

LEPTOSPIROSE BOVINA: SEROLOGIA NA BACIA LEITEIRA DA REGIÃO DE LONDRINA, PARANÁ, BRASIL

BOVINE LEPTOSPIROSIS: SEROLOGY AT DAIRY FARMS IN LONDRINA REGION, PARANÁ STATE, BRAZIL

Cibele Giatti Rodrigues¹ Ernst Ekehardt Müller² Julio Cesar de Freitas³

RESUMO

Uma avaliação sorológica para 22 sorotipos de *L. interrogans* foi realizada. Usou-se o teste de microaglutinação rápida no soro de 1253 fêmeas bovinas, adultas de 14 propriedades produtoras de leite tipo B, da região de Londrina-Paraná-Brasil, onde havia animais com problemas reprodutivos. Títulos de anticorpos ≥ 100 foram detectados em 166 (13,25%) animais de 10 (71,43%) propriedades. Em 56 (33,73%) animais foram encontrados anticorpos contra dois ou mais sorotipos simultaneamente. Anticorpos contra o sorotipo *icterohaemorrhagiae* foram detectados em 48 (28,91%) animais, seguido pelos sorotipos *pomona* 35 (21,08%); *bataviae* 28 (16,87%); *autumnalis* 24 (14,46%); *canicola* 19 (11,44%); *hardjo* 18 (10,84%); *bratislava* 17 (10,24%); *butembo* 13 (7,83%); *pyrogenes* 12 (7,22%); *hebdomadis* 11 (6,63%) e *wolffi* 10 (6,02%).

Palavras-chave: bovino, *Leptospira interrogans*, sorologia.

SUMMARY

A serological survey for leptospirosis was performed in farms that had cows with reproductive problems, in the region of Londrina, Paraná State, Brazil. Twenty-two serotype of *L. interrogans* were investigated, using rapid microscopic agglutination test in 1253 serum samples. One-hundred-sixty-six serum samples (13.25%) from 10 farms (71.43%) presented antibodies against *L. interrogans*. Antibodies against two or more *L. interrogans* serotypes were found in 56 animals. Antibodies against the serotype *icterohaemorrhagiae* were found in 48 (28.91%) animals, whereas antibodies against *pomona* were found in 35 (21.08%), *bataviae* in 28 (16.87%), *autumnalis* in 24 (14.46%), *canicola* in 19 (11.44%), *hardjo* in 18 (10.84%), *bratislava* in 17 (10.24%), *butembo* in 13 (7.83%), *pyrogenes* in 12 (7.22%), *hebdomadis* in 11 (6.63%) and *wolffi* in 10 (6.02%).

Key words: bovine, *Leptospira interrogans*, serological survey.

INTRODUÇÃO

A leptospirose bovina encontra-se amplamente difundida no mundo. Levantamentos sorológicos estimam uma prevalência de 15,0% no rebanho bovino norte americano (THIERMANN, 1984). No Brasil, os resultados sorológicos de bovinos obtidos por vários autores (ÁVILA *et al.*, 1978; MOREIRA *et al.*, 1979; GIORGI *et al.*, 1981; RIBEIRO *et al.*, 1988; GIRIO & MATHIAS, 1989; BROD *et al.*, 1995) também mostraram que a infecção está bastante difundida. Segundo TEDESCO (1997), a leptospirose em bovinos é uma doença ainda em expansão em nosso país. Atualmente, o sorotipo *hardjo* tem sido o mais frequentemente detectado e o que causa maior impacto econômico na eficiência reprodutiva de rebanhos de bovinos de diversas partes do mundo (SALMAN, 1990; MILLER *et al.*, 1991; MOREIRA *et al.*, 1993; MOREIRA *et al.*, 1994; BROD *et al.*, 1995; LILENBAUM *et al.*, 1995; RICHARDSON, 1995; TEDESCO, 1997). Nessa espécie, os principais sinais da leptospirose são os ligados à esfera reprodutiva, como abortos, natimortos, reabsorção fetal, nascimento de animais debilitados e infertilidade, podendo a fêmea necessitar de 3-6 coberturas para

¹Médico Veterinário, Acadêmico do Curso de Mestrado em Sanidade Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Patologia Animal, Universidade Estadual de Londrina (UEL).

²Médico Veterinário, Doutor, Professor Titular, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Patologia Animal, UEL.

³Médico Veterinário, Doutor, Professor Titular, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Patologia Animal, UEL, CP. 6001, 86051-970, Londrina, Paraná. E-mail: freitasj@sercomtel.com.br. Autor para correspondência.

conceber (FAINE, 1982; ELLIS, 1984; ELLIS *et al.*, 1985). Há ainda relatos de casos de mamite clínica e subclínica, com presença de flacidez de úbere e leite amarelado com estrias de sangue, ocasionando elevada redução na produção (SULLIVAN *et al.*, 1970; ELLIS *et al.*, 1986).

Na transmissão da leptospirose bovina, deve ser considerada a eliminação do microrganismo através da urina por um período prolongado, o que ocasiona a contaminação do meio ambiente e de outros animais (AMATREDJO *et al.*, 1975; THIERMANN, 1984; ELLIS *et al.*, 1981). Segundo TWIGG *et al.* (1972), as leptospiras estão amplamente distribuídas entre animais silvestres, o que os torna prováveis fontes de infecção para animais domésticos. Como o quadro clínico de leptospirose é comum a outras patologias infecciosas da esfera reprodutiva, uma vez observados os sinais clínicos o diagnóstico é confirmado através de exames laboratoriais. Dentre os diversos testes já padronizados para diagnóstico laboratorial de leptospirose, LILEMBAUM (1995) afirma que o teste de soroa-glutinação microscópica com antígenos vivos é, sem dúvida, ainda o mais utilizado por pesquisadores de todo o mundo para diagnóstico da leptospirose bovina.

O objetivo principal deste trabalho foi determinar a freqüência de infecção leptospírica através da pesquisa de anticorpos contra 22 sorotipos de *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) em fêmeas bovinas, adultas de 14 propriedades produtoras de leite tipo B, da região de Londrina-Pr.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 14 propriedades produtoras de leite tipo B, da região de Londrina-Pr. Em 13 propriedades, os animais eram da raça Holandesa e em uma, da raça Jersey. As propriedades foram denominadas de A a N, sendo que apenas as propriedades A e D faziam compra e venda de animais (propriedades abertas), enquanto as demais propriedades realizavam somente a venda (propriedades fechadas). Todas as propriedades utilizavam inseminação artificial e foram selecionadas por apresentarem histórico de abortos e infertilidade das fêmeas. Nenhuma propriedade vacinava os animais contra leptospirose. Foram colhidas amostras de sangue de 1253 fêmeas bovinas com idade a partir de 15 meses, no período de agosto de 1995 a agosto de 1997. Os soros obtidos foram estocados a -20° C até a realização do exame. O exame sorológico foi realizado usando o teste de microaglutinação rápida, descrito por RYU (1970). Foram utilizadas como antígenos culturas vivas de 22 sorotipos de *L. interrogans*, com 5-10 dias de

incubação a 28° C, correspondendo a 17 sorogrupos (tabela 1), mantidas em meio de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) modificado com albumina bovina. Os soros suspeitos foram diluídos previamente a 1:50 em PBS pH 7,2, e a esses foi adicionado a mesma quantidade de antígeno. Os tubos contendo a mistura foram incubados por 12 minutos, à temperatura ambiente. Com uma alça de platina, uma gota de cada mistura foi colocada sobre uma lâmina e a leitura realizada em microscópio de campo escuro, de acordo com MYERS (1985). Todos os soros que apresentaram 2+ de aglutinação na diluição 1:100 foram considerados positivos. Após essa triagem, os soros positivos foram diluídos e examinados até encontrar os títulos finais. Em todos os soros examinados para leptospirose também foi realizado o teste de soroa-glutinação rápida para diagnóstico de brucelose, utilizando antígeno produzido pelo TECPAR-Pr.

RESULTADOS

Das 14 propriedades estudadas, 10 (71,43%) apresentaram animais com evidência sorológica de infecção por *L. interrogans*. Em 166 (13,25%), dos 1253 animais testados, foram encontrados títulos de anticorpos ≥ 100 contra

Tabela 1 - Sorotipos utilizados para a realização do teste de microaglutinação rápida.

Sorogrupos	Sorotipos	Amostras
Australis	<i>australis</i>	Ballico
Autumnalis	<i>bratislava</i>	Jez Bratislava
	<i>autumnalis</i>	Akiyami A
	<i>butembo</i>	Butembo
	<i>fortbragg</i>	Fort Bragg
Ballum	<i>castellonis</i>	Castellon 3
Bataviae	<i>bataviae</i>	Van Tienen
Canicola	<i>canicola</i>	Hond Utrecht IV
Celledoni	<i>whitcombi</i>	Whitcombi
Cynopteri	<i>cynopteri</i>	3522 C
Djasiman	<i>sentot</i>	Sentot
Grippotyphosa	<i>grippotyphosa</i>	Moskva V
Hebdomadis	<i>hebdomadis</i>	Hebdomadis
Icterohaemorrhagiae	<i>icterohaemorrhagiae</i>	RGA
	<i>copenhageni</i>	M-20
	<i>panama</i>	CZ 214 K
Pomona	<i>pomona</i>	Pomona
Pyrogenes	<i>pyrogenes</i>	Salinem
Sejroe	<i>hardjo</i>	Hardjoprajitno
	<i>wolffi</i>	3705
Shermani	<i>shermani</i>	LT 821
Tarassovi	<i>tarassovi</i>	Perepelicin

leptospira. Nas propriedades estudadas, foram observados percentuais de animais reagentes variando de 4,7 a 51,06 (tabela 2). No presente estudo, foram detectados anticorpos contra 11 sorotipos de *L. interrogans*. Anticorpos contra o sorotipo *icterohaemorrhagiae* foram verificados em 48 (28,91%) dos animais reagentes, seguido pelos sorotipos *pomona* 35 (21,08%), *bataviae* 28 (16,87%), *autumnalis* 24 (14,46%), *canicola* 19 (11,44%), *hardjo* 18 (10,84%), *bratislava* 17 (10,24%), *butembo* 13 (7,83%), *pyrogenes* 12 (7,22%), *hebdomadis* 11 (6,63%) e *wolffi* 10 (6,02%) (tabela 3). Em 110 (66,26%) animais, foram detectados anticorpos contra 01 sorotipo, enquanto que 56 (33,73%) apresentaram anticorpos contra 02 ou mais sorotipos simultaneamente. Anticorpos nas diluições de 1:100 e 1:200 foram observados em 163 (98,19%) dos animais considerados positivos, enquanto apenas 03 (1,81%) apresentaram anticorpos nas diluições de 1:400 e 1:800. A frequência de sorotipos detectados através da prova de microaglutinação rápida, em cada propriedade estudada, está representada na tabela 4. Todas as fêmeas bovinas testadas foram negativas para brucelose.

Tabela 2 - Distribuição do número de fêmeas bovinas, adultas examinadas e reagentes positivos à prova de microaglutinação rápida para *Leptospira interrogans*, em 14 propriedades, produtoras de leite tipo B, da região de Londrina-Paraná-Brasil (1995-1997).

Propriedades	Nº de animais examinados	Animais reagentes*	
		Positivos	%
A	195	22	11,28
B	47	24	51,06
C	145	23	15,90
D	251	27	10,75
E	64	03	4,70
F	32	11	34,40
G	15	04	26,70
H	64	25	39,06
I	68	10	14,70
J	131	17	12,98
K	33	0	0
L	21	0	0
M	152	0	0
N	35	0	0
Total	1253	166	13,25

*Títulos de anticorpos \geq 100.

Tabela 3 - Porcentagens de fêmeas bovinas, adultas reagentes à prova de microaglutinação rápida para diferentes sorotipos de *Leptospira interrogans*, de 14 propriedades produtoras de leite tipo B, da região de Londrina-Paraná-Brasil (1995-1997).

Sorotipos	Nº de Fêmeas bovinas reagentes	% TE**	% TR***
<i>icterohaemorrhagiae</i>	48	3,83	28,91
<i>pomona</i>	35	2,79	21,08
<i>bataviae</i>	28	2,23	16,87
<i>autumnalis</i>	24	1,91	14,46
<i>canicola</i>	19	1,52	11,44
<i>hardjo</i>	18	1,44	10,84
<i>bratislava</i>	17	1,36	10,24
<i>butembo</i>	13	1,04	7,83
<i>pyrogenes</i>	12	0,96	7,22
<i>hebdomadis</i>	11	0,88	6,63
<i>wolffi</i>	10	0,80	6,02

*Títulos de anticorpos \geq 100.

**TE-em relação ao total de fêmeas bovinas, adultas (1253) examinadas.

***TR-em relação ao total de fêmeas bovinas, adultas (166) reagentes.

DISCUSSÃO

Os resultados deste trabalho mostram em 166 (13,25%) fêmeas bovinas, adultas de 10 (71,43%), das 14 propriedades pesquisadas, a presença de anticorpos contra diferentes sorotipos de *Leptospira interrogans*. Estes resultados coincidem com os encontrados por ROCHA & PEREIRA (1987) em Portugal, FONTAINE *et al.* (1988) na França e GIRIO & MATHIAS (1989) no Brasil, os quais encontraram respectivamente 13,3%, 20,7% e 18,98% de bovinos reagentes para leptospira. Os resultados obtidos neste trabalho diferem de MILLER *et al.* (1991) que, pesquisando bovinos de abatedouros de 49 estados dos EUA, encontraram 49% de positivos; e de LILENBAUM *et al.* (1995), no Brasil, que detectaram reações positivas em 68,4% dos soros de vacas com problemas reprodutivos. As diferenças, obtidas pelos autores acima citados em relação a este trabalho, podem ter ocorrido, pois esses autores selecionaram apenas animais com problemas reprodutivos, enquanto neste trabalho não foram selecionados animais, mas sim propriedades com histórico de problemas reprodutivos. Os resultados obtidos neste trabalho, no que se referem aos sorotipos mais frequentemente detectados (*icterohaemorrhagiae* e *pomona*), assemelham-se em parte, aos encontrados na década de 70 no Brasil, onde se observava na maioria dos

Tabela 4 - Distribuição de anticorpos detectados contra sorotipos de *L.interrogans* na prova de microaglutinação rápida em 14 propriedades produtoras de leite tipo B, da região de Londrina-Paraná (1995-1997).

Propriedades	Nº de fêmeas bovinas adultas	<i>L.hardjo</i>		<i>L.wolffi</i>		<i>L.bratislava</i>		<i>L.canicola</i>		<i>L.pyrogenes</i>		<i>L.bataviae</i>		<i>L.autumnalis</i>		<i>L.pomona</i>		<i>L.hebdomadis</i>		<i>L.icterohaemorrhagiae</i>		<i>L.butembo</i>			
		reag*	%	reag	%	reag	%	reag	%	reag	%	reag	%	reag	%	reag	%	reag	%	reag	%	reag	%		
A	195	10	5,13	9	4,62	9	4,62	1	0,51	2	1,03	5	2,56	3	1,54	0	0	0	0	0	0	1	0,51	0	0
B	47	0	0	0	0	0	0	4	8,51	0	0	0	0	5	10,64	7	14,89	8	17,02	7	14,89	0	0	0	0
C	145	0	0	0	0	3	2,07	2	1,38	7	4,83	3	2,07	1	0,69	4	2,76	0	0	0	17	11,72	0	0	0
D	251	8	3,19	1	0,40	3	1,20	4	1,59	0	0	9	3,59	0	0	9	3,59	0	0	4	1,59	0	0	0	0
E	64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3,13	0	0	0	0	0	1	1,56	0	0	0
F	32	0	0	0	0	1	3,13	0	0	2	6,25	1	3,13	1	3,13	0	0	0	0	9	28,13	0	0	0	0
G	15	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6,67	0	0	3	20,0	1	6,67	0	0	0	0	0	0	0	0
H	64	0	0	0	0	0	0	5	7,81	0	0	4	6,25	3	4,69	3	4,69	0	0	8	12,50	13	20,31	0	0
I	68	0	0	0	0	1	1,47	1	1,47	0	0	5	7,35	1	1,47	3	4,41	0	0	1	1,47	0	0	0	0
J	131	0	0	0	0	0	0	2	1,53	0	0	1	0,76	5	3,82	8	6,11	3	2,29	0	0	0	0	0	0
K	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
L	21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	152	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N	35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Títulos de anticorpos \geq 1:100

trabalhos a predominância do sorotipo *pomona* (REIS *et al.*, 1973; CORDEIRO *et al.*, 1975; WILLIAMS *et al.*, 1975; VAZ & OLIVEIRA, 1977; ÁVILA *et al.*, 1978 e MOREIRA *et al.* 1979). Este sorotipo foi considerado por ZAMORA & RIEDEMANN (1978) como um dos principais responsáveis por problemas reprodutivos em bovinos no Chile; embora as porcentagens apresentadas na tabela 3, em relação ao total de fêmeas bovinas, adultas examinadas sejam baixas, tanto para o sorotipo *icterohaemorrhagiae* (3,83%) como para o sorotipo *pomona* (2,79%), deve-se ressaltar a importância dos valores obtidos para esses sorotipos (28,91% e 21,08% respectivamente) quando analisados em relação ao total de animais reagentes. Os resultados deste trabalho mostram, ainda, que uma grande porcentagem dos animais reagentes apresentaram títulos de anticorpos \geq 100 contra os sorotipos *bataviae* e *autumnalis*, sorotipos que têm sido isolados de outros animais domésticos, silvestres e/ou sinantrópicos (SANTA ROSA *et al.*, 1972; BIANCHI, 1984; ELLIS, 1986; TAYLOR *et al.*, 1991). Os bovinos podem se infectar com qualquer dos sorotipos de leptospiros patogênicos que existam no seu meio ambiente, podendo esta infecção ocorrer direta ou indiretamente através de 2 fontes: de outros bovinos portadores ou outros hospedeiros que habitem o mesmo ambiente (ELLIS *et al.*, 1976).

Os diferentes sorotipos foram classificados por ELLIS (1984) em amostras adaptadas e mantidas pelos bovinos, e amostras não adaptadas que causam infecções acidentais, pois são mantidas por outras espécies domésticas, silvestres e/ou cinantrópicos. Assim, os anticorpos detectados neste trabalho, contra os sorotipos *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *bataviae* e *autumnalis* entre outros, parecem estar relacionados a infecções acidentais devido ao contato direto ou indireto dos bovinos com outras espécies animais que atuam como reservatórios destes sorotipos. A partir da década de 80, pesquisadores de vários países, inclusive do Brasil, têm verificado, principalmente através de provas sorológicas, a predominância do sorotipo *hardjo* em bovinos (RIBEIRO *et al.*, 1988; MILLER *et al.*, 1991; MOREIRA *et al.*, 1993; BROD *et al.*, 1995; RICHARDSON, 1995; TEDESCO, 1997). Este sorotipo foi considerado como uma amostra adaptada e mantida pelo próprio bovino (ELLIS, 1984), e tem sido, dentre os sorotipos de *L. interrogans*, o maior responsável por problemas reprodutivos nessa espécie animal (ELLIS, 1984; MOREIRA *et al.*, 1994).

Neste trabalho, anticorpos contra o sorotipo *hardjo* foram detectados somente em 18 animais de 2 propriedades. ELLIS *et al.* (1981) e MOREIRA *et al.* (1994) afirmaram que a transmissão direta

entre bovinos seria o mecanismo mais importante para a disseminação do sorotipo *hardjo* entre animais e rebanhos. Coincidentemente essas duas propriedades eram as únicas que realizavam a compra freqüente de animais, sendo consideradas propriedades abertas e, portanto, a entrada de animais seria, provavelmente, a responsável pela introdução desse sorotipo nestas propriedades.

FONTE DE AQUISIÇÃO

Antígeno para diagnóstico de brucelose: TECPAR-Instituto de Tecnologia do Paraná. Rua dos Funcionários, 1357-Curitiba-Pr. CEP-80035-050.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMATREDJO, A., CAMPBELL, R.S.F., PATH, M.R.C. Bovine leptospirosis. *Veterinary Bulletin*, v. 45, n. 12, p. 875-891, 1975.
- ÁVILA, F.A., COSTA, A. J., MORAES, F.R., *et al.* Pesquisa de aglutininas antileptospira em soros de bovinos no município de Jaboticabal, Brasil. *Científica*, v. 6, n. 3, p. 451-453, 1978.
- BIANCHI, L. The Pavia Center for study and diagnosis of leptospirosis. *Bollettino Instituto Sieroter Milan*, v. 63, n. 3, p. 262-266, 1984.
- BROD, C.S., MARTINS, L.F.S., NUSSBAUM, J.R., *et al.* Leptospirose bovina na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, n. 84, p. 15-20, 1995.
- CORDEIRO, F., GUIDA, H.G., RAMOS, A.A., *et al.* Aglutininas antileptospira em soros de bovinos do Estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 10, p. 9-19, 1975.
- ELLIS, W.A., MICHNA, S.W. Bovine leptospirosis: A serological and clinical study. *Veterinary Record*, n. 99, p. 387-391, 1976.
- ELLIS, W.A., O'BRIEN, J.J., CASSELLS, J.A. Role of the cattle in the maintenance of *L. interrogans* serovar *hardjo* infection in Northern Ireland. *Veterinary Record*, n. 108, p. 555-557, 1981.
- ELLIS, W.A. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 2, p. 411-421, 1984.
- ELLIS, W.A., O'BRIEN, J.J., CASSELLS, J.A., *et al.* Excretion of *L. interrogans* serovar *hardjo* following calving or abortion. *Research Veterinary Science*, v. 39, p. 296-98, 1985.
- ELLIS, W.A. Leptospirosis. *Journal of Small Animal Practice*, v. 27, p. 683-692, 1986.
- FAINE, S. *Guidelines for the control of leptospirosis*. 2. ed. Geneva: World Health Organization, 1982. 171 p.
- FONTAINE, A., GANIERE, J.P., QUINIOU, M.A., *et al.* Prevalence des anticorps antileptospire chez les bovins de Loire-Atlantique: II- Evolution des titres serologiques dans des exploitations infectées. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, v. 164, n. 8-9, p. 617-622, 1988.
- GIORGI, W., TERUYA, J.M., SILVA, A.S., *et al.* Leptospirose: Resultados das soroadglutinações realizadas no Instituto Biológico de São Paulo durante os anos de 1974-1980. *Biológico*, São Paulo, v. 47, n. 11, p. 299-309, 1981.
- GIRIO, R.J.S., MATHIAS, L.A. Ocorrência de leptospirose em rebanhos bovinos produtores de leite tipo B na região Norte do Estado de São Paulo. *Ciências Veterinárias*, v. 3, n. 1, p. 3-5, 1989.
- LILENBAUM, W. Atualização em leptospirose bovina. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, Niterói, v. 18, n. 1, p. 9-13, 1995.
- LILENBAUM, W., SANTOS, M.R.C., BARBOSA, A.V. Leptospirose em reprodução animal: II – Bovinos do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, Niterói, v. 2, n. 1, p. 1-6, 1995.
- MILLER, D.A., WILSON, M.A., BERAN, G.W. Survey to estimate prevalence of *Leptospira interrogans* infection in mature cattle in the United States. *American Journal of Veterinary Research*, v. 52, n. 11, p. 1761-1768, 1991.
- MOREIRA, E.C., SILVA, J.A., VIANA, F.C., *et al.* Leptospirose bovina: I Aglutininas antileptospiras em soros sanguíneos de bovinos em Minas Gerais. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 375-388, 1979.
- MOREIRA, E.C., MORAIS, M.H.F., HADDAD, J.P.A., *et al.* Surto de leptospirose em bovinos leiteiros de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, *Anais...* Belo Horizonte, 1993, p. 192.
- MOREIRA, E.C. *Avaliação de métodos para erradicação de leptospirose em bovinos leiteiros*. Belo Horizonte, MG. 110 p. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, UFMG, 1994.
- MYERS, D. *Leptospirosis: manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio*. Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS, 1985. (Nota técnica 30).
- REIS, R., RYU, E., PENA, C.M. Pesquisa de aglutininas antileptospiras em bovinos e suínos em Minas Gerais, Brasil. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*, Belo Horizonte, v. 25, p. 11-13, 1973.
- RIBEIRO, S.C.A., GOUVEIA, M.A.V., SILVA, P.L., *et al.* Levantamento sorológico em dois surtos de leptospirose bovina em Uberlândia, Triângulo Mineiro. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 40, n. 6, p. 415-423, 1988.
- RICHARDSON, G.F., SPANGLER, E., MACAULAY, E.B.A. serological survey of four *Leptospira* serovars in dairy cows on Prince Edwar Island. *Canadian Veterinary Journal*, v. 36, n. 12, p. 769-770, 1995.
- ROCHA, T., PEREIRA, M.C. Leptospirosis in Portugal: Serological evidence of leptospiral agglutinins in brucellosis seronegative bovines. *Israel Journal Veterinary Medicine*, v. 43, n. 4, p. 313-322, 1987.
- RYU, E. Rapid microscopic agglutination test for leptospira without non-specific reaction. *Bulletin Office International Epizooties*, v. 73, n. 1-2, p. 49-58, 1970.

- SALMAN, M.D., HERNANDEZ, J.A., BRAUN, I. A seroepidemiological study of live bovine diseases in dairy farms of the coastal region of Baja California, Mexico. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 9, p. 143-153, 1990.
- SANTA ROSA, C.A., SULZER, C.R., CASTRO, A.F.P. A new leptospiral serotype in the *bataviae* group, isolated in São Paulo, Brazil. **American Journal Veterinary Research**, v. 33, n. 8, p. 1719-1720, 1972.
- SULLIVAN, N.D., CALLAN, D.P. Isolation of leptospira *hardjo* from cows with mastitis. **Australian Veterinary Journal**, v. 46, p. 537-539, 1970.
- TAYLOR, K.D., TURNER, L.H., EVERARD, J.D. Leptospire in *rattus spp* on Barbados. **Journal Tropical Medicine Hygiene**, v. 94, n. 2, p. 102-103, 1991.
- TEDESCO, L.A. Leptospirose: uma doença que se expande e assusta. **Balde Branco**, São Paulo, v. 33, n. 395, p. 44-46, 1997.
- THIERMANN, A.B. Leptospirosis: Current developments and trends. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 184, n. 6, p. 722-5, 1984.
- TWIGG, G.I., HUGHES, D.M., McDIARMID, A. Leptospiral antibodies in dairy cattle: some ecological considerations. **Veterinary Record**, v. 90, p. 598-602, 1972.
- VAZ, A.K., OLIVEIRA, S.J. Títulos aglutinantes para leptospira em touros usados em inseminação artificial no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, Porto Alegre, p. 23-26, 1977.
- ZAMORA, J., RIEDEMANN, S. Aborto bovino por leptospira, un grave problema en el sur del país. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 10, p. 67-68, 1978.
- WILLIAMS, H.A., OLIVEIRA, S.J., RIBEIRO, C.A.O. Leptospirose como causa de aborto em um rebanho bovino no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, Porto Alegre, v. 3, p. 73-81, 1975.