



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL  
CAMPUS DE REALEZA  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**RODRIGO STANISLAWSKI**

**SOROPREVALÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM BOVINOS LEITEIROS DO  
MUNICÍPIO DE REALEZA – PR.**

**REALEZA-PR**

**2015**

**RODRIGO STANISLAWSKI**

**SOROPREVALÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM BOVINOS LEITEIROS DO  
MUNICÍPIO DE REALEZA – PR.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. Iucif Abrão Nascif Júnior.

**REALEZA-PR**

**2015**

## RESUMO

O município de Realeza fica localizado na região Sudoeste do Paraná, principal bacia leiteira em volume do estado. A pecuária leiteira no município é uma importante atividade da agricultura familiar. Logo, os cuidados com a sanidade do rebanho devem ser, sempre que possível, melhorados, a fim de minimizar as perdas produtivas. Portanto, é importante conhecer a prevalência de determinadas doenças que acometem os rebanhos leiteiros da região. Entre elas está a Leptospirose, que pode infectar animais de produção gerando diversos transtornos, especialmente os reprodutivos como: infertilidade, aborto, nascimento de bezerros fracos e também a diminuição temporária da produção leiteira. Além disso, a Leptospirose é caracterizada como zoonose por ser passível de infectar seres humanos. Dessa forma, o objetivo deste projeto foi determinar a soroprevalência da Leptospirose em rebanhos leiteiros do município de Realeza - PR. Ao total, foram utilizadas amostras de 341 vacas provenientes de 20 propriedades. Os soros foram submetidos ao teste de diagnóstico de Leptospirose no Laboratório de Diagnóstico de Brucelose e Leptospirose, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da UNESP Campus de Jaboticabal - SP, através da técnica de soroaglutinação microscópica. Foram avaliados os títulos de anticorpos contra 24 sorovares de *Leptospira* spp. Destas, apenas 18 sorovares testados tiveram pelo menos uma amostra positiva: Andamana, Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Canicola, Cynopteri, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Patoc e Shermani. Os sorovares Castellonis, Bataviae, Whitcombi, Sentot, Javanica e Tarassovi não apresentaram soroaglutinação em nenhuma amostra de soro. Os resultados avaliados demonstraram uma soroprevalência de 37,53% de animais positivos. Esse número indica que diferentes sorovares do patógeno estão presentes nos rebanhos leiteiros do município, o que pode estar causando prejuízos. Avaliação da distribuição espacial dos sorovares e dos dados referentes às propriedades com animais infectados e não infectados, deverá permitir uma análise mais detalhada do perfil epidemiológico. Com isso, seria plausível a detecção de possíveis fatores de risco que possam contribuir para a compreensão da soroprevalência da Leptospirose em bovinos leiteiros do município de Realeza - PR.

**Palavras-chave:** Leptospira. Inquérito sorológico. Antropozoonose. Prevalência.

## ABSTRACT

The municipality of Realeza is located in Paraná southwestern region, the main dairy region in a state of volume. The dairy farming in the city is an important activity of family farming. Soon, the herd health care should be, whenever possible, improved in order to minimize the production losses. It is therefore important to know the prevalence of certain diseases that affect dairy herds in the region. Among them is the Leptospirosis, which can infect farm animals causing various disorders, especially reproductive such as infertility, miscarriage, birth of weak calves and also the temporary decrease in milk production. Moreover, Leptospirosis is characterized as zoonosis by being capable of infecting humans. In this way, the objective of this project was to determine the seroprevalence of Leptospirosis in dairy herds of the municipality of Realeza - PR. In total, samples were used 341 cows from 20 properties. Sera were submitted to Leptospirosis diagnostic test in Brucellosis Diagnostic Laboratory and Leptospirosis, Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Reproduction of UNESP Jaboticabal - SP, through microscopic agglutination technique. They were evaluated antibody titers against 24 *Leptospira* spp. Of these, only 18 serotypes tested had at least one positive sample: Andamana, Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Canicola, Cynopteri, Grippytyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Patoc and Shermani. The serovars Castellonis, Bataviae, Whitcombi, Sentot, Javanica and Tarassovi showed no agglutination in any serum sample. The evaluated results showed a seroprevalence of 37.53% positive animals. This number indicates that different serotypes of the pathogen are present in dairy herds of the municipality, which may be causing harm. Assessment of the spatial distribution of serovars and data on properties with infected animals and uninfected, should allow a more detailed analysis of the epidemiological profile. Thus, it would be possible to detect possible risk factors that may contribute to understanding the seroprevalence of Leptospirosis in dairy herds in the municipality of Realeza - PR.

Keywords: Leptospirosis. Serological survey. Anthroozoonosis. Prevalence.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	6
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3 RESULTADOS .....	11
4. DISCUSSÃO .....	12
5. CONCLUSÕES .....	13
REFERÊNCIAS .....	14

## 1 INTRODUÇÃO

O Paraná, no ano de 2013, produziu 4,3 bilhões de litros de leite. Este número deixa o estado entre os três maiores produtores de leite do Brasil sendo o terceiro maior, antecedido apenas pelo estado de Minas Gerais (1º colocado) e do Rio Grande do Sul (2º colocado). Neste mesmo ano contribuiu com 12,7% de toda a quantidade de leite produzida no cenário nacional (SEAB, 2014).

Este estado possui três principais bacias leiteiras que se destacam na produção de leite: Centro-Oriental, Oeste e Sudoeste. Juntas, produzem mais da metade de todo o leite do estado. O Sudoeste do Paraná, onde está inserido o município de Realeza, destaca-se por ter um grande potencial de crescimento uma vez que entre os anos de 2008 a 2013 dobrou a sua produção, se tornando a maior bacia leiteira do estado. Além disso, é nesta região que estão 25% dos produtores de leite do estado (SEAB, 2014; IPARDES, 2009).

Segundo dados do levantamento agropecuário de 2006, realizado pelo IBGE, a cidade de Realeza, no Sudoeste do Paraná, apresenta 1.498 propriedades rurais. A maioria delas com caráter de agricultura familiar, sendo que quase a metade (770) são produtoras de leite, produzindo 8.853.000 litros de leite por ano, e cerca de R\$ 3.537.000,00 (IBGE, 2006). Estes valores demonstram a importância da produção de leite no município. Sendo assim, qualquer problema que afete a cadeia produtiva gera um impacto direto na economia local, pois esta é a principal atividade da maior parte das propriedades rurais da região.

Como a pecuária leiteira da região é uma atividade desenvolvida, principalmente, por agricultores familiares, tem-se a característica de um sistema de menor produção, menos tecnificado e, em grande parte, extensivo, com a criação dos animais a campo. Dessa forma, os animais tem contato com fatores ambientais e biológicos, que podem acarretar na transmissão de enfermidades. Sabe-se também que em certos locais do sudoeste do Paraná, os rebanhos possuem um nível sanitário deficiente, e grande parte dos produtores de leite da agricultura familiar desconhece a maioria das práticas de biossegurança que devem ser aplicadas ao rebanho leiteiro, o que dificulta o diagnóstico de certas enfermidades (SACHET, 2013).

Entre as enfermidades que afetam os bovinos e que levam a perdas econômicas no rebanho está a Leptospirose. Esta é uma doença de caráter infecto-contagioso, causada pela bactéria gênero *Leptospira*, a qual pode infectar tanto os animais como o ser humano,

caracterizando como uma zoonose. Em rebanhos, esta infecção gera consequências econômicas consideráveis, pois uma vez que a bactéria infecta os animais de produção, gera transtornos reprodutivos como infertilidade, aborto, nascimento de bezerros fracos e produtivos como diminuição temporária da produção leiteira (FIGUEIREDO, 2009).

A Leptospirose é uma doença cosmopolita, causada por uma bactéria gram-negativa da família *Leptospiraceae*, que possui características morfológicas singulares como formato de seu corpo em hélice (helicoidal), extremidades em forma de gancho e também é passível de movimentação. Ela pode afetar todos os animais mamíferos domésticos e silvestres. A infecção pode variar de moderada, ocorrendo no trato genito-urinário, até doença sistêmica grave (QUINN, 2005).

As leptospiras são bastante resistentes ao meio ambiente, mas precisam de locais com presença de água, podendo sobreviver em locais como solos úmidos, lama, bebedouros de animais, e em qualquer local com umidade e temperatura favorável. Sua transmissão geralmente é através de contato direto. São encontradas em todas as partes do planeta, porém algumas sorovarietades tem distribuição geográfica específica. Estima-se que há pelo menos 250 sorovares de *L. interrogans*. (QUINN, 2005).

O diagnóstico para a leptospirose pode ser efetuado por dois métodos: O direto, que consiste em demonstrar o agente; e o indireto, que são as provas sorológicas. Essas últimas são as mais indicadas para o controle em rebanhos de animais (FAINE, 1999). Dentre os testes supracitados, o teste padrão e mais eficaz é o de soroprecipitação microscópica (SAM), por ter ótima sensibilidade e por não apresentar reação cruzada com outras doenças. Porém, animais vacinados para leptospirose podem apresentar anticorpos contra os sorovares presentes nas vacinas (OIE, 2014).

Em um estudo realizado no Mato Grosso do Sul com 2.573 amostras de soro de bovinos, foi encontrado soroprevalência de 70% a pelo menos um dos sorovares testados. Além disso, os principais sorovares encontrados foram *hardjo*, com 65% dos casos, *Wolffi* com 12% e *Icterohaemorrhagiae*, com 5,8% dos animais acometidos. Além disso, o autor cita os principais fatores de risco que a região apresenta que são a presença de áreas alagadiças, raça do animal, tipo de produção, presença de outras espécies dividindo o pasto e tipo de manejo reprodutivo das propriedades. (FIGUEIREDO, 2009).

Já Pimenta (2014) estudou a prevalência e fatores de risco relacionados a Leptospirose no estado da Paraíba. Foi utilizado 2317 vacas no estudo e demonstrou uma soroprevalência de 61,1% de animais positivos a pelo menos um sorovar testado. Novamente, o sorovar *Hardjo* foi o mais prevalente, com 54,69% de animais reagentes. Como fatores de risco, o

autor cita a presença de pastos alagados, presença de animais silvestres, trânsito intenso de animais pelas propriedades, o tipo de produção e a raça dos animais. (PIMENTA, 2014)

Silva (2012) em uma pesquisa realizada no estado do Maranhão, com 4.832 fêmeas bovinas determinou que no presente estado há uma prevalência de 35,94% de soropositivos a pelo menos um sorovar testado com a SAM. Além disso, os maiores fatores de risco que o estado apresenta, segundo o autor, são a presença de equinos, presença e contato com animais silvestres, como a capivara, e também rebanhos com 32 ou mais cabeças de vacas adultas por nas propriedades (SILVA, 2012).

Em um estudo realizado no Paraná, Hashimoto (2012) determinou a soroprevalência de Leptospirose na região Centro-sul do estado, e correlacionou com os fatores de risco para a infecção. Para isto, foram utilizados 1880 fêmeas de bovino e os resultados encontrados foram 66,06% soropositivos a pelo menos um sorovar testado, sendo que o sorovar mais frequente foi o Hardjo, com 54,70% dos animais acometidos. Os principais fatores de risco encontrados na região, segundo o autor foram a presença de piquetes de parição, compra de reprodutores e aluguel de pasto. (HASHIMOTO, 2012)

Castro (2008) encontrou uma soroprevalência de 49,4% de Leptospirose no estado de São Paulo em 8.216 soros provindos de fêmeas bovinas com idade reprodutiva, tendo o sorovar Hardjo como sendo o mais prevalente. Já Castro (2009) elencou os principais fatores de risco para a infecção de Leptospirose no estado de São Paulo, que, segundo o autor, são: tamanho do rebanho, presença de piquete de parição, presença de suínos, compra de reprodutores de outras fazendas e uso de inseminação artificial. (CASTRO, 2008)

Estes estudos mostram claramente que o sorovar Hadjo é predominante nestas regiões, confirmando a afirmativa feita por Quinn (2005), o qual diz que no Brasil as principais soroviedades encontradas em bovinos são os sorovares Hardjo e Pomona.

Longe de ser um problema apenas no Brasil, estudos feitos em países vizinhos também indicam prevalência desta doença nos rebanhos leiteiros. Szwako (2015) estudou a soroprevalência da leptospirose no Paraguai encontrando 45,78% de animais sororeagente. Giraldo (2014) buscou a soroprevalência em regiões da Colômbia, encontrando 28% de animais sororeativos a pelo menos um dos sorovares testados.

Na microrregião de Capanema, onde o município de Realeza – PR está inserido (IPARDES, 2012) nenhum estudo semelhante foi encontrado. Sendo assim, não há dados na literatura sobre a prevalência da Leptospirose em bovinos leiteiros nesta região.

Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi determinar a soroprevalência da Leptospirose em rebanhos leiteiros no município de Realeza – PR.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no município de Realeza, que está localizado na microregião de Capanena, Paraná.

O estudo compreendeu um inquérito soroepidemiológico para determinar a soroprevalência de Leptospirose nos bovinos leiteiros do município. Para isto, foram selecionadas aleatoriamente 20 propriedades com caráter de agricultura familiar, com no máximo 22 animais em lactação, com idade igual ou superior a 24 meses.

A colheita de sangue foi realizada através da punção da veia coccígea, utilizando-se agulhas para vacutainer descartáveis 40 x 12 mm e tubos vacutainer de 5.0 mL esterilizados, devidamente identificados com o número do animal, para a obtenção do soro. O sangue passou por centrifugação a 3000 RPM por 10 minutos. Após a centrifugação, o soro foi armazenado em frascos eppendorf de 1 mL, e estes foram refrigerados a uma temperatura próxima a 4 °C, ficando netas condições, até a realização do congelamento em freezers de temperatura controlada de - 45°C. As amostras foram reunidas e enviadas para o Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva na Universidade Estadual Paulista (UNESP) “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, campus Jaboticabal, São Paulo, para realização do teste de soroprecipitação microscópica. As colheitas do material para a pesquisa estão de acordo com o CEUA/UFFS sob o processo nº 23205.003294/2014-98.

No laboratório, os antígenos de *Leptospira* spp. utilizados nos testes sorológicos (Quadro 1) foram repicados semanalmente em meio de cultura líquido de EMJH (Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris), tendo como inóculo 10% do volume do meio a semear, e mantidos em estufa bacteriológica com demanda bioquímica do oxigênio (B.O.D) a 29°C ± 1°C.

As amostras de soro sanguíneo foram diluídas em solução salina, sendo a diluição inicial 1/25. Alíquotas de 25 µl foram colocadas em placas de poliestireno, com fundo chato, e adicionada igual quantidade de antígeno, das 24 sorovariedades de *Leptospira* spp., resultando na diluição de 1/50. A mistura soro-antígeno foi levemente homogeneizada e incubada em estufa B.O.D à temperatura de 28°C por 40 a 120 minutos, procedendo-se a seguir à leitura em microscopia de campo escuro, com objetiva e ocular de 10 vezes, diretamente dos poços da placa.

Foram consideradas reagentes as amostras em que ocorreu 50% de aglutinação, estando metade das leptospirosas aglutinadas no campo microscópico no aumento de 100 vezes. As amostras reagentes na diluição inicial foram testadas com diluições seriadas de razão dois,

sendo a primeira diluição 1/100, conforme a recomendação da OIE (2012).

Tabela 1. Sorovariedades de *Leptospira* spp. empregadas na soroaglutinação microscópica aplicada à Leptospirose, segundo o sorogrupo e a sorovariedade.

<b>Sorogrupo</b>	<b>Sorovariedade</b>
Andamana	Andamana
Australis	Australis
Australis	Bratislava
Autumnalis	Autumnalis
Autumnalis	Butembo
Ballum	Castellonis
Bataviae	Bataviae
Canicola	Canicola
Celledoni	Whitcombi
Cynopteri	Cynopteri
Djasiman	Sentot
Grippotyphosa	Grippotyphosa
Hebdomadis	Hebdomadis
Icterohemorrhagiae	Copenhageni
Icterohemorrhagiae	Icterohemorrhagiae
Javanica	Javanica
Panama	Panama
Pomona	Pomona
Pyrogenes	Pyrogenes
Sejroe	Hardjo
Sejroe	Wolffi
Seramanga	Patoc
Shermani	Shermani
Tarassovi	Tarassovi

### 3 RESULTADOS

Das 341 amostras de bovinos de leite coletadas no município de Realeza – PR, 128 foram reagentes ao teste de Soroaglutinação microscópica a pelo menos um dos 24 sorovares testados, com titulação variando de 100 a 1600. O sorovar Pyrogenes foi o mais prevalente no estudo, estando presente em 44,53% dos animais sororeagentes; enquanto os sorovares Andamana, Grippytyphosa e Pomona apareceram na sequência com 39,06%, 35,15% e 25%, respectivamente.

Dentre as 20 propriedades investigadas, 18 apresentaram pelo menos um animal reagente ao teste de Soroaglutinação microscópica a um dos 24 sorovares testados, totalizando 90% das propriedades afetadas por esta enfermidade.

**Tabela 2** - Sorovariedades de *Leptospira* spp positivas no presente estudo

Sorovar	N	Frequência %
Pyrogenes	57	44,53
Andamana	50	39,06
Grippytyphosa	45	35,16
Pomona	32	25
Panama	32	25
Copenhageni	29	22,66
Icterohemorrhagiae	27	21,09
Cynopteri	25	19,53
Canicola	22	17,19
Autumnalis	19	14,84
Wolffi	19	14,84
Hebdomadis	11	8,59
Australis	5	3,91
Hardjo	4	3,13
Shermani	2	1,56
Butembo	1	0,78
Bratislava	1	0,78
Patoc	1	0,78

#### 4. DISCUSSÃO

O fato de o presente trabalho ter encontrado a prevalência de 37,53% de sororeagentes e também 90% das propriedades estudadas apresentar pelo menos um animal soropositivo demonstra que a doença Leptospirose está presente no rebanho de bovinos leiteiros do município de Realeza – PR.

No presente trabalho não foram distinguidos animais vacinados de não vacinados, o que poderia ter alterado resultados encontrados. Porém, pesquisando sobre as principais vacinas encontradas no mercado local, todas encontram em sua composição o sorovar Hardjo e outros que foram pouco encontrados neste estudo. Isto pode indicar que os produtores do município de Realeza não estão realizando a vacinação correta do seu rebanho.

Os resultados obtidos ficaram próximos dos encontrados por SILVA, (2012) no estado do Maranhão. Porém, em comparação a outras regiões do Brasil, Realeza apresenta uma baixa soropositividade, uma vez que no Mato Grosso, Paraíba e até mesmo na região centro-oeste do Paraná, com soroprevalências acima de 60% (FIGUEIREDO, 2009; PIMENTA, 2014; HASHINOMOTO, 2012; CASTRO, 2008.).

O sorovar Pyrogenes (44,53%) foi o sorovar com maior prevalência no presente estudo, contradizendo as referências descritas, na qual todas encontraram o sorovar Hardjo sendo o mais prevalente em seus estudos (FIGUEIREDO, 2009; PIMENTA, 2014; HASHINOMOTO, 2012; SILVA, 2012, CASTRO, 2008).

A alta prevalência de soropositividade ao sorovar Pyrogenes pode indicar que há a presença do hospedeiro natural, no caso a ratazana (*Rattus norvegicus*) na qual os bovinos da região de Realeza – PR estão em contato com os mesmos e adquirindo a doença; Além disto, este dado indica que a presença do roedor é um fator de risco para a infecção dos animais (HAGIWARA, 2003).

Terrenos alagadiços, lamaçais, contato dos animais com açudes e outras fontes de água, além do controle inadequado de roedores podem ser alguns fatores que estão facilitando a disseminação e permanência do agente da leptospirose nos rebanhos estudados. Mas, para que haja o controle eficiente desta doença, primeiramente deve-se fazer um levantamento para conhecer os principais fatores de risco que são encontrados no município, e a partir disso trabalhar com os produtores sobre a doença e seus fatores de risco para que eles possam utilizar estratégias e medidas profiláticas adequadas para diminuir a soroprevalência da leptospirose em suas propriedades.

## 5. CONCLUSÕES

A Leptospirose está presente nos rebanhos de bovinos de leite no município de Realeza. A prevalência é mais baixa quando comparada a outras regiões do estado e em nível nacional. Porém, ela pode estar causando prejuízos para a economia local e é um risco para a saúde dos trabalhadores rurais.

O contato dos bovinos com outros animais, principalmente a ratazana (*Rattus norvegicus*) pode ser a principal forma de transmissão da Leptospirose nas propriedades. Logo, faz necessário um melhor programa de controle desta doença a fim de diminuir os possíveis problemas que ela traz para a região do município de Realeza – PR.

## REFERÊNCIAS

CASTRO, V.; AZEVEDO, S.S.; GOTTI, T. B.; BATISTA, C. S. A.; GENTILI J; MORAIS, Z. M.; VASCONCELLOS, S.A; GENOVEZ, M. E. Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p.1438-1442, 2009.

CASTRO, V.; AZEVEDO, S.S.; GOTTI, T. B.; BATISTA, C. S. A.; GENTILI J; MORAIS, Z. M.; SOUZA, G.M.; VASCONCELLOS, S.A; GENOVEZ, M. E. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**. São Paulo, v.75, n.1, p.3-11, jan./mar., 2008.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2nd ed. Medisci, Melbourne. 296p. 1999.

FIGUEIREDO, A. O; PELLEGRIN A. O; GONÇALVES, V. S. P; FREITAS, E. B; MONTEIRO, L. A. R. C; OLIVEIRA, J. M; OSÓRIO, A. L. A. R. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose em bovinos de Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p.375-381, 2009.

GIRALDO, J. L. M.; HOYOS, J. A. C.; GARCÍA, I. W.; ABELEDO, M. A. Prevalencia de anticuerpos a *Brucella abortus*, *Leptospira* sp. y *Neospora caninum* en hatos bovinos y bubalinos en el Departamento de Caquetá, Colombia. **Revista de Salud Animal**. vol.36, n.2. La Habana, Maio – ago de 2014.

HAGIWARA, M.K. Leptospirose canina. **Boletim Técnico Pfizer Saúde Animal**, p. 6. nov. 2003.

HASHIMOTO, V. Y.; DIAS, J.A.; SPOHR, K. A.H.; SILVA, M. C.P.; ANDRADE, M. G.B.; MÜLLER, E. E.; FREITAS, J. C. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. vol.32 n.2 Rio de Janeiro. fev. de 2012.

IBGE – **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. 2012. Disponível em [www.ibge.gov.br]. Acessado em 04/06/2013.

IPARDES – **Instituto Paranaense de Desenvolvimento Econômico e Social. Caracterização Socioeconômica da atividade leiteira do Paraná – sumário executivo**. Curitiba, 2009. Disponível em: [http://www.ipardes.gov.br/biblioteca/docs/sumario\_executivo\_atividade\_leiteira\_parana.pdf] . Acessado em: 04/06/2015.

OIE. **World Organisation for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: Leptospirosis**, Chapter 2.1.9, 7ª ed., Vol. 1, 2012. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\_standards/tahm/2.01.09\_LEPTO.pdf>. Acesso em: 10 ago 2015.

PIMENTA, C.L.R.M.; CASTRO V.; CLEMENTINO, I. J.; ALVES, C. J.; FERNANDES, L. G.; BRASIL, A. W.L.; SANTOS, C. S.A.B.; AZEVEDO, S. S. Leptospirose bovina no

Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. vol.,34 n.4 Rio de Janeiro. Abr. de 2014.

QUINN, P.J., MARKEY, B.K., CARTER, M.E., DONNELLY, W.J.C., LEONARD, F.C., MAGUIRE, D. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

SACHET, A.P.; BARON, C.P.; FRANCISCATO, C.; NETO, A.F.S. Biossegurança em rebanhos leiteiros na agricultura familiar – Sudoeste Paranaense. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.3, p.28-37, 2013.

SILVA, F. J; CONCEIÇÃO, W. L.F.; FAGLIARI, J. J.; GIRIO, R. J.S.; DIAS, R. A.; BORBA, M. R.; MATHIAS, L. A. Prevalência e fatores de risco de leptospirose bovina no Estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. vol.32 n.4 Rio de Janeiro. Abr. de 2012.

SZWAKO, A.; ACUÑA, L.; ROLÓN C.; GLATZLE, F.; LEMKEMEYER, C.; UNGER, N.; WIEBE, J. Seroprevalencia de leptospirosis bovina en el Chaco central, Departamento de Boqueron, Paraguay. **Compendio de Ciencias Veterinarias**. vol.5 n1. San Lorenzo Jun de 2015.