, 2009

AUBREY N., MICHI P.H.F., KASTELIC J., COBO E.R. A review of sexually transmitted bovine trichomoniasis and campylobacteriosis affecting cattle reproductive health, **Theriogenology**, Volume 85, Issue 5, Pages 781-791 (2016).

AYMÉE, L., GREGG, W.R.R., LOUREIRO, A.P., DI AZEVEDO, M.I.N., PEDROSA, J.S., MELO, J.S.L., CARVALHO-COSTA, F.A., SOUZA, G.N., LILENBAUM, W. Bovine Genital Leptospirosis and reproductive disorders of live subfertile cows under field conditions, **Veterinary Microbiology**, Volume 261, 44-45 (2021).

BARANTON, G.; OLD, I. G. The Spirochaetes: a different way of life. **Bulletin de l'Institut Pasteur**, Paris, v. 93, n. 2, p. 63-95, Out. 1995.

BASKERVILE, A. (1986). Histopathological aspects of diagnosis of leptospirosis. In: Ellis, W. A. & Little, T. W. A. (eds). **The present state of leptospirosis diagnosis and control**. Neorthern Ireland: [sn], p.33-43.

BATISTA, C. S. A. et al. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n.2, p. 131-136, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjvras/v41n2/25230.pdf>>. Acesso em: 26 jul 2022.

BIELANSKI A., SURUJBALLE O., GOLSTEYN T.E., TANAKA E. Sanitary status of oocytes and embryos collected from heifers experimentally exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjobovis. **Anim Reprod Sci** 1998;54-234e6.

BOLIN, C.A.; ALT, D.P. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. **American Journal of Veterinary Research**, v.62, p.995-1000, 2001.

BOLIN, C A . Diagnosis of letospirosis : Areernergingdis e as e of companion animals. **Sem. Vet. Med. Surg.** v. 11, n. 3, p.166 - 171, 1996.

BRASIL, **Vigilância e controle das doenças transmissíveis**, 2º edição, organizadoras, Zenaide neto Aguiar, Maria Celeste soares ribeiro, editora Martinari, 2006a, 375 pg. 207 a 209.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Leptospirose. In:Ministério da Saúde.Guia de vigilância epidemiológica.7a ed. **Brasília: Ministério da Saúde**; 2009.cad.8, p.15.

BRASIL, Ministério da saúde. **Leptospirose sintomas e tratamento**. 2009a. Disponível em: <<http://www.mdsaude.com/2009/12/leptospirose.html>. > Acesso em: 08 ago 2022.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Leptospirose: Diagnóstico e Manejo Clínico**/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, 2009b.

BREHM, T.T. et al. Epidemiology, clinical and laboratory features of 24 consecutive cases of leptospirosis at a German infectious disease center. **Infection** 46, 847–853 (2018).

CAVALCANTE, FA. Leptospirose bovina: cuidados preventivos evitam prejuízo e garantem saúde do rebanho. **Embrapa Acre-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E)** (2021).

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

CHIDEROLI RT. et al. Culture Strategies for Isolation of Fastidious Leptospira Serovar Hardjo and Molecular Differentiation of Genotypes Hardjobovis and Hardjoprajitno. **Front Microbiol.** 2017 Nov 2;8:2155.

CORRÊA, S.H.R. et al. Epidemiologia da Leptospirose em animais silvestres na Fundação Parque Zoológico de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** [online]. 2004, v. 41, n. 3 [Acessado 28 Julho 2022] , pp. 189-193.

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

DAHER, E.D.F., ZANETTA D.M.T., ABDULKADER R.C. (2004). Pattern of renal function recovery after leptospirosis acute renal failure. **Nephron Clinical Practice**, 98(1), c8-c14.

DE SOUZA, V. R. (2011). *Leptospirose: aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais*. Trabalho de conclusão de curso (Pós-graduação em Análises Clínicas e Gestão de Laboratório)–**Universidade Vale do Rio Doce**, Minas Gerais.

DEL FAVA C. et al. Manejo sanitário para o controle de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção semi-intensivo. **Arquivos do Instituto Biológico** [Internet]. 2003[cited 2020 Mar 9];70(1):25-33. Available from: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V70_1/delfava.pdf.

DELOOZ L. et. Serogroups and genotypes of *Leptospira* spp. strains from bovine aborted foetuses. **Transbound Emerg Dis** 2018;65:158e65.

ELLIS, W.A., O'BRIEN J.J., NEILL S.D., FERGUSON H.W., HANNA J. (1982). Bovine leptospirosis: Microbiological and serological findings in aborted fetuses. **Veterinary Record**, 110, 147-150.

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

ELLIS W.A, THIERMANN A.B. Isolation of leptospire from the genital tracts of Iowa cows. **Am J Vet Res** 1986;47:1694e6.]

ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.10, p.463-78, 1994.

ELLIS, W.A. (2015). Animal Leptospirosis. In: Adler, B. (eds) *Leptospira and Leptospirosis*. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, vol 387. 99e137. Springer, Berlin, Heidelberg.

FAINE, S. Guidelines for the control of leptospirosis. 2nded. **Geneva:World Health Organization**; 1982.p.1-98.

FAINE, S. Guidelines for the control of leptospirosis. **Geneva: World Health, Organization**, (1982). 171p. (Who off set Publication, 67).

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

FAINE, S. et al. *Leptospira and leptospirosis*. Melbourne: **MediSci**, 1999, v. 2.

FAINE, S., ADLER B, BOLIN C, PEROLAT P. (1999). *Leptospira and leptospirosis*. 2nd ed. Melbourne, **Austrália: Medicine Science**, 272p.

FENNESTAD, KL **Experimetal leptospirosis in calves** Copenhagen, 1963. 146 p. Tese the Royal Veterinary and Agricultural College. Copenhegem, 1963.

GÍRIO, R.J.S, SILVA, R.A.P, FRANCESCHINI P.H, SCHALCH U.M., SCHALCH F. J. Estudo da possível influência da leptospirose sobre determinadas características reprodutivas em fêmeas bovinas leiteiras. **Ciência Veterinária**, v.4, n.1, 1990.

GIVENS M.D.; MARLEY, M.S.D. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. **Theriogenology**, v.70, p.270-285, 2008.

GREENE, C. E.; MILLER, M. A.; BROWN, C. A. Leptospirosis. In: **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 2 ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 1998.

GROOMS, D.L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhea virus and leptospirosis. **Theriogenology**, v.66, p.624-628, 2006.

GUIMARÃES, M. C.; CÖRTEZ, J.; VASCONCELOS, S. A. & Ito, F. H. 1982/1983. Epidemiologia e controle da leptospirose bovina. Importância do portador renal e do seu controle terapêutico. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, 6/7, 1-4.

HAMOND, C., MARTINS, G., LOUREIRO, A.P. et al. Urinary PCR as an increasingly useful tool for an accurate diagnosis of leptospirosis in livestock. **Vet Res Commun** 38, 81–85 (2014).

HIGGINS, R.J.; HARBOURNE, J.F.; LITTLE, T.W.A.; STEVENS, A.E. Mastitis and abortion in dairy cattle associated with *Leptospira* serotype hardjo. **Vet. Rec** v.107, p. 307-10, 1980.

JAMAS, L. T., BARCELOS, R. R., MENOZZI, B. D., & LANGONI, H. (2020). Leptospirose bovina. **Veterinária e Zootecnia**, 27, 1-19.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LIBONATI H. A, SANTOS G. B, SOUZA G. N, BRANDAO, F.Z, Lilenbaum W. Leptospirosis is ~ strongly associated to estrus repetition on cattle. **Trop Anim Health Prod** 2018;50:1625e9.

LIBONATI, H., PINTO, PS., LILENBAUM, W. Seronegativity of bovines face to their own recovered leptospiral isolates. **Micr pathog**, 108, 101-103 (2017).

LOUREIRO, A.P et al. High frequency of leptospiral vaginal carriers among slaughtered cows, **Anim Reprod Sci**, Volume 178, Pages 50-54 (2017).

LOUREIRO, A. P et al. (2016). Detecção de *Leptospira* sp. em muco cervico-vaginal de vacas sugere importância do portador vaginal na epidemiologia da leptospirose bovina. **Revista De Educação Continuada Em Medicina Veterinária E Zootecnia Do CRMV-SP**, 14(2), 93-93.

LOUREIRO, Ana P., LILENBAUM, Walter, Genital bovine leptospirosis: A new look for an old disease, **Theriogenology**, Volume 141, Pages 41-47 (2020).

MARSHALL, RB. The route of entry of leptospires into the kidney tubule. **J Med Microbiol** 1976; 9:149-52.

MARTINS G, LILENBAUM W. Control of bovine leptospirosis: aspects for consideration in a tropical environment. **Res Vet Sci**.2017;112:156-60.

MASRI, SA., NGUYEN, PT., GALE, SP., HOWARD, CJ., JUNG, SC. A polymerase chain reaction assay for the detection of *Leptospira* spp. in bovine semen. **Can J Vet Res** 1997;61:15e20.

MOREY, R.E.; GALLOWAY, R.L.; BRAGG, S.L.; STEIGERWALT, A.G.; MAYER, L.W.; LEVETT, P.N. Species-specific identification of *Leptospiraceae* by 16S rRNA gene sequencing. **Journ of Clin Microb**, v.44, p.3510-3516, 2006.

MOUNIR ADNANE et al. Profiling inflammatory biomarkers in cervico-vaginal mucus (CVM) postpartum: Potential early indicators of bovine clinical endometritis?, **Theriogenology**, Volume 103, Pages 117-122 (2017).

MUGHINI-GRAS L, BONFANTI L, NATALE A, COMIN A, FERRONATO A, LA GRECA E et al. Application of an integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds. **Epidemiol Infect.**2014;142(6):1172-81.

MYERS, D. M. Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis **Centro Panamericano de Zoonosis**, 1985, 46 p.y.v. NBR 6023.

OIE. Organization International of Epizooties. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. Chapter 2.3.1. Bovine brucellosis. 2008a. Disponível em: <http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_INDEX.HTM>. Acesso: 27 jul 2022.

OLIVEIRA, S.J. Leptospira. In: GUERREIRO, M.G., OLIVEIRA, S.J., SARAIVA, D. et al. **Bacteriologia Especial Porto Alegre**. RS: Sulina. 1984. Cap. 39, p. 463-483.

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

PELLISSARI, D. M., MAIA-ELKHOURY, A. N. S., ARSKY, M. D. L. N. S., & NUNES, M. L. (2011). Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000-2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 20(4), 565-574.

PEROLAT, P.; MERIEN, F.; ELLIS, W.A.; BARATON, G. Characterization of *Leptospira* isolates from serovar hardjo by ribotyping, arbitrarily primed PCR, and mapped restriction site polymorphisms. **Journal of Clinical Microbiology**, v.32, p.1949-1957, 1994.

PEARSON, J.K.L., MACKIE, D.P., ELLIS, W.A. Milk drop syndrome resulting from *Leptospira hardjo*. **Vet. Rec** v.107, p. 135-37, 1980.

PINNA A, MARTINS G, SOUZA G, LILENABUM W. Influence of seroreactivity to leptospira and reproductive failures in recipient mares of equine embryo transfer programmes. **Reprod Domest Anim**. 2013 Aug;48(4):e55-7.

QUINN, P. J. et al. Espiroquetas. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.179-188.

RAMADAS, P.; MARSHALL, R.B.; JARVIS, B.D. Species differentiation of *Leptospira interrogans* serovar hardjo strain Hardjobovis from strain Hardjoprajitno by DNA slot blot hybridization. **Research in Veterinary Science**, v.49, p.194-197, 1990.

RENTKO, V. T.; CLARK, N.; ROSS, L. A. (1992). Canine leptospirosis. A retrospective study of 17 cases. **Journal Veterinary International Medical**, 6, 235-244.

ROCHA BR. et al. Chronic experimental genital leptospirosis with autochthonous *Leptospira santarosai* strains of serogroup Sejroe. **Small Rumin Res** 2018;164:28e31.

RODRIGUES, R.O.; HERRMANN, G.P.; HEINEMANN, M.B.; LAGE, A.P.; LOPES, L.B.; MOREIRA, E.C. Comparação entre a imunidade induzida em bovinos vacinados com bacterinas polivalentes comerciais e uma monovalente experimental. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, p.10-16, 2011.

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; GIORGI, W.; SILVA, A. S.; YANAGUITA, R. M. & Lobão, A. O. (1975). Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of a new serotype in pyrogenes group. **Amer Journ of Vet Res**, 36, 363-365.

STAVITSKI, A. B. Studies on pathogenesis of leptospirosis. **J Infect Dis**, v. 76, n. 3, p. 179-192, 1945.

THIERMANN, A. B. (1984). Isolation of leptospire in diagnosis of leptospirosis. **Mod Vet Prat**, 5, 758-759.

TORTEN, M. Leptospirosis. In: STEELE, J. H. CRC Handbook Series in Zoonoses Florida: **CRC Press**, 1979. p. 363-421.

VASCONCELOSS, S. (2004). Laboratory diagnosis of leptospirosis in animals. In: Simposio Internacional Sobre Leptospira y Leptospirosis En las Américas. México, Dc.: **Divisões educación continua dela Univ Nac Aut de Méx. México**. [Anais...], 1, 70-76.

VINH, T; ADLER, B. E. N.; FAINE, S. Ultrastructure and chemical composition of lipopolysaccharide extracted from *Leptospira interrogans* serovar copenhageni. **Microbiology**, v. 132, n. 1, p. 103-109, 1986.

WANG W et al. *Leptospira interrogans* induces uterine inflammatory responses and abnormal expression of extracellular matrix proteins in dogs. **Microb Pathog** 2014;75:1e6.

WILLIAN, V.; BERNARD, D.V. M. (1995). Leptospirosis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, 9, 435-443.

YANG HY et al. Clinical distinction and evaluation of leptospirosis in Taiwan- a case-control study. **J Nephrol** 2005; 18:45-53.