

LEPTOSPIROSE EM BOVINOS ABATIDOS EM MATADOUROS NO ESTADO DO PARÁ¹

Andréa Maria Góes NEGRÃO²

Éva MOLNÁR³

László MOLNÁR⁴

RESUMO: Esta pesquisa teve como objetivo verificar a soroprevalência da leptospirose e demonstrar a presença de leptospiras em amostras de urina e rins de bovinos abatidos no matadouro da Cooperativa e Indústria Pecuária do Pará (SOCIPE), provenientes de seis municípios do Estado do Pará, Brasil, no período de agosto de 1998 a abril de 1999. Foi feita pesquisa sorológica pelo teste de soraglutinação microscópica, utilizando-se 27 cepas de antígenos vivos para detecção de anticorpos antileptospiras, sendo a diluição máxima pesquisada de 1:800. A demonstração direta de leptospiras foram feitas pelos métodos de impregnação pela prata em amostras de rim, e de coloração de Vágó em amostras de urina e rim. Foram analisadas 131 amostras de soro, 107 de urina e 131 de rins de sete rebanhos (seis municípios), sendo que 102 (77,8%) mostraram-se positivas sorologicamente a pelo menos um sorovar e todos os rebanhos foram reagentes. A porcentagem de soropositividade nos rebanhos variou de 45 a 90%. O sorovar de maior prevalência nas amostras pesquisadas foi hebdomadis reagindo em 41,2%, seguido de hardjo com 33,6%, andamana e bratislava com 12,9% cada, patoc com 7,6% e pomona e sejroe com 6,8%. Os outros sorovares reagiram em menos de 4% cada um. O título de 800 foi encontrado nos sorovares hardjo, hebdomadis, andamana, pomona e javanica. O título de 400 foi encontrado nos sorovares djasiman, patoc e sejroe e de 200 em bratislava, castelonis, saxkoebing, shermani, pyrogenes, tarassovi e australis. Os sorovares canicola, cynopteri, wolffi, ballum, icterohaemorrhagiae e celledoni só reagiram com título de 100. Os outros sorovares não reagiram em nenhuma amostra. A demonstração direta de leptospiras pelo método de coloração de Vágó em amostras de urina mostrou 29,9% (32/107) de positividade, enquanto que em amostras de rim foi de 24,4% (32/131) de positivas. Pelo método de impregnação pela prata em amostras de rim foi possível demonstrar leptospiras em 34,7% (42/121) das amostras pesquisadas.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Leptospirose, Bovino, Aglutinação Microscópica, Coloração de Vágó, Impregnação pela Prata.

LEPTOSPIROSIS ON SLAUGHTERHOUSE ANIMALS IN STATE OF PARÁ

ABSTRACT: This research was aimed to verify the seroprevalence of leptospirosis as well as to show the presence of leptospira in the slaughterhouse samples picked out at random from some counties of Pará State, Brazil. The serological research was carried out through microscopic agglutination test, using 27 strains of live antigens. The direct demonstration of leptospire through the silver impregnation method on kidney samples and through the Vágó method on urine and kidney samples was also performed. Out of the 131 samples studied from seven herds 102 (77,8%) showed positive to at least one serovar. The percentage of positivity in herds was 45 to 90%. The serovar that showed the highest prevalence was the hebdomadis which reacted in 41,2%, followed by the hardjo in 33,6%, the andamana and bratislava in 12,9%, the patoc in 7,6%, the pomona and sejroe in

¹ Aprovado para publicação em 30.06.00

² Médica Veterinária, M. Sc., Doutoranda do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da UFPA. Professora Substituta da FCAP. e-mail: eva@cbio.ufpa.br

³ Médica Veterinária, PhD, Professora Visitante da UFPA. Centro Agropecuário - UFPA. e-mail: eva@cbio.ufpa.br

⁴ Médico Veterinário, PhD, Professor Visitante da UFPA. Centro Agropecuário - UFPA. e-mail: eva@cbio.ufpa.br

6,8%. The other serovars reacted in less than 4%. The maximum title studied was of 800, found in the serovars hardjo, hebdomadis, andamana, pomona and the javanica. The 400 title was found in the serovars djasiman, patoc and sejroe while the 200 title was found in the bratislava, castelonis, shermani, saxcoebing, pyrogenes, tarassovi and the australis. The 100 title was found in the serovars canicola, cynopteri, wolffi, ballum, icterohaemorrhagiae e celledoni. Other serovars not reacted. at a maximum title of 100. The Vágó coloring method on urine samples for direct exposure of leptospire presented a 29,9% (32/107) positivity rate, whereas in kidney samples this rate was 24,4% (32/131). By means of the silver impregnation method on kidney samples, it was possible to detect leptospire in 34,7% (42/121) of studied samples.

INDEX TERMS: Leptospirosis, Bovine, Microscopic Agglutination, Vágó Coloring, Silver Impregnation.

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose bovina é uma doença infecciosa de grande importância por ser zoonose e por ocasionar perdas econômicas elevadas. É causada por bactérias do gênero *Leptospira*. As leptospiras patogênicas estão agrupadas em 26 sorogrupos que são formados por sorovares, e estes são determinados de acordo com características antigênicas cruzadas. Os sorovares são as unidades taxonômicas e são caracterizados por apresentarem padrões de absorção da aglutinação, tendo sido descritos 255 sorovares (Ellis, 1995). Os sorovares que causam maiores danos em bovinos são: hardjo, pomona, icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, sejroe e bratislava, sendo que o único que é adaptado aos bovinos é o hardjo (Ellis & McDowell, 1993).

A leptospirose bovina apresenta distribuição mundial, ocorrendo em qualquer idade e em ambos os sexos. As regiões tropicais e subtropicais são mais favoráveis à infecção, onde a leptospira, em ambientes úmidos pode sobreviver por longos períodos, aumentando a oportunidade de exposição e contaminação dos animais susceptíveis (Acha & Szyfres, 1986). A principal fonte de contaminação é a urina infectada, podendo ser também o leite,

corrimento uterino e o sêmen contaminados (Ellis, 1994).

As perdas reprodutivas são os mais importantes aspectos da leptospirose em bovinos (Ellis & McDowell, 1993), que se caracterizam por abortamentos, natimortos, diminuição da produção láctea, taxas reduzidas de concepção e infertilidade (Ellis, 1994; Lilenbaum et al., 1995; Dhaliwal et al., 1996). O abortamento pode ocorrer em qualquer estágio de gestação, dependendo do sorovar infectante, e geralmente, ocorre de uma a doze semanas após a fase aguda (Ellis, 1994).

O diagnóstico da leptospirose é feito pela demonstração direta ou indireta da leptospira (Ellis & McDowell, 1993), em que se pesquisa a presença na urina, rins e, eventualmente, no sangue, ou de anticorpos antileptospiras no soro do animal, respectivamente (Smith et al., 1994). O teste sorológico padrão para o diagnóstico da leptospirose é o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM), por ser sorovar-específico e apresentar alta sensibilidade e especificidade. É necessário utilizar antígenos vivos, de cepas representantes de todos os sorovares que ocorrem na região (O.I.E, 1996).

Como na Região Amazônica o índice pluviométrico e a umidade do ar são elevados e a média anual da temperatura ambiental é de

30°C, há grande favorecimento desta doença, pois aumenta a oportunidade de sobrevivência da leptospira fora do hospedeiro, e, assim, a contaminação de outros animais (Acha & Szyfres, 1986). Contudo, há escassez de dados epidemiológicos e bacteriológicos referentes à leptospirose bovina na Região Norte, justificando esta pesquisa.

Os objetivos deste trabalho foram estimar a prevalência sorológica da leptospirose bovina e demonstrar a leptospira em amostras de urina e de rins de bovinos abatidos em matadouro, provenientes de sete rebanhos no Estado do Pará - Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Foram analisadas 131 amostras de soro, urina e rins de bovinos abatidos no matadouro da Cooperativa e Indústria Pecuária do Pará (SOCIPE), pertencentes a sete rebanhos de seis

municípios do Estado do Pará (Tabela 1), no período de agosto de 1998 a abril 1999. Todos os rebanhos são de história desconhecida de abortamentos e infertilidade.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Coloração de Vágó (CV) de acordo com Varga (1998)

Foram analisadas 107 amostras de urina e 131 de rins. As amostras de urina foram colhidas diretamente da bexiga com seringa de 3 ml descartáveis. Foram centrifugadas a 5 000 rpm durante 30 minutos. Do sedimento foram preparados esfregaços em lâminas de vidro para microscopia e deixados secar à temperatura ambiente. Foi colhido um lóbulo renal de cada animal e acondicionado em saco plástico para o transporte, sendo preparados esfregaços de macerado renal com solução salina a 0,85% na proporção de 1:10, em lâminas de vidro para microscopia e deixados

Tabela 1 – Resultados das técnicas utilizadas para o diagnóstico de leptospirose em amostras de soro, urina e rins de bovinos abatidos e procedentes de municípios paraenses, segundo os rebanhos e o método de detecção. Belém, 2000.

Rebanhos	SAM			Coloração de Vágó						Impregnação pela prata		
				Urina			Rim					
	N	+	%	N	+	%	N	+	%	N	+	%
Acará	24	20	83,3	24	8	33,3	24	9	37,5	24	12	50
Chaves	20	9	45	20	8	40	20	4	20	20	4	20
Irituia	10	9	90	10	2	20	10	1	10	*	-	-
Santa Cruz do Arari	19	16	84,2	19	3	15,8	19	2	10,5	19	5	26,3
São Félix do Xingú I	24	20	83,3	**	-	-	24	8	33,3	24	7	29,2
São Félix do Xingú II	23	19	82,6	23	5	21,7	23	10	43,4	23	7	30,4
Soure	11	9	81,8	11	6	54,5	11	6	54,5	11	7	63,6
TOTAL	131	102	77,8	107	32	29,9	131	32	24,4	121	42	34,7

Nota: Sinais convencionais utilizados:

N = número de amostras analisadas.

+ = número de amostras positivas.

% = porcentagem de positividade.

* Grupos não examinados pela impregnação pela prata

** Visualização de grande quantidade de células espermáticas impossibilitando a pesquisa de leptospiros.

secar à temperatura ambiente. Os esfregaços de urina e de rins não foram fixados, porém foram cobertos com solução de mercuriocromo em água destilada na concentração de 1:1 por 15 minutos e depois lavados em água corrente. A seguir foram cobertos com solução de pioctanina em água destilada na concentração de 1:1 por 15 minutos e lavados em água corrente. Foram examinados em microscópio óptico com lente objetiva 100x de aumento em imersão.

2.2.2 Impregnação pela prata (IP) de acordo com o Método de Fontana-Tribondeau (Bier, 1994)

Foram analisadas 121 amostras de rins fixados pelo formol a 10%, os quais foram cortados em fragmentos de 2cm x 0,5cm e lavados em água corrente por uma hora. Os blocos foram parafinizados e cortados em micrótomo na espessura de 5 a 6 μ m. A seguir foram desparafinados e impregnados em AgNO_3 (nitrato de prata) a 5% durante 4 horas. Em seguida foram colocados em lâminas de vidro para microscopia e cobertos com lamínula de vidro. Foram observados em microscópio óptico com lente objetiva de 40x de aumento, e em casos duvidosos com lente objetiva de 100x de aumento em imersão.

2.2.3 Teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) de acordo com Galton et al. (1965)

Foram analisadas 131 amostras de soro. O sangue foi colhido em tubo de ensaio de 20 μ l no ato da sangria do animal. Foi dessorado e o soro foi armazenado em tubo Eppendorf e estocado a -20°C até o momento da análise.

Foram utilizados antígenos vivos dos 27 sorovares: pomona, hardjo, hebdomadis, icterohaemorrhagiae, grippytyphosa, sejroe, bratislava, saxkoebing, canicola, tarassovi, copenhageni, wolffi, brasiliensis, shermani,

panama, australis, bataviae, ballum, pyrogenes, javanica, andamana, celledone, cynopteri, castellonis, djasiman, autumnalis e patoc. Foram consideradas positivas as amostras que reagiram em diluições iguais ou superiores a 1:100, sendo que a maior diluição pesquisada foi a de 1:800.

Foi feita inicialmente a triagem, diluindo-se cada soro na diluição de 1:50 em solução salina a 0,85%, da qual foram retirados 50 μ l e colocados em cada poço da placa de poliestireno, e em seguida adicionados 50 μ l de antígeno, sendo a placa incubada em estufa bacteriológica por duas horas. Na leitura foi observada a aglutinação, tendo sido considerados positivos os soros que aglutinaram 50% ou mais das leptospiras. Em caso positivo foi feita a titulação, a qual foi procedida a partir da diluição de 1:100 em solução salina a 0,85% com diluições consecutivas e ao dobro até a máxima de 1:800.

3 RESULTADOS

Foram encontrados animais soropositivos em todos os rebanhos e a frequência variou de 45% a 90% (Tabela 1 e Gráfico 1). Das 131 amostras examinadas, 102 (77,8%) reagiram com pelo menos um sorovar de *Leptospira* (Tabela 1). No geral, a positividade em cada amostra examinada foi mais frequente para um só sorovar, entretanto, existiram amostras que reagiram com dois a cinco sorovares. Não foi encontrado nenhum rebanho que tivesse reagido a um só sorovar.

O sorovar hebdomadis foi o mais soroprevalente com 41,2% seguido de hardjo com 33,6%, andamana e bratislava com 12,9%, patoc com 7,6%, pomona e sejroe com 6,8%, saxkoebing com 3,8%, javanica, shermani e tarassovi com 3% e djasiman com 2,3%. Os outros sorovares reagiram em menos de 2% das amostras analisadas (Tabela 2 e Gráfico 2).

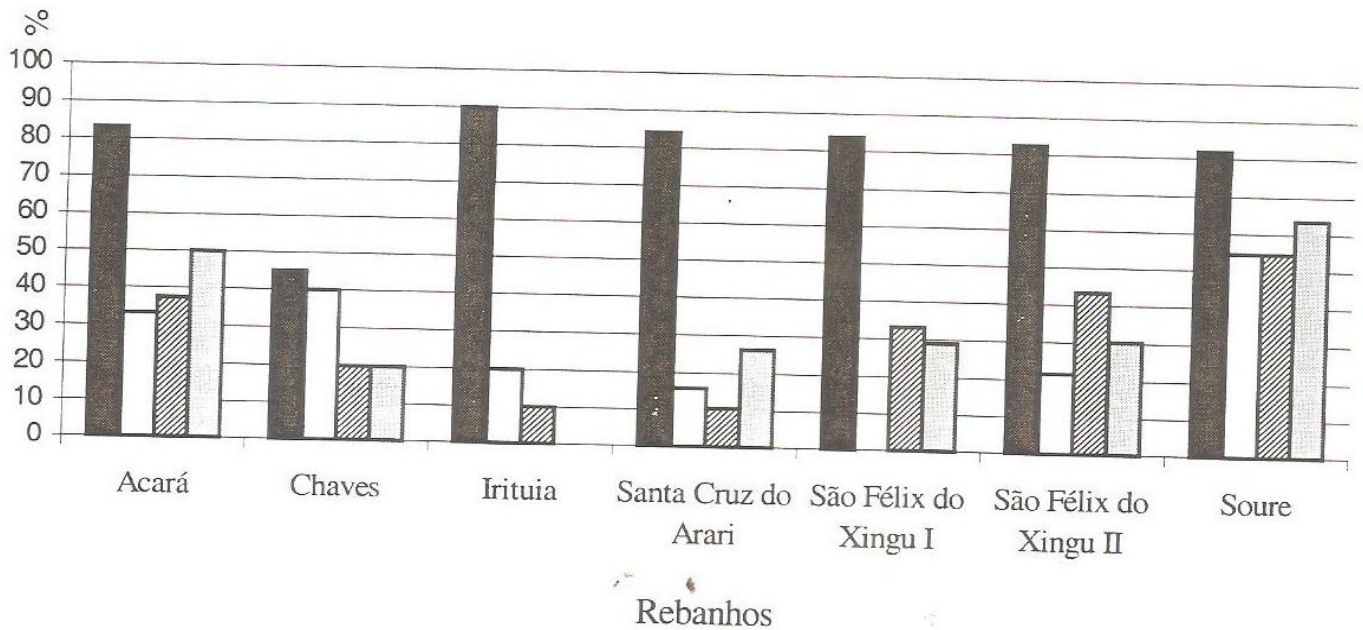


Gráfico 1 - Identificação de leptospiras em amostras de soro, urina e rins de bovinos abatidos e procedentes de municípios paraenses, segundo a origem, o método de diagnóstico e os percentuais de detecção em cada rebanho pesquisado. Belém, 2000.

Tabela 2 – Diagnóstico de leptospirose em amostras de soro de bovinos abatidos e procedentes de municípios paraenses, segundo o número de amostras reagentes, a porcentagem (%) e a variação do título encontrado nos sorovares pesquisados. Belém, 2000.

Sorovar	Nº Amostras reagentes	%	Variação do título	Sorovar	Nº amostras reagentes	%	Variação do título
hebdomadis	54	41,2	100-800	castelonis	2	1,5	100-200
hardjo	44	33,6	100-800	pyrogenes	2	1,5	100-200
andamana	17	12,9	100-800	canicola	2	1,5	100
bratislava	17	12,9	100-200	cynopteri	2	1,5	100
patoc	10	7,6	100-400	wolffi	2	1,5	100
pomona	9	6,8	100-800	ballum	1	0,7	100
sejroe	9	6,8	100-400	icterohaemorrhagiae	1	0,7	100
saxcoebing	5	3,8	100-200	celledoni	1	0,7	100
javanica	4	3,0	200-800	grippotyphosa	0	-	-
shermani	4	3,0	100-200	brasiliensis	0	-	-
tarassovi	4	3,0	100-200	autumnalis	0	-	-
djasiman	3	2,3	100-400	bataviae	0	-	-
copenhageni	3	1,5	100	panama	0	-	-
australis	2	1,5	100-200				

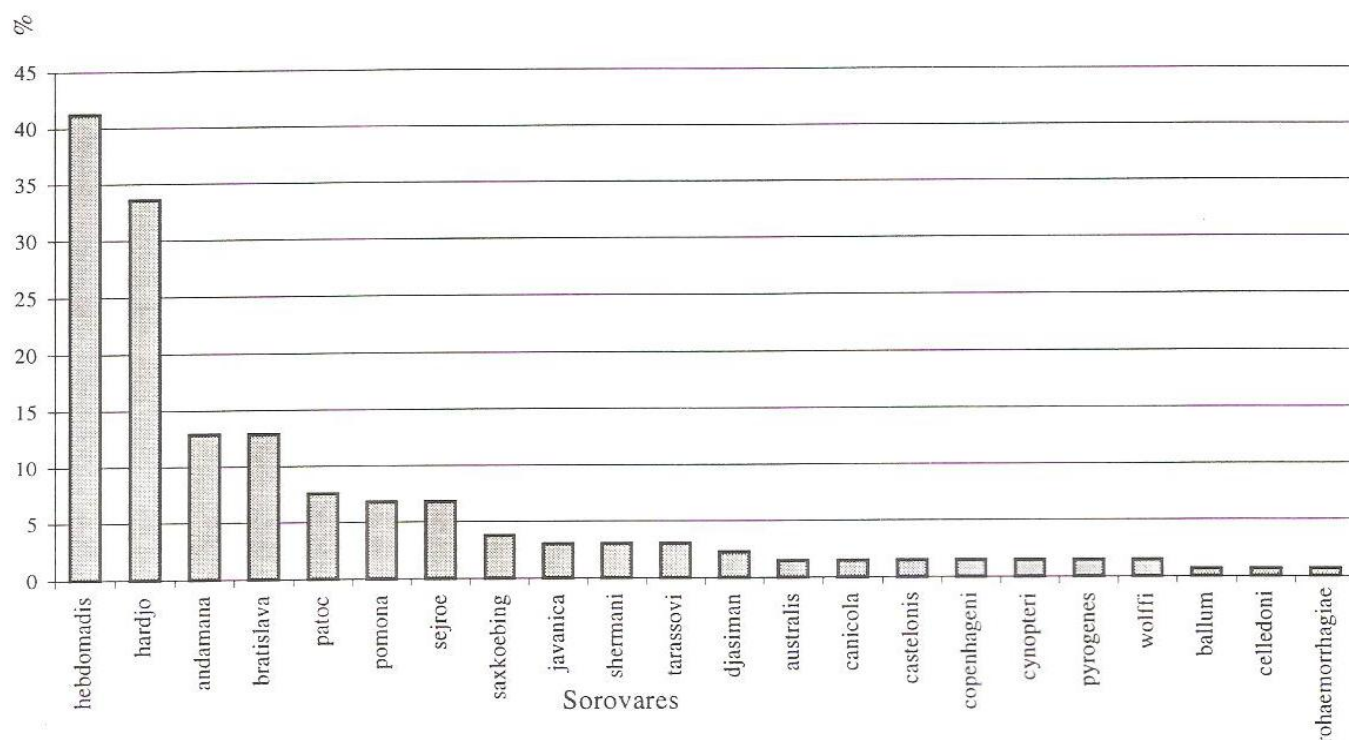


Gráfico 2 - Diagnóstico de leptospirose em amostras de soro de bovinos abatidos e procedentes de municípios paraenses, segundo a porcentagem de positivos nos sorovares reatores. Belém, 2000.

Os sorovares que reagiram com título de 800 foram hardjo, hebdomadis, andamana, pomona e javanica. Os sorovares djasiman, patoc e sejroe reagiram com título máximo de 400 e bratislava, saxkoebing, shermani, tarassovi, australis, castelonis e pyrogenes com título de 200. Os sorovares canicola, cynopteri, wolffi, ballum, icterohaemorrhagiae e celledoni só reagiram com título de 100. Os sorovares grippotyphosa, brasiliensis, autumnalis, bataviae e panama não reagiram em nenhuma amostra. (Tabela 2).

Pelo método de coloração de Vágó mostraram-se positivas 32 (29,9%) das 107 amostras de urina analisadas e 32 (24,4%) das 131 amostras de rim foram positivas. Pelo método de impregnação pela prata, 42 (34,7%) das 121 amostras de rim analisadas foram positivas (Tabela 1).

4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que a maioria (77,8%) dos animais examinados apresentaram anticorpos contra *Leptospira*. A alta incidência nestes rebanhos evidencia a leptospirose como infecção natural nos rebanhos. Como a Região Norte favorece o aparecimento da leptospirose por apresentar altos índices pluviométricos e de umidade, não é de surpreender o alto número de animais infectados.

A porcentagem de reagentes de 77,8% das amostras de soro analisadas foi superior aos de Moreira (1982) e Lins et al. (1986) que encontraram 38,8% e 9,3% de positividade, respectivamente, em rebanhos bovinos no Estado do Pará. Também foram maiores que os dados obtidos em outros estados brasileiros, como os encontrados por Giorgi et al. (1981)

que pesquisaram em vários estados, inclusive no Pará, Gírio & Mathias (1989) em São Paulo; Silva et al. (1994) em Minas Gerais, Rodrigues et al. (1996) no Paraná, Vasconcellos et al. (1997) que pesquisaram em vários estados (Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul) e Krahl et al. (1997) no Rio Grande do Sul que encontraram 15,5%, 18,9%, 54,5%, 19,7%, 60,4% e 42% de soros positivos, respectivamente. Reckziegel (1995) no Rio Grande do Sul encontrou 51,4% de soropositividade em 101 amostras de animais de matadouro.

Apesar do sorovar *hebdomadis* ter sido o mais prevalente nas amostras, em nenhuma referência foi encontrado com incidência alta e causando patologia em bovinos. O sorovar *hardjo* é o de maior importância em bovinos, pois estes animais são seus portadores, disseminando a infecção num rebanho (Ellis & McDowell, 1993). Ellis (1994) e Dhaliwal et al. (1996) o consideram o mais difundido e causador de abortamentos em rebanhos bovinos. A porcentagem de positivos para o sorovar *hardjo* neste estudo é de conformidade com a maioria dos inquéritos sorológicos realizados no Brasil e no exterior (Moreira, 1994; Lilenbaum et al., 1995; Vasconcellos et al., 1997; Ellis et al., 1982; Thiermann, 1983; Feresu et al., 1996).

Um resultado surpreendente foi a porcentagem positiva para os sorovares *andamana* e *patoc* que reagiram em 12,9% e 7,6%, e com títulos de até 800 e 400, respectivamente, pois são cepas consideradas apatogênicas. Dados semelhantes não foram verificados por Lilenbaum et al. (1995), Santana et al. (1997) e Vasconcellos et al. (1997), pois não encontraram reações positivas para estes sorovares. Não é de surpreender a porcentagem encontrada para *bratislava* de

12,9%, que nos últimos anos vem crescendo no país (Moreira, 1994; Vasconcellos et al., 1997). A porcentagem para *pomona* (9%) foi maior que os achados de Brod et al. (1995) e Vasconcellos et al. (1997) que encontraram 3%, e 3,5%, respectivamente. Embora estes autores considerem que o sorovar *pomona* não apresente porcentagem de reações significantes, isto não está de conformidade com os resultados deste trabalho.

O sorovar *sejroe* reagiu em 6,8% das amostras, não estando de acordo com os resultados de Ellis & Michna (1976) no Reino Unido, que encontraram soropositividade em 47,5% de animais de matadouro. No Brasil, Ribeiro et al. (1988) e Moreira (1982) encontraram em 2,3% e 3,4% de soropositividade, respectivamente.

Os resultados obtidos para os sorovares que são considerados importantes na patologia de bovinos (Ellis & McDowell, 1993) como *canicola* (1,5%), *icterohaemorrhagiae* (0,7%) e *grippotyphosa* (0%) estão de acordo com os de Moreira (1982) e Moreira (1994). Todos os outros sorovares pesquisados neste estudo mostraram soropositividades insignificantes (Tabela 2), como é relatado pela maioria dos inquéritos realizados no Brasil (Moreira, 1994; Lilenbaum et al., 1995; Santana et al., 1997; Vasconcellos et al., 1997) e no Pará (Moreira, 1982).

Os resultados da impregnação pela prata de 34,7% de positivos de 121 amostras de rim examinadas, foram superiores aos achados por Reckziegel (1995) no Rio Grande do Sul, que encontrou 26,7% de positivos pelo mesmo método de 101 amostras pesquisadas, e de Skilbeck et al. (1988) na Austrália, que pesquisaram 218 amostras renais e encontraram 0,91% de positividade. Esta técnica mostrou maior sensibilidade que a coloração de Vágó (Tabela 1 e Gráfico 1).

A coloração de Vágó também mostrou porcentagens significantes. As amostras de urina analisadas por esta técnica demonstraram 29,9% de positividade e as amostras de rim 24,4%. A pesquisa nas lâminas com esfregaços renais foi mais difícil, por serem mais concentrados, dificultando a identificação da leptospira. A coloração de Vágó em amostras de urina pode ser utilizada como método de diagnóstico de rotina, podendo ser utilizada para diferentes espécies animais, pois é prático, rápido e de baixo custo.

No Gráfico 1 é possível observar os resultados de positividade dos métodos empregados nos rebanhos analisados. A amostragem destes rebanhos é de animais de história desconhecida quanto ao manejo de vacinação. O rebanho de Chaves mostrou menor porcentagem de reagentes no resultado sorológico, talvez porque a amostragem possa ter sido de animais vacinados.

A vacina utilizada na região Norte contém os sorovares hardjo, pomona, grippotyphosa, icterohaemorrhagiae e canicola. Dentro desta composição somente hardjo mostrou resultados significantes, havendo necessidade de reavaliar quais os sorovares necessários na formulação da vacina para prevenir a leptospirose na região, pois, provavelmente, muitos destes animais não foram vacinados.

5 CONCLUSÃO

- a) A leptospirose bovina encontra-se bastante difundida nos rebanhos pesquisados, variando de 45 a 90% de soropositividade.
- b) O método de impregnação pela prata mostrou-se mais trabalhoso, apresentando maiores dificuldades na visualização das leptospirosas, embora demonstrasse porcentagem de positividade maior que o CV.
- c) O método de CV em amostras de urina mostrou-se útil, podendo ser utilizado como diagnóstico de rotina da leptospirose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P.N., SZYFRES, B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. 2. ed. Washington, D. C.: Organización Panamericana de la Salud, 1986. 989 p. (Publicación Científica, 503)
- BIER, O. Técnicas Bacteriológicas. In: BIER, O. *Microbiologia e imunologia*. 30. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1994. p. 994.
- BROD, C.S., MARTINS, L.F.S., NUSSBAUM, J.R., FEHLBERG, M.F.B., FURTADO, L.R.I., ROSADO, R.L.I. Leptospirose bovina na região sul do estado do Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, v. 14, p. 15-20, 1995.
- DHALIWAL, G.S., MURRAY, R.D., DOBSON, H., MONTGOMERY, J., ELLIS, W.A. Reduced conception rates in dairy cattle associated with serological evidence of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection. *The Veterinary Record*, v.139, p. 110-114, 1996.
- ELLIS, W.A. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the Taxonomy of *Leptospira*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v.45, n. 4, p. 872-874, 1995.
- . Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v.10, n. 3, p.463-478, 1994.
- , McDOWELL, S. Leptospirosis. In: DEWI, I. A. (Ed.), AXFORD, R.F.E., (Ed.), MARAI, I.F.M. (Ed.). *Pollution in livestock production systems*. Wallingford, 1993. p. 167-186.
- , MICHNA, S.W. Bovine leptospirosis: A serological and clinical study. *The Veterinary Record*. v. 99, p. 387-391, 1976.
- , O'BRIEN, J.J., NEILL, S.D., HANNA, J. Bovine leptospirosis: Serological findings in aborting cows. *The Veterinary Record*, v. 110, p. 178-180, 1982.
- FERESU, S.B., KORVER, H., RIQUELME, N., BARANTON, G., BOLIN, C.A. Two new leptospiral serovars in the Hebdomadis serogroup isolated from Zimbabwe cattle. *International Journal of Systematic Bacteriology*, v.46, p. 694-698, 1996.

- GALTON, M.M., SULZER, C.R., SANTA ROSA, C.A., FIELDS, M.J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Applied Microbiology*, v. 13, p. 81-85, 1965.
- GIORGI, W., TERUYA, J.M., SILVA, A.S., GENOVEZ, M.E. Leptospirose: Resultados das soro-aglutinações realizadas no Instituto Biológico de São Paulo, durante os anos de 1974/1980. *O Biológico*, v. 47, 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. *Ciência Veterinária de Jaboticabal*, v. 3, p. 3-5, 1989.
- KRAHL, M., GOMES, M.J.P., WUNDER JÚNIOR, E. Leptospirose bovina: prevalência e distribuição da infecção em diferentes regiões do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25., CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 12., CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL, 2., 1997, Gramado *Anais...* Gramado: SOVERG, 1997. 306 p. p. 173.
- LILENBAUM, W., SANTOS, M.R.C., BARBOSA, A.A.V. Leptospirose em reprodução animal: II. Bovinos do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.2, p. 1-6, 1995.
- LINS, Z.C., LOPES, M.L., MAROJA, O.M. Epidemiologia das leptospiroses com particular referência à Amazônia Brasileira. In: INSTITUTO Evandro Chagas: 50 anos de contribuição às Ciências Biológicas e a Medicina Tropical. Belém: Fundação de Serviços de Saúde Pública, 1986. v. 2, p. 733-761.
- MOREIRA, E.C. Avaliação de métodos para erradicação de leptospiroses em bovinos leiteiros. Tese de Doutorado. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG. 110 p, 1994.
- MOREIRA, E.C. **Avaliação de métodos para erradicação de leptospirose em bovinos leiteiros.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1994. 110 p. Tese (Doutorado) – UFMG, 1994.
- MOREIRA, T.M.S. **Prevalência de aglutininas antileptospiras em soros sanguíneos dos estados do Pará e do Amazonas. Brasil.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1982. 43 p. Dissertação (Mestrado) – UFMG, 1982.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. World Organization for Animal Health. **Manual of standards for diagnostic test and vaccines.** 3. ed. Paris, 1996. p. 198-206.
- RECKZIEGEL, A.M.S. Leptospirose: sensibilidade e especificidade do teste de diagnóstico por soroaglutinação microscópica em bovinos com presença renal do agente. *Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, v. 23, p. 192-194, 1995. (Resumo de Dissertações de Mestrado).
- RIBEIRO, S.C.A., MOREIRA, E.C., GOMES, A.G., VALE, C. Infecção por *Leptospira interrogans*, numa fazenda de Minas Gerais, Brasil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.40, p. 137-144, 1988.
- RODRIGUES, C.G., UETI, M.W., MULLER, E.E., FREITAS, J.C. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em bovinos leiteiros no norte do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24., 1996, Goiânia. **Resumos de temas livres...** Goiânia: Sociedade Goiana de Veterinária, 1996. 251 p. p. 168.
- SANTANA, A.O.B., OBA, E., LANGONI, E., URIBE, L.F.V. Aglutininas anti-leptospíricas em fêmeas bovinas repetidoras de cio. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 21, p. 169-172, 1997.
- SILVA, J.A., OLIVEIRA, P.R., CAMARGO, C.R.M., FERNANDES, A.A., SILVA, M.B.O., COLICCHIO, A.L., ANDEREGG, P.I. Frequência de brucelose e leptospirose em rebanhos leiteiros do município de Esmeraldas – MG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., 1994. *Anais...* Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1994. 672p. p. 241.
- SKILBECK, N.W., FORSYTH, W.M., DOHNT, M. Bovine leptospirosis: Microbiological and histological findings in cattle at slaughter. *Australian Veterinary Journal*, v. 65, p. 73-75, 1988.
- SMITH, C.R., KETTERER, P.J., MCGOWAN M.R., CORNEY, B.G. A review of laboratory techniques and their use in the diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar hardjo infection in cattle. *Australian Veterinary Journal*, v.71, p. 290-294, 1994.

THIERMANN, A.B. Bovine leptospirosis: Bacteriologic versus serologic diagnosis of cows at slaughter. **American Journal of Veterinary Research**, v. 44, p. 2244-2245, 1983.

VARGA, J. **Microbiologia veterinária (in Hungarian)**. Budapest: Tuboly, 1998. p. 190-191.

VASCONCELLOS, S.A., BARBARINI JÚNIOR, O., CORTEZ, A., PINHEIRO, S.R., FERREIRA, F., FAVERO, A.C.M., FERREIRA-NETO, J.S. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul, período de janeiro à abril de 1996. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 64, p. 7-15, 1997.

