

## ANTICORPOS CONTRA LEPTOSPIRA EM REBANHOS DE BOVINOS LEITEIROS E SUA RELAÇÃO COM PROBLEMAS REPRODUTIVOS E A VACINAÇÃO

GABRIELA OLIVEIRA DA ROCHA BRITO<sup>1</sup>; JANAÍNA FADRIQUE DA SILVA<sup>2</sup>;  
SÉRGIO JORGE<sup>3</sup>; ODIR ANTÔNIO DELLAGOSTIN<sup>4</sup>; GUILHERME NUNES DE  
SOUZA<sup>5</sup>; LÍGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [gabirbrito@outlook.com](mailto:gabirbrito@outlook.com)

<sup>2</sup>Núcleo de Biotecnologia – CDTEc – UFPel – [nanafadrique@yahoo.com.br](mailto:nanafadrique@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Núcleo de Biotecnologia – CDTEc – UFPel – [sergiojorgevet@hotmail.com](mailto:sergiojorgevet@hotmail.com)

<sup>4</sup>Núcleo de Biotecnologia – CDTEc – UFPel – [odirad@gmail.com](mailto:odirad@gmail.com)

<sup>5</sup>Embrapa Gado de Leite - [guilherme.souza@embrapa.br](mailto:guilherme.souza@embrapa.br)

<sup>6</sup>Embrapa Clima Temperado – [ligia.pegoraro@embrapa.br](mailto:ligia.pegoraro@embrapa.br)

### 1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença infecciosa, de caráter zoonótico, que nos animais de produção é principalmente relacionada a problemas reprodutivos, como repetição de cio, nascimento de animais debilitados, ocorrência de natimortos e abortos. As perdas econômicas causadas pela leptospirose estão ligadas às falhas reprodutivas, bem como a queda da produção de carne e leite (SARMENTO et. al, 2012).

É causada por uma bactéria pertencente ao gênero *Leptospira*, da espécie *L. interrogans*, a qual apresenta mais de 300 sorovares. Os estudos realizados em populações bovinas, no território brasileiro, evidenciam como importantes os sorovares Hardjo, Wolffi, Pomona, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae e Canicola, sendo mais prevalente o sorovar Hardjo (FIGUEIREDO et. al, 2009).

A urina é o principal meio de transmissão, pois os animais, mesmo após recuperação clínica, podem eliminar o agente na urina por até 280 dias. Este, pode persistir no ambiente por tempo variável de acordo com as condições de umidade, temperatura e pH. A monta natural é uma importante via de transmissão nos bovinos, porém a inseminação com sêmen congelado tem transmissão mínima, devido às exigências de atestado de sanidade do touro doador (TORTORELLI, 2016).

A vacinação é muito importante no controle desta doença, juntamente com um correto diagnóstico e tratamento. Porém, há uma grande dificuldade na identificação e distinção dos sorovares, e um alto grau de reações cruzadas entre eles. Essa dificuldade faz com que os laboratórios produzam vacinas contendo vários sorovares, com o objetivo de atender uma demanda diversificada (CHIARELLI et. al, 2012).

O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de anticorpos contra leptospira e sua relação com problemas reprodutivos e a realização de vacinação em rebanhos leiteiros da mesorregião noroeste do estado do Rio Grande do Sul.

### 2. METODOLOGIA

Foram coletadas 88 amostras de sangue de bovinos de leiteiros, no mês de junho de 2016. As amostras são representativas da mesorregião noroeste do estado do Rio Grande de Sul, abrangendo 18 propriedades rurais produtoras de leite distribuídas em 17 municípios da região Noroeste. No momento da coleta das amostras foi abordado um questionário sobre as condições do ambiente e cuidados sanitários com o rebanho como vacinação e período realizado.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 rpm/10 min para a separação do soro e armazenados a -20°C. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Vacinologia do Núcleo de Biotecnologia - CDTec da Universidade Federal de Pelotas. Foi realizada a técnica de aglutinação microscópica (MAT) em todas as amostras conforme protocolo descrito (WHO, 2003). Para este fim, cada soro foi diluído 1:50 em solução tampão PBS para a realização da triagem e titulação. Foram selecionados 14 sorovares para a realização do teste: Autumnalis, Canicola, Copenhageni, Djasiman, Grippotyphosa, Hardjobovis, Hardjoprajino, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Shermani e Tarassovi. As cepas utilizadas foram mantidas em meio de cultura líquido Elinghausen McCullough Johnson Harris Modificado-EMJH (Difco TM) suplementado com albumina 8 a 10%, com repiques semanais e incubação a 30°C.

As análises de MAT foram realizadas em placas de 96 cavidades de fundo côncavo. As placas foram incubadas por 2 horas em estufa bacteriológica à temperatura de 30°C. As leituras foram realizadas utilizando-se microscópio de campo escuro com condensador a seco, com auxílio de lâmina na objetiva de 20x, verificando a presença ou ausência de aglutinação. Na triagem os soros foram testados a partir da diluição de 1:100, sendo considerados positivos aqueles que apresentaram aglutinação igual ou maior que 50%, em comparação ao controle. As amostras reagentes da triagem foram diluídas em diluições crescentes, partindo de 1:100 até 1:3200, para determinação do título final de anticorpos. O sorovar com maior título na MAT foi considerado sorovar prevalente. A amostragem aleatória simples foi realizada considerando uma soroprevalência esperada de 50%. O nível de confiança de 95% e erro amostral de 5% foram utilizados no cálculo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos pela técnica de MAT, a soroprevalência de leptospirose encontrada foi de 84%. Com a realização dos questionários epidemiológicos, 88% (15/17) dos rebanhos apresentaram problemas reprodutivos e 12% (2/17) não apresentaram nenhuma alteração.

Foi relatado que 41% (7/17) dos rebanhos recebem vacinação regular e 59% (10/17) não recebem (Figura 1). Nos rebanhos vacinados a soroprevalência de leptospirose encontrada foi de 96%, com todos apresentando algum problema reprodutivo, sendo a repetição de cio a mais encontrada, com 43%. Também foram relatados abortos no 1/3 final da gestação, com 29%, abortos no 1/3 médio da gestação, com 14%, assim como também natimortos, terneiros fracos e com má formações, como demonstrado na Figura 2B.

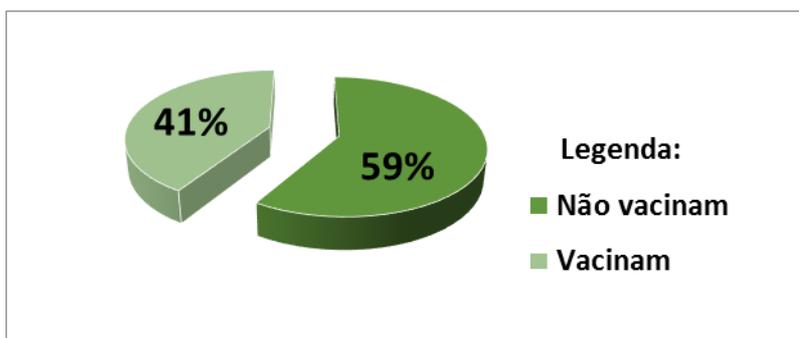


Figura 1: Porcentagem das propriedades que realizam vacinação e as que não realizam na mesorregião.

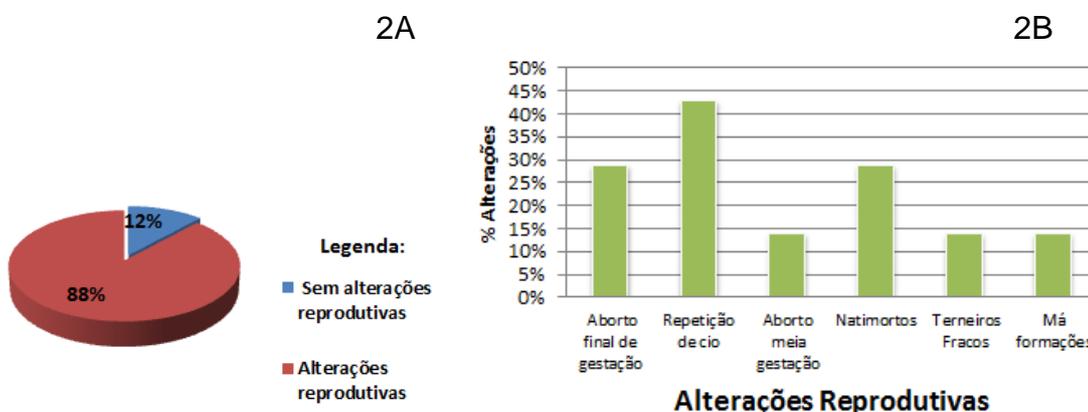


Figura 2A: Presença de Alterações Reprodutivas na mesorregião; 2B: Alterações Reprodutivas Encontradas na mesorregião.

A alta prevalência de *Leptospira* encontrada na mesorregião estudada pode ser em decorrência da vacinação, já que sua realização pode confundir o diagnóstico. Isso ocorre pois como é uma vacina atenuada, ou seja, com a presença do agente enfraquecido, sua titulação pode ser detectável por até 3 meses após a vacinação (HARTLEBEN; BROD, 2016). Mesmo com a medida profilática, houve uma grande ocorrência de problemas reprodutivos, o que sugere a ineficácia da vacina, ou que esses problemas são causados por diversos fatores relacionados a outros patógenos, ou a soma deles.

As vacinas comerciais apresentam os sorovares mais comumente diagnosticados, porém sua eficiência pode estar relacionada com o acometimento dos animais por outros sorovares, os quais são frequentes apenas em algumas regiões, não estando presentes nas vacinas. Por isso, tornam-se necessários mais estudos, para a produção de novas vacinas, que incluam uma maior variedade de sorovares (CHIARELI et. al, 2012).

Assim, destaca-se a importância da vacinação correta, seguindo o protocolo vacinal e as boas práticas de conservação dessas vacinas, juntamente com a eliminação dos fatores de risco na propriedade leiteira (ARDUINO et. al, 2004).

#### 4. CONCLUSÕES

No presente estudo, constatou-se que a alta prevalência de leptospira, juntamente com o relato de sintomas reprodutivos nos animais, pode ser em decorrência da má administração do protocolo vacinal, ou pela baixa abrangência das vacinas. São necessários maiores estudos a respeito dos sorovares e sua patogenicidade, para a produção de vacinas com uma maior variedade e eficácia, assim como o correto manejo das mesmas, garantindo assim a proteção dos animais.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARDUINO, G.G.C., GIRIO, R.J.S., FREIRE, M.M., FILHO, M.M. Anticorpos contra leptospira spp em bovinos leiteiros vacinados com bacterina polivalente comercial. Perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.34, n.3, p.865-871, 2004.

CHIARELI, D., COSATE, M.R.V., MOREIRA, E.C., LEITE, R.C., LOBATO, F.C.F., DA SILVA, J.A., TEIXEIRA, J.F.B., MARCELINO, A.P. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira** [online]. Vol.32, n.7, pp.633-639, 2012.

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** [online]. Vol.29, n.5, pp.375-381, 2009.

HARTLEBEN, C. P.; BROD, C. S. Leptospirose. In: SCHAFFHAUSER JUNIOR, J.; PEGORARO, L. M. C; ZANELA, M. B. **Tecnologias para Sistemas de Produção de Leite**. Brasília: Embrapa. 2016. Cap.13, p.281-290.

SARMENTO, A.M.C., AZEVEDO, S.S., MORAIS, Z.M., SOUZA, G.O., OLIVEIRA, F.C.S., GONÇALVES, A.P., MIRAGLIA, F., VASCONCELLOS, S.A., 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. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 7, p. 601-606, 2012.

TORTORELLI, G., Leptospirose Bovina. **Rural Pecuária**, São José do Rio Preto, 2016. Acessado em 8 set. 2018. Disponível em: <http://ruralpecuaria.com.br/tecnologia-e-manejo/doenca-bovina/leptospirose-bovina.html>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control**, Malta, 2003.