

LEPTOSPIROSE BOVINA

Leandro Temer Jamas¹
Rodrigo Rhoden Barcellos¹
Benedito Donizete Menozzi¹
Helio Langoni¹

RESUMO

A leptospirose é uma doença infecciosa zoonótica causada por espiroquetas do gênero *Leptospira spp.* É endêmica no Brasil e tem distribuição mundial. Ocorre em países de climas tropicais e subtropicais, onde a umidade e o calor favorecem a sobrevivência do agente. Na infecção crônica pode ocasionar graves problemas reprodutivos, como aborto, natimorto e baixa fertilidade. Está relacionada a fortes chuvas, inundações, contato direto com animais infectados e sua urina, e restos de aborto. Sua presença no trato reprodutivo é o principal fator que induz perdas e subfertilidade. A leptospiremia termina aproximadamente dez dias após o início da infecção, quando anticorpos específicos surgem na circulação, promovendo a sua eliminação da corrente sanguínea e na maioria dos órgãos acometidos, e uma vez alojadas em locais protegidos do sistema imune, como rins e trato genital, podem persistir por períodos prolongados de tempo. O comprometimento renal vai desde pequenos infiltrados inflamatórios focais até grandes lesões, como necrose celular, atrofia tubular e hemorragia renal, seguida de cicatrização e localização de leptospiras na superfície luminal das células tubulares. São eliminadas na urina em períodos variáveis, por animais portadores renais, que pode levar à infecção por exposição à urina ou ambientes contaminados. O objetivo desse trabalho foi avaliar por meio de revisão bibliográfica, os aspectos etio-epidemiológicos, de diagnóstico e medidas de biossegurança relacionados à leptospirose bovina, sua relevância para a saúde pública e os impactos negativos que ela causa na pecuária bovina, principalmente a leiteira, e dentro do contexto de saúde única, a infecção também em humanos, considerando-se a tríade, animal, ser humano e a participação do meio ambiente na manutenção do agente.

Palavras-chave: leptospirose bovina, sanidade animal, saúde pública, saúde única.

BOVINE LEPTOSPIROSIS

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonotic infectious disease caused by spirochetes of the genus *Leptospira spp.* It is endemic in Brazil and has a worldwide distribution. It occurs in countries with tropical and subtropical climates, where humidity and heat favor the agent's survival. In chronic infection it can cause serious reproductive problems, such as abortion, stillbirth and low fertility. It is related to heavy rains, floods, direct contact with contaminated animals and their urine, and remains of abortion. Its presence in the

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Botucatu/SP. Correspondência:
leandrotemer@gmail.com

reproductive tract is the main factor that induces losses and subfertility. Leptospiremia ends approximately ten days after the start of the infection, when specific antibodies appear in the circulation, promoting their elimination from the bloodstream and in most of the affected organs, and once housed in protected areas of the immune system, such as kidneys and genital tract, may persist for extended periods of time. Renal impairment ranges from small focal inflammatory infiltrates to large lesions, such as cell necrosis, tubular atrophy and renal hemorrhage, followed by scarring and localization of leptospirems on the luminary surface of tubular cells. They are eliminated in the urine at variable periods by animals with kidney disease, which can lead to infection by exposure to urine or contaminated environments. The objective of this work was to evaluate, through bibliographic review, the etio-epidemiological aspects, diagnosis and biosafety measures related to bovine leptospirosis, its relevance to public health and the negative impacts that it causes in cattle breeding, mainly dairy, and within the context of unique health, the infection also in humans, considering the triad, animal, human being and the participation of the environment in the maintenance of the agent.

Keywords: bovine leptospirosis, animal health, public health, One health.

LEPTOSPIROSIS BOVINA.

RESUMEM

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa zoonótica causada por espiroquetas del género *Leptospira spp.* Es endémico en Brasil y tiene una distribución mundial. Ocurre en países con climas tropicales y subtropicales, donde la humedad y el calor favorecen la supervivencia del agente. En la infección crónica, puede causar problemas reproductivos graves, como aborto, muerte fetal y baja fertilidad. Está relacionado con fuertes lluvias, inundaciones, contacto directo con animales contaminados y su orina, y restos de aborto. Su presencia en el tracto reproductivo es el factor principal que induce pérdidas y subfertilidad. La leptospiremia termina aproximadamente diez días después del inicio de la infección, cuando aparecen anticuerpos específicos en la circulación, promoviendo su eliminación del torrente sanguíneo y en la mayoría de los órganos afectados, y una vez alojados en áreas protegidas del sistema inmune, como los riñones y el tracto genital, puede persistir por largos períodos de tiempo. La insuficiencia renal varía desde infiltrados inflamatorios focales pequeños hasta lesiones grandes, como necrosis celular, atrofia tubular y hemorragia renal, seguida de cicatrización y localización de leptospiras en la superficie luminaria de las células tubulares. Son eliminados en la orina en períodos variables por animales con enfermedad renal, lo que puede provocar infección por exposición a orina o ambientes contaminados. El objetivo de este trabajo fue evaluar, a través de la revisión bibliográfica, los aspectos etioepidemiológicos, el diagnóstico y las medidas de bioseguridad relacionadas con la leptospirosis bovina, su relevancia para la salud pública y los impactos negativos que causa en la cría de ganado, principalmente

productos lácteos, y dentro del contexto de salud única, la infección también en humanos, considerando la tríada, animal, ser humano y la participación del medio ambiente en el mantenimiento del agente.

Palabras clave: leptospirosis bovina, salud animal, salud pública, salud única

INTRODUÇÃO

A leptospirose bovina é uma doença cosmopolita ocasionada por micro-organismos do gênero *Leptospira*, que compromete os níveis de produção e produtividade dos rebanhos afetados, sendo considerada endêmica no Brasil. Além dos aspectos de produção animal devem ser considerados os aspectos de saúde pública, principalmente para pessoas que tem contato com os animais, nas atividades laborais de maneira geral, bem como em trabalhadores nas indústrias de carnes (1).

Com sensível importância zoonótica, as leptospirosas patogênicas são agentes etiológicos já descritos em uma grande variedade de animais domésticos e selvagens que se infectam naturalmente, entretanto, reduzido número de animais manifesta a doença. Causam elevados prejuízos para a pecuária, podendo estar relacionados direta ou indiretamente à problemas reprodutivos, como abortamentos, natimortalidade e nascimento de bezerros fracos (2).

A infecção em animais pode apresentar diferentes aspectos clínicos, dependendo da interação entre o hospedeiro e cepa infectante. Portanto, pode ser caracterizada em infecções acidentais que resultam em forma aguda e grave sistêmica da doença; e infecções adaptadas, com pouco efeito clínico, onde o dano patológico é mínimo a seus hospedeiros. Os aspectos clínicos da leptospirose bovina indicam que é uma doença reprodutiva independente da cepa infectante. A pesquisa na área geralmente se concentra em detecção de portadores renais e teste de urina, com a detecção de portadores genitais frequentemente negligenciados. Apesar da relevância da colonização do trato genital por leptospirosas (3,4).

A leptospirose foi descrita pela primeira vez em 1880, no Cairo, pelo médico francês Larrey, no entanto, foi em 1886 que Adolf Weil, descreveu minuciosamente quatro casos clínicos em humanos. A enfermidade em humanos apresenta-se de várias formas, às vezes semelhante a um estado gripal, outras vezes assintomática, podendo entretanto, ser grave e com o desenvolvimento de quadros de meningite (5). Trata-se de uma doença ocupacional. É descrita em trabalhadores com bovinos, em trabalhadores na plantação de arroz, da cana-de-açúcar, esgotos e em outros grupos de risco, que realizam atividades em locais altamente úmidos. Fortes chuvas, inundações, contato direto com animais e indireto com sua urina ou órgãos infectados, são riscos importantes de infecção humana em áreas rurais, suburbanas ou urbanas (6).

O Brasil tem 23 milhões de vacas ordenhadas diariamente e, a produção de leite é presente em cerca de 99% das propriedades rurais (7), colocando o Brasil na quinta posição de produção de leite. A região Sul do Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking

nacional e o estado de Santa Catarina é o quinto maior produtor de leite bovino. Alguns estudos relatam algum risco e fatores associados à alta prevalência de leptospirose bovina em muitos países (8), bem como em alguns estados brasileiros, evidenciando que esta doença causa graves perdas econômicas, não só no Brasil. Maiores taxas de prevalência são observadas na região Centro-Oeste, como no estado de Mato Grosso do Sul, com 98,8%, bem como no Nordeste, onde a ocorrência de chuvas, variações de umidade e clima estão ligadas a maior prevalência a doença (9). Em estudos nos estados de Santa Catarina e Goiás verificou-se soroprevalência da leptospirose bovina em 25,2 e 18,9% dos animais (10,11), sugerindo que as condições climáticas, manejo do rebanho e a densidade animal contribuem para a disseminação da doença.

Considerando a distribuição mundial, alguns países latino-americanos, como a Venezuela, têm altas prevalência (80,51%) e com predominância do sorogrupo Sejroe (12). A menor prevalência foi observada no Peru (2,6%), mas o estudo foi realizado durante a estação seca, o que diminui as chances de sobrevivência bacteriana, e também a transmissão (13). Resultados semelhantes foram observados na Colômbia e México (14). Todavia, 75% dos rebanhos chilenos são positivos para leptospirose, sendo a doença bastante difundida em fazendas leiteiras (15). A presença de vacas infectadas e a alta densidade de animais, podem ajudar na contaminação do meio ambiente e disseminação da doença, pois esses animais podem atuar como reservatórios, tornando-se fontes de infecção para outros animais da propriedade (16).

A presença de cães em propriedades rurais tem sido considerada um fator importante na epidemiologia da leptospirose e na sua prevalência no rebanho (1). Roedores em contato direto com bovinos e alimentos são fatores de risco, para a infecção e doença (17). No entanto, esses fatores de riscos associados a leptospirose dependem de muitas variáveis, como localização da propriedade, grau de tecnificação agrícola, composição do rebanho, manejo zoonosológico, alimentação, cuidados com os animais. (16).

ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA

Atualmente, o gênero *Leptospira* está classificado em 35 espécies e mais de 250 sorovares com base na caracterização molecular e sorológica (18,19). Destas, dez espécies são consideradas patogênicas, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. alexanderi*, *L. kmetyi*, *L. alstonii* e *L. mayottensis* (18). A maioria dessas espécies causa infecção em animais e algumas já foram descritas como causadoras de doenças em humanos (20,21). São caracterizadas por características fenotípicas e genotípicas, como sorogrupos / sorovares e genótipos, respectivamente (19).

O gênero *Leptospira* era dividido em duas espécies: *L. interrogans*, que englobava um grande número de variedades patogênicas, e *L. biflexa*, variedades de comportamento saprófita. Esta divisão baseava-se em critérios estritamente relacionados a reações sorológicas, com sorogrupos e sorovares patogênico e saprófitas. Na

atualidade estima-se a existência de aproximadamente 300 sorovares de *L. interrogans* divididas em 25 sorogrupos (22).

Dentre os sorovares mais encontrados nos bovinos, está o Hardjo, considerados hospedeiros primários de manutenção. Dois tipos de sorovariedade Hardjo sorologicamente idênticos, mas geneticamente distintos, são aceitos: *L. interrogans*, sorovar Hardjo, tipo Hardjoprajitno e Borgpetersenii, sorovar Hardjo, tipo Hardjobovis (22). Inquéritos sorológicos realizados no Brasil em bovinos descrevem a distribuição de *Leptospira spp.* em vários estados brasileiros, com taxas variáveis de soroprevalência (23).

A *Leptospira spp* é uma espiroqueta, móvel, tem forma espiralada. No meio ambiente sob condições favoráveis de umidade, temperatura (de 28-30°C) e pH ideal (7,2 a 7,4), podem sobreviver por até 180 dias. As leptospirosas em geral não são hospedeiro-específica, todavia, alguns sorovares demonstram afinidade por determinados hospedeiros como sorovar Canícola em cães, Icterohaemorrhagiae, para roedores, Pomona para suínos e Hardjo para bovinos (24).

São exigentes quanto ao isolamento e exigem meios nutritivos. A visualização de leptospirosas em preparação a fresco só é possível por microscopia de campo escuro e de contraste de fase. Coram-se mal aos derivados anelínicos, corando-se com corantes a base de sais de prata como argenteo-metanoamina, Gomori, Levaditi e Warthin-Starry. A sobrevivência das leptospirosas patogênicas na água varia de acordo com a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição. Todas são sensíveis ao pH ácido de 6,8 ou menos, sendo que a multiplicação é ótima em pH levemente alcalino compreendido entre 7,2 e 7,4 (24).

Estudo de soroprevalência em 282 propriedades, no Rio Grande do Sul, em 3.265 soros bovinos, revelou 41,49% de soroprevalência, reforçando que as *Leptospiras spp* estão amplamente disseminadas nas mesorregiões sudeste, sudoeste e sul do estado do Rio Grande do Sul (25). Pesquisa realizada com fêmeas bovinas com leptospirose e retenção de placenta no sudoeste do Paraná, revelou que dos 84 animais avaliados, 39,28% (33/84) foram reagentes, sendo identificado o sorovar Icterohaemorrhagiae em 33,3% (11/33), os sorovares Hebdomadis e Wolffii em 27,27% (9/33) e 24,24% (8/33), respectivamente. Outros sorovares encontrados foram o Gryppothyphosa em 18,18% (6/33) dos animais, Pyrogenes em 15,15% (5/33), Canicola em 12,12% (4/33), Pomona em 12,12% (4/33), Autumnalis em 9,09% (3/33), Australis em 6,06% (2/33), Hardjo em 6,06% (2/33), Shermani em 6,06% (2/33), Copenhageni em 3,03% (1/33), Tarassovi em 3,03% (1/33) e Patoc em 3,03% (1/33) (26).

A soroprevalência e os fatores de risco associados à infecção, em amostras de soro de 1242 vacas adultas em diferentes estágios de lactação, de 69 rebanhos no oeste de Santa Catarina, revelou que vacas soropositivas tinham 8% mais chances de desenvolver distúrbios reprodutivos. Tal fato é importante para reforçar que o agente infeccioso *Leptospira spp.* tem uma apresentação crônica em bovinos, causando graves problemas reprodutivos, como aborto, natimorto e baixa fertilidade (3,27). Há uma

tendência do sorovar Hardjoprajitno estar envolvido na ocorrência de problemas reprodutivos. Sendo os bovinos considerados hospedeiros de manutenção dos sorovares Hardjoprajitno e Hardjobovis (28,29).

A detecção de anticorpos anti-*Leptospira spp.* em touros em idade reprodutiva em rebanhos do município de Bauru, estado de São Paulo, Brasil, revelou o sorovar Hardjo, tipo Hardjoprajitno (81,8%), Hardjo, tipo Hardjoprajitno estirpe Canta Galo-CTG (75,8%), Wolffi (57,5%) e Hardjo, tipo Hardjobovis (51,5%) como os mais frequentes (30). Esses resultados concordam com os de outros estudos semelhantes realizados em bovinos no Brasil. Em Goiás, no exame de 140 touros da microrregião de Goiânia, foi observado 74,3% de soropositividade, e os sorovares mais frequentes foram Wolffi e Hardjo (31). No estado de São Paulo, a avaliação de 2.761 bovinos, de sete municípios, incluindo fêmeas e machos de diferentes idades, foi encontrada uma positividade de 45,6%, e os sorovares Wolffi e Hardjo também foram os mais frequentes (32). Estes são apontados como os mais frequentes em bovinos no Brasil, considerando estes animais como hospedeiros de manutenção para o sorovar Hardjo (33,34). Além deles, foi observada em bovinos a ocorrência de reações para os sorovares Bratislava, Djasiman, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Tarassovi. Esses sorovares são considerados acidentais para bovinos, e a transmissão indireta está associada ao contato com o meio ambiente contaminado por leptospirosas originadas de espécies silvestres ou de espécies domésticas diferentes (33).

Na região do Pantanal de Mato Grosso do Sul, em uma área composta por nove municípios e 6.320 propriedades, apresentando um total de 2.157.468 fêmeas com mais de 24 meses, os sorovares mais encontrados foram Hardjo, com percentuais de animais reagentes variando de 5,88% a 63,64% e o sorovar Wolffi, cujos percentuais de reações detectadas variaram de 7,72% a 59,98%. Neste trabalho evidenciou-se a predominância de reações para os sorovares Hardjo (Hardjoprajitno) em 34,39% dos rebanhos e fatores de risco tais como: compra de reprodutores, presença de suínos e cervídeos na propriedade, áreas alagadiças, aluguel de pasto e raças especializadas compondo o rebanho (35).

Pesquisa com 270 amostras de sangue de bovinos de leite para a soroprevalência da leptospirose na mesorregião noroeste do Rio Grande do Sul abrangendo 18 propriedades rurais distribuídas em 17 municípios resultou como sorovares/sorogrupos prevalentes Hardjobovis (Hardjo) e Djasiman (sorogrupo Djasiman) com 21,4% e 19% de soropositividade, respectivamente (36). Em estudo com 25 rebanhos leiteiros, foi aplicado um questionário a cada propriedade aleatoriamente quanto à leptospirose num total de 500 vacas, sendo 32% dos rebanhos positivos para o sorogrupo Sejroe. Das 500 vacas estudadas, 48 (9,6%) foram sororeagentes, 38 (7,6%) com títulos 400 e 10 (2%) \geq 800. A repetição do estro foi o problema reprodutivo mais relatado e fortemente associado à positividade para leptospirose (37). A vacinação específica contra a leptospirose foi uma importante proteção contra esse distúrbio (37).

A infecção do trato genital é considerada um efeito secundário da infecção renal, como resultado da bacteremia (38). *Leptospira spp.* pode ser encontrada no sêmen de

touros (39). Estudo experimental conduzido pela infecção *Hardjobovis* em novilhas demonstrou que esses organismos são capazes de atingir o trato reprodutivo independente de qualquer associação com espermatozoides, estabelecendo infecção no útero e oviduto (40). Há relato da frequência de DNA leptospiral na secreção vaginal de vacas aparentemente assintomáticas, reforçando que a infecção pode ocorrer da fêmea para macho por descargas e secreções vaginais por monta natural (4).

PATOGENIA E IMUNOLOGIA

A penetração ativa dos micro-organismos pelas mucosas, pele escarificada ou integra estão inclusas na patogenia. Subsequentemente as leptospirosas multiplicam-se no espaço intersticial e nos humores orgânicos (sangue, linfa e líquido), caracterizando um quadro agudo septicêmico de leptospiremia. As lesões primárias são em função da ação micro-organismo nas células endoteliais de revestimento vascular. Há lesões dos pequenos vasos e o extravasamento sanguíneo para os tecidos (hemorragias), aparecimento de trombos e o bloqueio do aporte sanguíneo nas áreas de fase aguda da infecção. A fase de leptospiremia termina quando os anticorpos específicos surgem na circulação, aproximadamente dez dias após o início da infecção, promovendo a eliminação de leptospirosas da corrente sanguínea e da maioria dos órgãos acometidos. Todavia, as leptospirosas localizadas em locais protegidos do sistema imune, como rim e trato genital, podem persistir por períodos prolongados. A persistência de leptospirosas nos rins pode ocasionar desde pequenos infiltrados inflamatórios focais a grandes lesões, caracterizadas por necrose celular, atrofia tubular e hemorragia renal, seguida de cicatrização e localização de leptospirosas na superfície luminal das células tubulares (1).

As leptospirosas são eliminadas pela urina (leptospiúria) por períodos variáveis de dias a meses. Desta forma evidência a existência de portadores renais, onde a transmissão pode ocorrer pela exposição à urina de animais infectados seja diretamente pelo contato ou a partir de ambientes ou água contaminada. As bactérias são removidas da corrente circulatória e dos tecidos por ação dos anticorpos pela opsonofagocitose, porém elas podem permanecer no tecido renal dos animais por longos períodos (41), tornando-os portadores renais.

A doença pode ser adquirida portanto pelo contato com a urina, água ou solo contaminados com a bactéria e adentram no organismo, se disseminam pela corrente sanguínea, atingindo órgãos específicos como fígado, pulmões e rins, onde podem sobreviver por meses (42). Nos rins as bactérias multiplicam-se localizando-se no túbulo proximal renal, onde o agente não sofre ação do sistema imune, em virtude da dificuldade dos fagócitos e anticorpos atravessarem a barreira glomerular, desta forma observa-se a permanência do agente nos túbulos contorcidos renais e eliminação para o ambiente pela urina (24).

As leptospirosas patogênicas são capazes de resistir à fagocitose por macrófagos e neutrófilos contanto que, anticorpos específicos estejam presentes (43). Mesmo assim, são capazes de sobreviver no interior dos macrófagos e escapar da apoptose, uma

característica compatível com a virulência (44). A correlação entre leptospiroses e o sistema imune do hospedeiro tem sido avaliada. As consequências da infecção aguda nos humanos que são suscetíveis e em ratos resistentes, podem ser em decorrência aos diferentes resultados na interação da leptospira com macrófagos de espécies distintas (45). O dano tecidual observado nas espécies animais suscetíveis à leptospirose aguda e severa, como humanos e hamster, é acompanhado de aumento na produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias quando comparado a espécies animais resistentes, como o rato (46). Altos títulos de anticorpos circulantes não estão relacionados na proteção contra a infecção. Desta forma a imunidade nos bovinos está relacionada com a resposta Th1 mediada pelo IFN-gama. Vacinas com intuito de estimular uma resposta Th1 não são capazes de proteger os bovinos contra a infecção, colonização renal, perpetuação das leptospiroses pela urina e proteção contra a infecção fetal transplacentária (47).

DIAGNÓSTICO

Clínico

A leptospirose bovina tem quadro clínico semelhante a outras doenças infecciosas de caráter reprodutivo, sendo assim o diagnóstico da infecção deve direcionar aos sinais clínicos de febre, diarreia, anemia, icterícia e hemoglobinúria, além das evidências epidemiológicas e os resultados de exames laboratoriais (24). Nos bovinos há sinais reprodutivos, como abortos, natimortos, reabsorção fetal, nascimento de animais debilitados e infertilidade, podendo a fêmea necessitar de 3-6 coberturas para conceber (1,48). Há ainda relatos de casos de mastite clínica e subclínica, com presença de flacidez do úbere e leite amarelado com estrias de sangue, ocasionando elevada redução na produção (48).

A doença pode ser classificada como: acidental, causada pelos sorovares mantidos por outros animais domésticos e de vida livre, e adaptada, que é causada por bactérias mantidas pelo bovino e não requer outros animais para transmissão. Em ambas ocorrem distúrbios reprodutivos como aborto tardio, ao redor do 5^o mês de gestação, mas também outras alterações reprodutivas (3). Apesar da suspeita da doença, é importante a elucidação diagnóstica que deve ser considerada com a utilização de testes laboratoriais para fechar o diagnóstico, e também sugere-se o diagnóstico diferencial principalmente nos casos de alterações reprodutivas.

O sorogrupo Sejroe, mais especificamente os genótipos Hardjo, são adaptados aos bovinos onde a transmissão direta animal a animal é mais comum que a transmissão indireta ou contaminação ambiental. Por outro lado infecções acidentais pelo sorogrupo Icterohaemorrhagiae ou Pomona, levam a excreção renal. A transmissão da infecção acidental é mais dependente da presença de outras espécies hospedeiras e fatores ambientais, principalmente chuvas e água acumulada (24).

As formas agudas e graves de leptospirose com febre, icterícia, urina com sangue e mortalidade são menos frequentes e associada com surtos esporádicos em bezerros, causados por sorovares acidentais. A infecção acidental em bovinos adultos geralmente resulta em altas taxas de aborto, algumas semanas após a fase aguda da doença (24). Atualmente, icterícia congênita em fetos abortados foi incluída como um sinal clínico no aborto por leptospira (49). Os sorovares Pomona, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae são frequentemente identificados nas infecções acidentais em bovinos e sua transmissão está relacionada à suínos, roedores e animais selvagens (49). A leptospirose bovina é mais frequentemente causada por cepas adaptadas do sorogrupo Sejroe. Nestes casos a fase aguda da doença pode ser subclínica com a exceção de infecção em vacas em lactação, onde agalactia pode ocorrer (24).

A fase crônica da infecção é aparentemente silenciosa e, mesmo como o aborto, na maioria das vezes a infecção se apresenta de forma subclínica e silenciosa que é frequentemente negligenciada por pecuaristas e veterinários. As falhas reprodutivas como perdas embrionárias precoces e consequente repetição de estro são cada vez mais associados à infecção leptospírica adaptada em animais. Embora esses sintomas estejam frequentemente associados a vários fatores, dois estudos recentes revelam uma forte associação com a repetição de estro e sororeatividade contra o sorogrupo Sejroe (37,50).

Laboratorial

Atualmente, o método padrão de diagnóstico para leptospirose é baseado em testes indiretos como a sorologia, principalmente a aglutinação microscópica (MAT) e métodos diretos, como cultura bacteriológica e reação em cadeia de polimerase (PCR) (24). Essa abordagem é adequada também para detectar leptospirose aguda em humanos e em cães. Nesses casos, pacientes infectados apresentam títulos de IgM e IgG que são detectados pela MAT ou ELISA (51).

Para o levantamento sorológico deve se preocupar com os intervalos entre a vacinação e a colheita de amostras de sangue, com 90 dias para suínos e 120 para bovinos para facilitar a interpretação dos resultados uma vez que pode haver a detecção de anticorpos residuais como efeito da vacina. Os antígenos a serem utilizados devem compor pelo menos um representante por sorogrupo e, se possível, estirpes locais, pois os títulos obtidos com as cepas locais são frequentemente mais elevados que os encontrados com os sorovares de referência do mesmo sorogrupo (52). A SAM é um teste sorogrupo específico e a sua análise é complexa devido às reações cruzadas que podem acontecer entre sorogrupos diferentes, principalmente na fase aguda da doença. A sua especificidade é alta, contudo este teste tem algumas limitações: a sensibilidade diminui à medida que aumenta o tempo decorrido da infecção, não diferencia títulos de animais vacinados de não vacinados, há variabilidade entre os laboratórios, podendo ocorrer reações cruzadas com sorovares e algumas infecções latentes podem não ser identificadas (53).

O valor epidemiológico da SAM está na capacidade de prever o sorogrupo circulante. Desta forma, este método requer conhecimento para avaliar variações nos resultados, que devem ser interpretados com cautela (54). O uso da sorologia como diagnóstico em bovinos crônicos com leptospirose apresenta limitações. É um método útil para diagnóstico coletivo de rebanhos, onde são considerados infectados, quando animais sororeagentes representam 10% do rebanho. Foi amplamente demonstrado que animais infectados podem abortar ou ser portadores genitais, demonstrado por PCR e ainda apresentam títulos muito baixos que não são detectados pela SAM (54). Quando se sabe que a leptospirose causa problemas reprodutivos, a maioria dos estudos nessa área enfatiza a detecção de portadores renais por PCR urinário (55). Portanto, trabalhando com a saúde bovina e produtividade, a presença de leptospirose no trato reprodutivo é o principal fator que induz perdas e subfertilidade na prenhez (37). Estudos recentes demonstram que o estado do portador genital não pode ser previsto pela detecção do agente na urina (4).

Os bovinos infectados por estirpes adaptadas frequentemente apresentam baixos títulos de anticorpos quando comparado com amostras, relacionadas no isolamento (54). Embora leptospirose possa ser detectada na urina de bovinos infectados por estirpes adaptadas, a leptospiremia é intermitente e pouco intensa. Por outro lado, pesquisa sobre o muco cervico-vaginal em novilhas infectadas naturalmente demonstram resultados negativos em culturas bacteriológicas e testes de imunofluorescência, mesmo em casos com altos títulos de anticorpos locais o que sugere a presença do agente (56).

A cultura microbiana é considerada um método direto, e pode ser realizada por meio de vários tipos de materiais como, sangue, líquor, urina, biópsia de tecidos e fragmentos de tecidos post-mortem. A partir do isolamento de *Leptospira spp.* em meios como Fletcher e EMJH confirmou-se a positividade. Pode-se ainda, ser realizado o estudo de identificação dos sorovares, importante para vigilância epidemiológica pela identificação de patógenos locais. Salienta-se que há limitações como a complexidade dos meios de cultura, a necessidade de cultivar o material logo após a coleta, o longo tempo de desenvolvimento do agente e a dificuldade em se obter amostra livre de contaminantes. O isolamento de leptospirose é demorado devendo-se observar a cultura por até 60 dias. Pode ser utilizado ainda o diagnóstico histopatológico com técnicas especiais que utilizam sais de prata, como Warthin-Starry ou conjugados fluorescentes (24).

A SAM apresenta alta especificidade, sendo a técnica mais utilizada em todo mundo e considerada padrão-ouro. A desvantagem dessa técnica é a utilização de leptospirose vivas como antígenos e a não detecção de anticorpos antes da segunda semana da doença. O título sorológico aceito para que o animal seja considerado reagente é 100 UI (24). Testes sorológicos pareados, em intervalos de 15 a 30 dias, com aumento do título de quatro vezes, são considerados conclusivos no diagnóstico sorológico (24). O diagnóstico sorológico pelo teste de ELISA é eficiente, tendo como vantagem a utilização apenas de frações bacterianas, não necessitando de antígeno vivo, e a possibilidade de detectar especificamente anticorpos da classe IgM ou IgG

possibilitando distinguir animais infectados de vacinados. Pode ser utilizado tanto no início da doença (ELISA-IgM) quanto no período tardio (ELISA- IgG), ou convalescença (57).

As leptospiros são encontradas na urina e órgãos por provas de interação entre antígenos e anticorpos marcados pela imunofluorescência e imunoperoxidase (58). Dentre as técnicas de diagnóstico baseadas na detecção do DNA das leptospiros, a reação em cadeia de polimerase (PCR) é utilizada nos casos de fluidos orgânicos e órgãos de várias espécies animais, sendo esta muito recomendada para o diagnóstico em fetos abortados. Trata-se de um método rápido, sensível e específico, podendo ser utilizado para amostras de sangue, urina, líquido e órgãos. Possibilita o diagnóstico a partir de uma pequena amostra de material. É uma técnica eficaz no diagnóstico antes mesmo do desenvolvimento dos títulos de anticorpos, que na leptospirose são detectados somente cinco a sete dias após a infecção (59).

Tem sido usado como diagnóstico direto para detectar portadores individuais de *Leptospira* em bovinos. A alta sensibilidade e especificidade fornecida por esse método é uma vantagem em comparação com a cultura (60). Frequentemente utilizado para amostras de urina ou tecido, a PCR é facilmente adaptada às amostras de corrimento vaginal. Um estudo usando vacas em abatedouros indicou que 50,4%, foram positivos em amostras de corrimento vaginal, e 60% foram negativos quando a PCR foi aplicada a amostras de urina (4). Por outro lado em um surto, onde 24 vacas leiteiras com alterações reprodutivas devido à leptospirose, somente um animal foi positivo na PCR de urina, enquanto oito apresentaram resultado positivo no corrimento vaginal (61).

SAÚDE PÚBLICA

Essa zoonose está relacionada às más condições de infraestrutura sanitária, o que reflete na baixa condição socioeconômica do país (5). É uma enfermidade que consta da lista múltipla de espécies do Código Sanitário de Animais Terrestres da Organização Internacional de Epizootias, pela ampla distribuição mundial e ter consequências na comercialização internacional de animais, produtos e subprodutos (62), além de ser um problema de saúde pública.

Os aspectos fundamentais para a ocorrência das epidemias estão relacionados aos fatores socioeconômicos e às precárias condições de infraestrutura, como a falta de saneamento básico e o crescimento desordenado das comunidades. Por ser uma enfermidade de distribuição mundial, as condições ambientais das regiões de clima tropical, com temperaturas elevadas e altos índices pluviométricos favorecem o aparecimento de surtos epidêmicos, mais frequentemente nos meses de dezembro, janeiro e fevereiro períodos em que ocorrem enchentes nos grandes centros urbanos (23).

Desta forma a leptospirose é considerada uma doença de risco ocupacional, atingindo diferentes categorias profissionais/ocupacionais. Os trabalhadores do serviço de saneamento ambiental que manipulam material possível de contaminação por

roedores como águas, bueiros, galerias de esgotos, coleta de lixo tem elevado risco de contrair a infecção; além de trabalhadores em arrozais e canaviais (41), fazendeiros, agricultores, veterinários, pessoas que manipulam produtos de origem animal como nos abatedouros e frigoríficos (33). Até mesmo trabalhos domésticos, como limpar a casa e atividades de jardinagem estão associados ao risco individual para a infecção (63).

Sendo um hospedeiro acidental e terminal na cadeia de transmissão da leptospirose, o ser humano pode se contaminar pela exposição direta com sangue, tecidos, órgãos e urina de animais infectados, ou pela exposição indireta com água ou solo contaminado com a urina ou outros fluídos de animais portadores da infecção. A leptospirose humana se caracteriza como enfermidade dentro do contexto one health (saúde única) afetando o animal, o ser humano tendo o meio ambiente participação pela manutenção do agente. Quanto aos animais há inúmeros reservatórios ou portadores renais, como animais de estimação, de interesse zootécnico, silvestres e sinantrópicos como os roedores, entre eles o *Rattus norvegicus* (ratazana de esgoto). Por outro lado o ser humano como susceptível à infecção e o meio ambiente, que oferece condições de manutenção do agente infeccioso, tanto de sorovares patogênicos como os saprófitas (5), fechando-se a tríade: animal, ser humano e o meio ambiente o que caracteriza a saúde única ou seja a saúde do ser humano, dos animais e do meio ambiente.

PROFILAXIA, TRATAMENTO E MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA

A dinâmica da epidemiologia da leptospirose e a variedade de animais selvagens que podem estar perpetuando como reservatórios tornam o controle leptospirose bovina desafiador, oneroso e frustrante (55). Para diminuir os efeitos da doença no rebanho, o controle deve prever antibioticoterapia (principalmente estreptomina), vacinação (bacterinas de células inteiras) e manejo adequado, primordialmente de terrenos alagadiços (64). Tais medidas são positivas para surtos em que as fontes de infecção ou reservatórios podem ser identificadas no rebanho. Entretanto, o controle se torna ainda mais difícil quando a doença crônica é ocasionada por leptospirosas adaptadas, pois a doença é endêmica sendo o bovino reservatório e a fonte de infecção, mesmo com poucos fatores ambientais envolvidos. Como é impossível evitar a principal via de transmissão entre bovinos, a gestão ambiental é ineficaz (64,65). Sendo uma doença esfera reprodutiva, o manejo reprodutivo adequado é recomendado a partir da utilização de vacina e a prática da inseminação artificial ou de outras técnicas para evitar a transmissão sexual (65,66).

Os antimicrobianos são importantes nos programas de controle da leptospirose. Antibióticos são usados no início para reduzir o número de animais infectados e minimizar a transmissão horizontal (animal para animal). A dihidroestreptomina é ainda é o medicamento mais recomendado para o tratamento da leptospirose bovina. A concentração recomendada é de 25 mg / kg em dose única IM para eliminar estado de portador renal (67). Entretanto, em alguns experimentos, essa dosagem não tem sido

eficaz, principalmente em relação à infecção crônica adaptada ao hospedeiro. Portanto, para esses casos, é recomendada a mesma dose uma ou duas vezes ao dia por três dias consecutivos (68). Desde que não sejam animais produtores de alimentos, nos Estados Unidos, outros medicamentos, como a oxitetraciclina (20 mg / kg) de peso corporal, ou tilmicosin (10 mg / kg), ou ceftiofur (2,2 ou 5 mg / kg), uma vez ao dia por 5 dias, ou (20 mg / kg), uma vez ao dia por 3 dias, são utilizados em rebanhos bovinos com resultados satisfatórios (69).

A imunização é a medida de controle menos dispendiosa para leptospirose e sua adoção é essencial em programas de controle. No entanto, apenas bacterinas estão disponíveis comercialmente e a eficácia desta vacina no controle de perdas reprodutivas devido à infecção é questionável. Reduções bem-sucedidas nas perdas reprodutivas associadas a infecção por leptospira foi com a combinação de antibióticos para controlar a infecção até a imunidade ser induzida pela vacinação (65) e / ou administração completa da vacina antes da estação de monta. Tal medida garante resposta máxima de anticorpos e resultados reprodutivos satisfatórios durante a concepção, bem como início e meio da gestação. A vacinação é um fator de proteção contra a repetição do estro ocasionada pela leptospirose (37).

O sorovar Hardjo é um dos mais importantes e mais frequentes principalmente nos rebanhos de bovinos leiteiros de maneira geral. A vacinação de bovinos leiteiros, utilizando vacina produzida com este sorovar, autóctone, reduziu os casos de abortos e mastites nos rebanhos, após um período de dois anos de imunizações. Essa prática foi adotada em função de uma possível falha vacinal apresentada pelas bacterinas comerciais (70,71). O esquema de vacinação utilizando-se vacinas inativadas propõe a aplicação da primeira dose da vacina em bezerras no segundo mês de vida, com reforço de 21 a 28 dias após, e revacinação anual (72). Na prática tem-se recomendado revacinações quadrimensais em fêmeas bovinas em idade de reprodução.

A identificação do sorovar preponderante na propriedade, direciona para as fontes de infecção e transmissão. Na forma de infecções acidentais, determinadas por sorovares que não são mantidos pelos bovinos, como Pomona, Icterohaemorrhagiae ou Bataviae, é possível identificar de que forma o rebanho está entrando em contato com os reservatórios naturais destas variedades, como roedores e outros animais silvestres. Assim sendo, por medidas de higiene e de tecnificação da criação é possível, controlar a leptospirose no rebanho. Quando a infecção é determinada pelo sorovar Hardjo a partir de urina, cujo principal meio de transmissão é de bovino a bovino, pela urina principalmente, medidas devem ser executadas simultaneamente: proibir a introdução de novos animais no rebanho, salvo quando negativos ao sorodiagnóstico ou previamente tratados com dihidroestreptomicina. Quanto ao tratamento nesses casos recomenda-se tratar os animais sororeagentes do rebanho com dihidroestreptomicina 25 mg/kg, em dose única; fortalecimento da imunidade utilizando vacina que contenha as principais soroviedades presentes na região, rebanho incluindo, se possível, vacina com amostras locais (autóctones) (73).

A leptospirose pode ser evitada por meio de algumas medidas profiláticas como, combate aos roedores, mediante o uso de produtos químicos conhecidos como raticidas sendo produzidos por meio de produtos naturais (caules de árvores) ou sintéticos (monóxido de carbono, bissulfeto de carbono e outros). O acondicionamento e destino adequado do lixo e o armazenamento apropriado de alimentos também são medidas profiláticas cabíveis. O lixo a céu aberto é fonte de alimento para os roedores sinantrópicos, considerados como fontes de infecção (5). A coleta do lixo deve ser frequente com destino adequado; para usinas de tratamento ou depositado em aterros sanitários. Medidas de controle como investimentos no setor de saneamento básico, melhoria das condições higiênico-sanitárias da população e educação ambiental auxiliam na diminuição do potencial zoonótico desta enfermidade. A prevenção para exposições ocupacionais, como adequação de equipamentos de proteção individual (EPI's), luvas, botas e demais vestimentas de acordo com as atividades profissionais, são também recomendados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leptospirose bovina além de importante por impactar negativamente a cadeia produtiva nessa espécie animal, deve ser avaliada também pelos aspectos de saúde pública principalmente por ser considerada como doença ocupacional. Dessa forma os aspectos de profilaxia para seu controle são de extrema importância quanto ao tema saúde única, sugerindo-se ações de educação sanitária e medidas de biossegurança, baseada principalmente na realidade de cada propriedade, avaliando-se quais os sorovares prevalentes e que essas ações sejam direcionadas a todos os envolvidos no processo produtivo, de forma clara e acessível para a compreensão de todos.

REFERÊNCIAS

1. Faine S. Guidelines for the control of leptospirosis. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 1982. p.1-98.
2. Clazer M, Rodrigues GV, Araújo L, Lopes KFC, Zaniolo MM, Gerbasi ARV, et al. Leptospirose e seu aspecto ocupacional - Revisão de literatura. Arq Cienc Vet Zool UNIPAR. 2017;18(3):191-8.
3. Ellis WA. Animal leptospirosis. Curr Top Microbiol Immunol. 2015;387:99-137.
4. Loureiro AP, Pestana C, Medeiros MA, Lilenbaum W. High frequency of leptospiral vaginal carriers among slaughtered cows. Anim Reprod Sci. 2017;178:50-4
5. 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.
6. Campos ACPJR, Freneau GE, Juliano RS, Acypreste CS, Dias FCF, Martins ME. Prevalência de anticorpos antileptospira em machos bovinos na microrregião de Goiânia. Cienc Anim Bras. 2006;7(4):439-46.

7. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA [Internet]. Brasília: EMBRAPA; 2016 [cited 2020 Mar 3]. Available from: <https://www.embrapa.br/gado-de-leite>
8. Gadické P, Monti G. Factors related to the level of occurrence of bovine abortion in Chilean dairy herds. *Prev Vet Med.* 2013;110(2):183-9.
9. Figueiredo AO, Pellegrin AO, Gonçalves VSP, Freitas EB, Monteiro LARC, Oliveira JM, et al. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. *Pesqui Vet Bras.* 2009;29(5):375-381.
10. Favero M, Pinheiro SR, Vasconcellos SA, Moraes ZM, Ferreira F, Ferreira Neto JS. Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. *Arq Inst Biol.* 2001;68(2):29-35.
11. Paim ERDA, Ciuffa AZ, Gomes DO, Rezende LM, Silva DM, Pires BC, et al. Leptospirosis in dairy cattle in Ipameri, state of Goiás, Brazil. *Semina Cienc Agrar.* 2016;37(4):1937-46.
12. Gonzalez Gontafalla F, Rivera Pirela S. Characterization of bovine leptospirosis in Venezuela, Brief review of the disease. *REDVET Rev Electronica Vet.* 2015;16(2):1-22.
13. Arias CF, Suarez AF, Huanca LW, Rivera GH, Camacho SJ, Huanca MT. Prevalence of bovine leptospirosis at two localities in Puno during the dry season and determination of risk factors. *Rev Investig Vet Peru.* 2011;22(2):167-70.
14. Segura-Correa JC, Domínguez-Díaz D, Avalos-Ramírez R, Argaez-Sosa J. Intra-herd correlation coefficients and design effects for bovine viral diarrhoea, infectious bovine rhinotracheitis, leptospirosis and neosporosis in cow-calf system herds in North-eastern Mexico. *Prev Vet Med.* 2010;96(3-4):272-5.
15. Salgado M, Otto B, Sandoval E, Reinhardt G, Boqvist AS. Cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira spp.* serovars in small holder dairy cattle farms in southern Chile. *BMC Vet Res.* 2014;10:126.
16. Lilenbaum W, Souza GN. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Res Vet Sci.* 2003;75(3):249-51.
17. Garoussi MT, Vand-e-Useefee J, Mehrzad J. Seroprevalence of leptospiral infection in rodents of dairy cattle herds complexes in suburb of mashhad - Iran. *J Appl Anim Res.* 2006;30(2):109-11.
18. Picardeau M. Toolbox of molecular techniques for studying *Leptospira spp.* Berlin: Springer; 2017.
19. Levett PN, Picardeau M. International committee on systematics of prokaryotes subcommittee on the taxonomy of Leptospiraceae. Minutes of the closed meeting, 28 November 2017, Palmerston North, New Zealand. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2018;68(10):3362. doi: 10.1099/ijsem.0.002961.
20. Biscornet L, Dellagi K, Pagès F, Bibi J, Comarmond J, Mélade J, et al. Human leptospirosis in Seychelles: a prospective study confirms the heavy burden of the disease but suggests that rats are not the main reservoir. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(8):e0005831. doi: 10.1371/journal.pntd.0005831.

21. Cunha CE, Felix SR, Seixas Neto AC, Campello-Felix A, Kremer FS, Monte LG, et al. Infection with *Leptospira kirschneri* serovar mozdok: first report from the southern hemisphere. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;94(3):519-21. doi: 10.4269/ajtmh.15-0505.
22. Geder PH, Rogério OR, Gustavo M, Andrey PL, Elvio CM, Rômulo CL. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Cienc Anim Bras.* 2012;13(1):131-8.
23. Vasconcelos CH, Fonseca FR, Lise MLZ, Arsky MLNS. Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001–2009. *Cad Saude Coletiva.* 2012;20(1):49-56.
24. Genovez ME. Leptospirose em animais de produção. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. Rio de Janeiro: Roca; 2016. p.378-87.
25. Brod CS, Martins LFS, Nusbaum JR, Fehlberg MFB, Furtado RLT. Leptospirose bovina na Região Sul do Estado do Rio Grande do Sul. *Hora Vet.* 1995;84(14):15-20.
26. Porto YF, Pinto Neto AP, Bernardi F, Possa MG, Mota MF, Martinez AC, et al. Occurrence of brucellosis, leptospirosis and neosporosis in cows with retained placenta in Southwest Paraná, Brazil. *Pesqui Vet Bras.* 2018;38(8):1537-42.
27. Lilenbaum W, Martins G. Leptospirosis in cattle: a challenging scenario for the understanding of the epidemiology. *Transbound Emerg Dis.* 2014;61 Suppl 1:63-8.
28. Vasconcellos SA, Barbarini JO, Umehara O, Morais ZM, Cortez A, Pinheiro SR, et al. Leptospirose bovina: níveis de ocorrência e sorotipo predominantes em rebanhos dos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul, no período de janeiro a abril de 1996. *Arq Inst Biol.* 1997;64(2):7-15.
29. Mineiro ALBB, Bezerra EEA, Vasconcellos SA, Costa FAL, Macedo NA. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007;59(5):1103-9.
30. Sánchez GP, Lemos FA, Paixão MS, Alves-Martin MF, Guiraldi LM, Santos WJ, et al. Detecção de anticorpos *Antileptospira* spp. em touros em idade reprodutiva em rebanhos do município de Bauru, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev MV&Z.* 2016;2(14):92-3.
31. Campos ACPJR, Freneau GE, Juliano RS, Acypreste CS, Dias FCF, Martins ME. Prevalência de anticorpos antileptospira em machos bovinos namicrorregião de Goiânia. *Cienc Anim Bras.* 2006;4(7):439-46.
32. Langoni H, Meireles LR, Gottschalk S, Cabral KG, Silva AV. Perfil sorológico da leptospirose bovina em regiões do Estado de São Paulo. *Arq Inst Biol.* 2000;64(1):29-35.
33. Castro V, Azevedo SS, Gotti TB, Batista CSA, Gentili J, Moraes ZM, et al. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado de São Paulo, Brasil. *Arq Inst Biol.* 2008;75(1):3-11.
34. Sarmiento AMC, Azevedo SS, Morais ZM, Souza GO, Oliveira FCS, Gonçalves AP, et al. Emprego de estirpes *Leptospira* spp. isoladas no Brasil na

- microtécnica de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros. *Pesqui Vet Bras.* 2012;32(7):601-6.
35. Miashiro AF, Vasconcellos SA, Morais ZM, Souza GO, Leal Filho JM, Figueiredo AO, et al. Prevalência de leptospirose em rebanhos bovinos no Pantanal de Mato Grosso do Sul. *Pesqui Vet Bras.* 2018;38(1):41-7.
 36. Alba DAH, Silva JF, Souza GN, Jorge S, Dellagostin OA, Pegora RL MC. Soroprevalência de leptospirose em bovinos na mesorregião noroeste do Rio Grande do Sul. In: *Anais da 3ª Semana Integrada UFPL, 27º Congresso de Iniciação Científica*; 2017; Pelotas. Pelotas: UFPL; 2017.
 37. Libonati HA, Santos GB, Souza GN, Brandão FZ, Lilenbaum W. Leptospirosis is strongly associated to estrus repetition on cattle. *Trop Anim Health Prod.* 2018;50(7):1625-9.
 38. Monahan AM, Callanan JJ, Nally JE. Review paper: host-pathogen interactions in the kidney during chronic leptospirosis. *Vet Pathol.* 2009;46(5):792-9.
 39. 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(1):15-20.
 40. Bielanski A, Surujballi O, Golsteyn Thomas E, Tanaka E. Sanitary status of oocytes and embryos collected from heifers experimentally exposed to *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjobovis. *Anim Reprod Sci* 1998;54(2):65-73.
 41. Adler B, de la Peña Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):287-96.
 42. Fernandes LG, Siqueira GH, Teixeira ARF, Silva LP, Figueredo JM, Cosate MR, et al. *Leptospira* spp: novel insights into host-pathogen interactions. *Vet Immunol Immunopathol.* 2016;176:50-57.
 43. Adler B. Pathogenesis of leptospirosis: cellular and molecular aspects. *Vet Microbiol.* 2014;172(3-4):353-8.
 44. Jin D, Ojciu SDM, Sun D, Dong H, Luo Y, Mao Y, et al. *Leptospira interrogans* induces apoptosis in macrophages via caspase-8 and caspase-3-dependent pathways. *Infect Immun.* 2009;77(2):799-809.
 45. Li L, Ojcius DM, Yan J. Comparison of invasion of fibroblasts and macrophages by high- and low-virulence *Leptospira* strains: colonization of the host-cell nucleus and induction of necrosis by the virulent strain. *Arch Microbiol.* 2007;188:591-8.
 46. Matsui M, Rouleau V, Bruyère-Ostells L, Goarant C. Gene expression profiles of immune mediators and histopathological findings in animal models of leptospirosis: comparison between susceptible hamsters and resistant mice. *Infect Immun.* 2011;79(11):4480-92.
 47. Naiman BM, Alt D, Bolin CA, Zuerner R, Baldwin CL. Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and γ T lymphocytes. *Infect Immun.* 2001;69(12):7550-8.
 48. Ellis WA, O'Brien JJ, Cassells JA, Neill SD, Hanna J. Excretion of *Leptospira interrogans* serovar hardjo following calving or abortion. *Res Vet Sci.* 1985;39(3):296-8.

49. Delooz L, Czaplicki G, Gregoire F, Dal Pozzo F, Pez F, Kodjo A, et al. Serogroups and genotypes of *Leptospira* spp. strains from bovine aborted fetuses. *Transbound Emerg Dis*. 2018;65(1):158-65.
50. Mori M, Bakinahe R, Vannoorenberghe P, Maris J, de Jong E, Tignon M, et al. Reproductive disorders and Leptospirosis: a case study in a mixed-species farm (cattle and swine). *Vet Sci*. 2017;4(4):64.
51. Vasconcellos S. Laboratory diagnosis of leptospirosis in animals. In: *Anais do Simposio Internacional sobre Leptospira y Leptospirosis En las Américas; 2004; Cidade do México. Cidade do México: Divisões educação continua dela Universidade Nacional Autônoma de México; 2004. p.70-6.*
52. Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(2):296-326.
53. Willian V, Bernard DVM. Leptospirosis. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 1995;9:435-43.
54. Libonati H, Pinto PS, Lilenbaum W. Seronegativity of bovines face to their own recovered leptospiral isolates. *Microb Pathog* 2017;108:101-3.
55. Loureiro AP, Lilenbaum W. Genital bovine leptospirosis: a new look for an old disease. *Theriogenology*. 2020;141:41-7.
56. Dhaliwal GS, Murray RD, Dobson H, Montgomery J, Ellis WA. Presence of antigen and antibodies in serum and genital discharges of cows from dairy herds naturally infected with *Leptospira interrogans* serovar Hardjo. *Res Vet Sci* 1996;60(2):163-7.
57. Adugna S. A review of leptospirosis. *Eur J Appl Sci*. 2016;8(6):347-55.
58. Baskerville A. Histopathological aspects of diagnosis of leptospirosis. In: Ellis WA, Little TWA, editors. *The present state of leptospirosis diagnosis and control*. Northern Ireland: Springer; 1986. p.33-43.
59. Heinemann MB, Garcia JF, Nunes CM, Morais ZM, Gregori F, Cortez A, et al. Detection of leptospires in bovine semen by polymerase chain reaction. *Aust Vet J*. 1995;77(1):32-4.
60. Hamond C, Martins G, Loureiro AP, Pestana C, Lawson-Ferreira R, Medeiros MA, et al. Urinary PCR as an increasingly useful tool for an accurate diagnosis of leptospirosis in livestock. *Vet Res Commun*. 2014;38(1):81-5.
61. Pimenta CLRM, Costa DF, Silva MLCR, Pereira HD, Araújo Júnior JP, et al. Strategies of the control of an outbreak of leptospiral infection in dairy cattle in Northeastern Brazil. *Trop Anim Health Prod*. 2019;51(1):237-41.
62. Organização Mundial de Saúde Animal - OIE. Código Sanitário para los Animales Terrestres. Criterio de inscripción de enfermedades en la lista de la OIE [Internet]. Paris: OIE; 2009 [cited 2020 Mar 9]. Available from: <https://www.oie.int/es/normas/codigo-terrestre/>
63. Ashford DA, Kaiser RM, Spiegel RA, Perkins BA, Weyant RS, Bragg SL, et al. Asymptomatic infection and risk factors for leptospirosis in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg*. 2000;63(5-6):249-54.
64. Martins G, Lilenbaum W. Control of bovine leptospirosis: aspects for consideration in a tropical environment. *Res Vet Sci*. 2017;112:156-60.

65. 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.
66. Givens MD. Review: risks of disease transmission through semen in cattle. *Animal.* 2018;12 Suppl 1:s165-71.
67. Gerritsen MJ, Koopmans MJ, Dekker TC, De Jong MC, Moerman A, Olyhoek T. Effective treatment with dihydrostreptomycin of naturally infected cows shedding *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjobovis. *Am J Vet Res.* 1994;55(3):339-43.
68. Ellis WA, Montgomery J, Cassells JA. Dihydrostreptomycin treatment of bovine carriers of *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *Res Vet Sci.* 1985;39(3):292-5.
69. Alt DP, Zuerner RL, Bolin CA. Evaluation of antibiotics for treatment of cattle infected with *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;219(5):636-9.
70. Plunkett AH, Graham TW, Famula TR, Oberbauer AM. Effect of a monovalente vaccine against *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo strain hardjobovis on fertility in Holstein dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 2013;242:1564-72.
71. Chiareli D, Cosate MRV, Moreira EC, Leite RC, Lobato FCF, da Silva JA, et al. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. *Pesqui Vet Bras.* 2012;32(7):633-9.
72. Pasqualotto W, Sehnem S, Winck CA. Incidência de Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR), Diarreia Viral Bovina (BVD) e Leptospirose em bovinos leiteiros da região oeste de Santa Catarina - Brasil. *Rama Rev Agroneg Meio Ambiente.* 2015;8(2):249-70.
73. Del Fava C, Arcaro JRP, Pozzi CR, Arcaro Junior I, Fagundes H, Pituco EM, et al. Manejo sanitário para o controle de doenças da reprodução em um sistema leiteiro de produção semi-intensivo. *Arq Inst Biol [Internet].* 2003 [cited 2020 Mar 9];70(1):25-33. Available from: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V70_1/delfava.pdf

Recebido em: 23/09/2019

Aceito em: 04/07/2020