



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CAMPUS CURITIBANOS  
COORDENADORIA ESPECIAL DE BIOCÊNCIAS E SAÚDE ÚNICA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Vitória Garipuna de Souza

**SOROLOGIA PAREADA PARA DETECÇÃO DE SOROVARES DE LEPTOSPIRA  
INTERROGANS NÃO VACINAIS EM REBANHO LEITEIRO NO RIO GRANDE DO  
SUL**

Curitibanos  
2023

Vitória Garipuna de Souza

**SOROLOGIA PAREADA PARA DETECÇÃO DE SOROVARES DE LEPTOSPIRA  
INTERROGANS NÃO VACINAIS EM REBANHO LEITEIRO NO RIO GRANDE DO  
SUL**

Trabalho de Conclusão de curso submetido ao curso de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina (Campus Curitibanos) como requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Profº Drº Vitor Braga Rissi

Curitibanos

2023

Ficha de identificação de obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Souza, Vitória Garipuna de  
SOROLOGIA PAREADA PARA DETECÇÃO DE SOROVARES DE LEPTOSPIRA  
INTERROGANS NÃO VACINAIS EM REBANHO LEITEIRO NO RIO GRANDE DO  
SUL / Vitória Garipuna de Souza ; orientador, Vitor Braga Rissi,  
2023.

33 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade  
Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em  
Medicina Veterinária, Curitibanos, 2023.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Bovinos. 3. Leptospirose. 4.  
Reprodução. 5. Sorologia. I. Rissi, Vitor Braga. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Medicina  
Veterinária. III. Título.

Vitória Garipuna de Souza

**SOROLOGIA PAREADA PARA DETECÇÃO DE SOROVARES DE LEPTOSPIRA  
INTERROGANS NÃO VACINAIS EM REBANHO LEITEIRO NO RIO GRANDE DO SUL**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de bacharel e aprovado em sua forma final pelo Curso de Medicina Veterinária

Curitibanos, 11 de julho de 2023



Prof. Dr. Malcon Andrei Martinez Pereira  
Coordenador do Curso - Universidade Federal de Santa Catarina

**Banca examinadora**



Prof. Dr. Vitor Braga Rissi  
Orientador



M.V. André Lucio Fontana Goetten  
Universidade Federal de Santa Catarina



M. V Maria Helena Souza de Aguiar  
Universidade Federal de Santa Catarina

Curitibanos, 2023

Dedico esse trabalho aos meus pais e irmãos, que sempre me incentivaram e me apoiaram na realização do meu sonho.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha mãe, Célia, e pai, José Flávio, que desde o início da minha carreira estudantil foram grandes incentivadores e apoiadores, possibilitando que hoje eu possa realizar o sonho de me tornar Médica Veterinária.

Ao meu irmão e irmãs, que sempre serviram de exemplo e apoio quando eu precisei tomar decisões importantes para minha vida.

Ao restante da minha família, que de alguma maneira estiveram acompanhando, torcendo e ajudando na minha formação acadêmica, muitas vezes sem nem saber a importância disso.

Aos amigos que eu fiz nessa jornada, com quem eu pude dividir experiências dentro e fora da Universidade, especialmente ao Átila e Leonardo que me acompanham desde o início do curso.

Aos amigos fora da universidade, que mesmo não compartilhando diretamente a rotina acadêmica, de alguma forma estiveram presentes me apoiando.

Quero agradecer também aos professores, especialmente ao Prof<sup>o</sup>. Dr. Vitor Braga Rissi, meu orientador, que sempre esteve disponível para me auxiliar e me “aturou” na aventura que foi o final da minha carreira acadêmica.

Por fim, agradeço imensamente os Médicos Veterinários e outros profissionais que eu pude acompanhar durante a construção da minha carreira. Aos colegas da CPEX Embriões e Produtiva Assessoria Veterinária, que me receberam e compartilharam seus conhecimentos durante o estágio obrigatório supervisionado. E estendo um agradecimento especial à Médica Veterinária Fernanda Bortoli, que até hoje me apoia e me aconselha no mundo da Medicina Veterinária de Bovinos.

Cada pessoa que esteve presente no meu caminho, mesmo que por pouco tempo, teve uma grande importância na minha formação e na construção da pessoa que eu sou hoje. Sou muito grata a cada um de vocês!

(E antes que eu me esqueça, meu agradecimento especial a mim mesma, que mesmo com todos os contratemplos não deixei de me arriscar e de seguir os meus sonhos, e só eu sei o quanto foi difícil não desistir de mim mesma.)

## RESUMO

A leptospirose apresenta uma alta prevalência e influência reprodutiva em bovinos em todo o mundo. Foram realizados testes sorológicos em animais para detectar a presença de leptospirose através de duas coletas de sangue, com um intervalo de 23 dias. Na primeira coleta, foram incluídos 42 animais em reprodução ativa, enquanto na segunda coleta, foram excluídos os animais com resultado negativo na sorologia, animais com titulação de resposta vacinal e animais para descarte, totalizando 16 animais na segunda coleta. Os sorogrupos testados foram L. Canicola, Grippotyphosa, Pyrogenes, Bratislava, Butembo, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Hardjoprajitno, Wolffi, Ballum e Tarassovi. Dos 42 animais testados, 18 foram considerados positivos para pelo menos um sorovar, revelando uma prevalência de 42,85% de animais infectados. O sorovar mais prevalente foi Copenhageni, seguido por Butembo, Wolffi e Pyrogenes. Além disso, foram analisadas as infecções concomitantes, observando-se que 44,44% dos animais positivos tinham infecção por apenas um sorovar, enquanto em outros houve variação de dois a cinco sorovares. Esses resultados sugerem uma alta prevalência de animais infectados com leptospirose no rebanho estudado, incluindo sorovares não contidos nas vacinas utilizadas para controle da doença. A presença de infecções concomitantes destaca a importância do monitoramento e implementação de medidas de controle adequadas para prevenir a disseminação da leptospirose.

**Palavras-chave:** Leptospirose, Bovinos, Reprodução, Sorologia.

## ABSTRACT

Leptospirosis has a high prevalence and reproductive influence in cattle worldwide. Serological tests were carried out in animals to detect the presence of leptospirosis through two blood collections, with an interval of 23 days. In the first collection, 42 animals in active reproduction were included, while in the second collection, animals with negative results in serology, animals with vaccine response titers and animals for culling were excluded, totaling 16 animals in the second collection. The serogroups tested were *L. Canicola*, *L. Grippotyphosa*, *L. Pyrogenes*, *L. Bratislava*, *L. Butembo*, *L. Copenhageni*, *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Pomona*, *L. Hardjo prajitno*, *L. Wolffi*, *L. Ballum* and *L. Tarasovi*. Of the 42 animals tested, 18 were considered positive for at least one serovar, revealing a prevalence of 42.85% of infected animals. The most prevalent serovar was *L. Copenhageni*, followed by *L. Butembo*, *L. Wolffi* and *L. Pyrogenes*. In addition, the concomitant infections were followed up, observing that 44.44% of the positive animals were infected by only one serovar, while in others there was a variation of two to five serovars. These results suggest a high prevalence of animals infected with leptospirosis in the observed herd, including serovars not contained in the vaccines used to control the disease. The presence of concomitant infections highlights the importance of monitoring and implementing adequate control measures to prevent the spread of leptospirosis.

Keywords: Leptospirosis, Cattle, Reproduction, Serology.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Microfotografia de uma Leptospira evidenciando o filamento axial ..... 13
- Figura 2: Amostras de soro em Eppendorf após processamento ..... 19

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Calendário sanitário da propriedade em 2023 .....	18
Tabela 2. Identificação de reação não vacinal para sorovares testados.....	20
Tabela 3. Prevalência dos sorovares identificados .....	22
Tabela 4. Infecções concomitantes .....	22
Tabela 5. Inseminações no período .....	23
Tabela 6. Eventos reprodutivos no período .....	24

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1 CARACTERÍSTICAS DO AGENTE .....	13
2.2 EPIDEMIOLOGIA.....	14
2.3 PATOGENIA .....	14
2.4 VACINAÇÃO .....	15
2.5 SOROLOGIA.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	17
3.1 PROPRIEDADE .....	17
3.2 MANEJO REPRODUTIVO.....	17
3.3 MANEJO SANITÁRIO .....	18
3.4 COLETA E RESULTADOS DA SOROLOGIA.....	19
3.5 CORRELAÇÃO COM SITUAÇÃO REPRODUTIVA.....	22
4. DISCUSSÃO .....	25
CONCLUSÃO .....	27
REFERÊNCIAS .....	28
ANEXOS.....	31

## 1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial fortemente ligada a prejuízos na pecuária, sobretudo a leiteira, devido aos impactos na produção e reprodução. É considerada uma doença ocupacional, sendo que em seres humanos a infecção é mais comum em trabalhadores que estão em contato diário com produção bovina (VERONESI; FOCACIA, 2015.) Os agentes causadores dessa enfermidade são bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*, esse gênero abriga espiroquetas fortemente espiraladas que crescem em temperatura ótima entre 28-30°C (DEWES, 2020)

Os sorogrupos patogênicos desse grupo de bactérias infectam animais domésticos e selvagens e sua principal forma de contaminação é através do contato com a urina de animais infectados e pela ingestão de água e alimentos contaminados. A transmissão através da urina é um fator importante para a manutenção ambiental do agente, já que animais positivos podem eliminar a *Leptospira spp.* viável por meses, mesmo que não apresentem sinais clínicos da doença (JAMAS *et al.*, 2020). O tempo de leptospiúria pode variar de 38 a 120 (BROD; FEHLBERG, 1992).

Para os bovinos, o sorovar *L. Hardjo* demonstra maior importância epidemiológica por serem considerados hospedeiros primários de manutenção (JAMAS *et al.*, 2020). Na América os sorovares predominantes na espécie são *L. Hardjo*, *L. Pomona* e *L. Grippotyphosa*. Animais jovens são mais suscetíveis, os sinais clínicos nessa categoria incluem icterícia, hemoglobinúria e febre, podendo levar a óbito. Já nos bovinos adultos, as principais manifestações estão relacionadas à reprodução e produtividade dos animais, categoria em que a letalidade é baixa (BROD; FEHLBERG, 1992)

O teste padrão-ouro para detecção de *Leptospira* é a soroaglutinação microscópica (SAM), que possui alta sensibilidade e é capaz de diferenciar os sorovares circulantes no rebanho, é importante salientar a recomendação do uso de sorologia pareada em rebanhos vacinados para leptospirose (DEWES, 2020). Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo investigar a circulação de leptospirose em um rebanho leiteiro vacinado para sorovares de *Leptospira* no município de Cacique Doble/Rio Grande do Sul, através de coleta e sorologia pareada para 12

sorovares de *Leptospira* e correlacionar com os eventos reprodutivos nas fêmeas da propriedade e a vacinação do rebanho.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

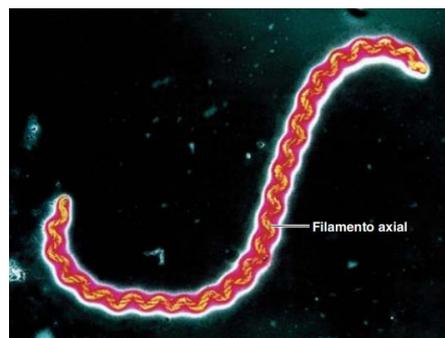
### 2.1 CARACTERÍSTICAS DO AGENTE

A Leptospirose é uma doença bacteriana que atinge diversas espécies mamíferas, inclusive a espécie humana. Ela é causada por bactérias gram-negativas da Família *Spirochaetaceae*, Ordem *Spirochaetales* e Gênero *Leptospira* e espécie *L. interrogans*, (TORTORA, 2017). Devido à reorganização do gênero são reconhecidas atualmente 23 espécies patogênicas, 300 sorovares e 24 sorogrupos (DELOOZ *et al.*, 2017).

Esse agente possui formato característico de espiral com extremidades em gancho (dado sua denominação sugestiva de interrogação), extremamente fino e com diâmetro de 1 $\mu$ m. Por ser enrolada firmemente, se torna quase imperceptível à visualização em microscópio de campo escuro, assim como sua visualização em microscópio óptico que é dificultada pela sua baixa capacidade de coloração, característica presente em outras espiroquetas (TORTORA, 2017).

Espiroquetas, como a *L. interrogans*, possuem motilidade incomum e em forma de torção, que é impulsionada pela sua morfologia e pela presença de endoflagelos que se estendem em todo o comprimento e possuem fixação em cada pólo da célula, os endoflagelos, formados de filamentos axiais (Figura 1), e o cilindro protoplasmático fazem rotação em sentidos contrários promovendo movimento de torção semelhante a um saca rolhas, esse movimento permite a penetração ativa em tecidos e materiais viscosos (MADINGAN *et al.*, 2017).

**Figura 1:** Microfotografia de uma *Leptospira* evidenciando o filamento axial



Fonte: Tortora, 2017

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA

É consenso entre toda a literatura pesquisada que a leptospirose é uma doença de distribuição mundial com maior prevalência em regiões de alta pluviosidade. Já foi identificada a infecção em diversos mamíferos, sendo os roedores, suínos, bovinos e outros vertebrados capazes de promover eliminação do agente na urina, perpetuando a infecção ambiental. Ainda, um agravante para propriedades criadoras da espécie bovina é a capacidade de transmissão do agente através do semên, naquelas que a reprodução acontece por meio da monta natural (BROD; FEHLBERG, 1992). Animais herbívoros têm maior importância na leptospiúria devido ao pH urinário ser levemente alcalino, propiciando ambiente mais favorável para a manutenção do agente. Os carnívoros, por sua vez, possuem urina com pH baixo, o que dificulta o crescimento bacteriano devido à sensibilidade a ambientes ácidos. (TORTEN, 1979)

Segundo Brod e Fehldberg (1992), os animais portadores podem ser divididos em três categorias: os portadores, com pouca importância epidemiológica; os portadores convalescentes, que possuem grande importância devido a eliminação do agente na urina por semanas ou meses; e os portadores sadios, de importância variável pois também podem apresentar a eliminação ativa da *Leptospira* através da urina, mesmo que não apresentem sinais clínicos.

A água é a principal via de transmissão, podendo o agente ficar viável por várias semanas em água doce, de pH neutro a levemente alcalino. A contaminação pelo agente pode ocorrer por via oral ou através do contato da pele lesionada e mucosas com água ou solo contaminado, no entanto a penetração do agente na pele íntegra pode ocorrer quando a exposição é prolongada, cenário comum em casos de enchentes. (PELLISSARI *et al.* 2011; JAMAS, 2021)

## 2.3 PATOGENIA

Em bovinos, a leptospirose é um importante causador de problemas reprodutivos, porém os principais órgãos colonizados são rins e fígado. A espiroqueta é inoculada quando entra em contato com a pele e mucosas, através de penetração ativa. Após a entrada no organismo ocorre a migração para a corrente sanguínea e humores orgânicos, onde o agente inicia sua multiplicação. As lesões mais comumente encontradas são nos túbulos renais, causando nefrite aguda, subaguda e

subcrônica, lesão hepática e hemólise. As duas últimas possuem a icterícia como principal sinal clínico (MCVEY *et al.*, 2016).

Apesar da comum colonização dos rins, as bactérias podem colonizar o trato reprodutivo das fêmeas bovinas, Molinari *et al.* (2021) testaram a capacidade da resposta inflamatória do útero bovino frente a *Leptospira* e outras bactérias que causam problemas reprodutivos. Os resultados do estudo sugerem que o endométrio não produz resposta imune contra *Leptospira* da forma clássica como ocorre com outras bactérias, ou até mesmo que o agente possa evitar detecção pelas células do epitélio uterino em bovinos. Abortos são comumente relatados nessa espécie e podem ser explicados pela infecção aguda do feto, infecção da placenta e danificação endotélio, ocasionando isquemia e necrose localizada no trato reprodutivo durante a prenhez (JAMAS *et al.*, 2020; FIGUEIREDO, 2007).

Ainda, a infecção por *Leptospira* pode representar o desenvolvimento de quadros clínicos graves, como anemia hemolítica e meningite e ser causadora de grandes prejuízos para as propriedades, seja pela ocorrência de problemas reprodutivos, pela queda na produção de leite ou pela morte ou descarte involuntário do animal. (DEWES, 2020).

## 2.4 VACINAÇÃO

A vacinação contra leptospirose pode ser empregada em programas sanitários de propriedade, seja de forma específica ou combinada a outras doenças reprodutivas. De modo geral, os sorogrupos incluídos nas vacinas comerciais são *Leptospira canicola*, *L. grippityphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona*. No entanto, a vacinação não impede que haja infecção nem eliminação do agente, mas evita que ocorra a apresentação de sinais clínicos. Ainda, a vacinação pode ser considerada pouco eficiente como forma de controle, devido à sua baixa estimulação imunológica e curto período de circulação de anticorpos (ARDUINO *et al.*, 2004).

## 2.5 SOROLOGIA

O teste padrão-ouro para a detecção sorológica de Leptospirose é o teste de soroaglutinação microscópica (SAM). Esse teste é indireto e possui elevada sensibilidade e especificidade, no entanto é recomendável que seja realizada a análise de amostras pareadas em rebanhos vacinados para evitar interpretação errônea (DEWES, 2020). É recomendável também que a coleta seja realizada após 120 dias da última vacinação para que haja menor interferência residual vacinal em coletas únicas (JAMAS *et al.*, 2020).

Quando o resultado da sorologia apresenta titulação de 1/100 pode-se afirmar que o animal é positivo, caso o mesmo não tenha sido vacinado ou a sorovar analisada não esteja incluída na vacina utilizada. Já para os testes pareados, o animal é considerado positivo quando há o aumento do título em quatro vezes em coletas com intervalo de 15 a 24 dias (JAMAS *et al.*, 2020)

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 PROPRIEDADE

A propriedade fica localizada na cidade de Cacique Doble/RS, trata-se de um tambo com estrutura em *compost barn* e atualmente conta com um rebanho de 49 vacas da raça holandesa em lactação. A propriedade recebe assistência técnica há 15 anos por uma empresa de assessoria e recebe visitas semanais do médico veterinário responsável, além de receber suporte clínico pelos veterinários atuantes sempre que solicitado.

Os animais em lactação ou em vida reprodutiva ativa são monitorados através de colar que identifica a atividade, desde as horas de descanso, ruminação, atividades sugestivas de cio e parâmetros que permitem identificar a situação do animal. A reposição do rebanho é feita com animais nascidos na propriedade e a reprodução é através de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com utilização de semên de touros escolhidos pelo médico veterinário junto ao proprietário. A média de produção de leite gira em torno de 36L/vaca/dia e a alimentação dos animais é baseada em silagem de milho e ração comercial para vacas em lactação.

#### 3.2 MANEJO REPRODUTIVO

O manejo reprodutivo da propriedade é realizado durante a visita técnica do médico veterinário. A cada visita são selecionados os animais que serão manejados através dos dados da planilha reprodutiva, de forma que os animais com tempo de inseminação maior que 30 dias, animais em período de pós-parto, e animais próximos à data de secagem são avaliados através de ultrassonografia para diagnóstico de gestação e exame ginecológico para início de protocolo ou pré-sincronização.

Os dados zootécnicos de reprodução e problemas constatados durante o manejo são anotados em planilha e repassados para o software AltaGestão para que sejam gerados relatórios sobre os índices reprodutivos, os quais foram consultados para a realização deste trabalho. Além disso, a planilha utilizada durante a visita também é alimentada de forma on-line e mostra dados de forma resumida sobre cada animal, como o tempo desde a última inseminação, quantidade de inseminações para

sucesso da última prenhez ou tentativas atuais, data de secagem, data estimada de parto e os eventos reprodutivos, tais como início de protocolo, abortos e doenças/distúrbios identificados durante a lactação.

### 3.3 MANEJO SANITÁRIO

O rebanho recebe vacinação com a vacina comercial CattleMaster® Gold, uma preparação liofilizada que possui culturas inativadas de cinco sorotipos de *Leptospira*, além de possuir proteção contra Rinotraqueíte Infecciosa Bovina, Parainfluenza tipo 3, Vírus Sincicial Bovino e Diarreia Viral Bovina; os sorogrupos vacinais são *Leptospira canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae* e *L. pomona*, aplicada a cada 6 meses em todo o rebanho de forma subcutânea. No intervalo entre as aplicações (3 meses) é realizada a aplicação da vacina Leptoferm por via intramuscular, a proteção dessa vacina inclui as mesmas sorovares que a anterior.

Além da vacinação reprodutiva, existe ainda um calendário sanitário para vacinação contra clostridioses, mastite, entre outras, e a vacinação das bezerras para brucelose. (Tabela 1).

**Tabela 1.** Calendário sanitário da propriedade em 2023

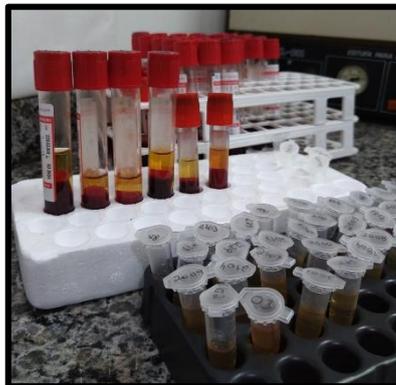
VACINAS	JAN.	FEV.	MAR.	ABR.	MAI.	JUN.	JUL.	AGO.	SET.	OUT.	NOV.	DEZ.
CARBÚNCULO HEMÁTICO												
CARBÚNCULO SINTOMÁTICO												
IBR			x						x			
BVD			x						x			
LEPTOSPIROSE			x			x			x			x
BRUCELOSE												
VERMÍFUGO							x					
MASTITE DIARRÉIAS	x			x			x			x		

### 3.4 COLETA E RESULTADOS DA SOROLOGIA

Para a realização dos testes sorológicos, foram realizadas coletas de sangue da veia coccígea utilizando tubo sem EDTA e com ativador de coágulo, com uso de tubos Vacutainer®. Foram realizadas duas coletas com intervalo de 23 dias entre elas, sem que houvesse evento reprodutivo associado necessariamente.

Na primeira coleta, no dia 01 de maio de 2023, foram incluídos 42 animais em situação ativa de reprodução dentro do rebanho. Para a segunda coleta, no dia 24 de maio de 2023, foram excluídos os animais que obtiveram resultado “não reagente” na sorologia, aqueles que apresentavam titulação condizente com resposta vacinal, animais destinados ao descarte e os não selecionados por escolha do produtor, totalizando 16 animais. O preparo das amostras foi realizado com o acondicionamento em caixa de isopor com o uso suporte para tubos, para que fossem transportadas ao laboratório da empresa que presta a assessoria. Posteriormente, os tubos contendo as amostras de sangue passaram por centrifugação durante 5-10 minutos a 3000 rpm para separação do coágulo, o soro foi captado através de pipeta descartável e passado a um Eppendorf, de forma individual e com a devida identificação.

**Figura 2:** Amostras de soro em Eppendorf após processamento



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

As amostras permaneceram refrigeradas e foram enviadas através de transportadora a um laboratório externo, o qual foi responsável pela realização das titulações. Os sorogrupos testados pelo laboratório foram: L. Canicola, Grippotyphosa, Pyrogenes, Bratislava, Butembo, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Pomona,

Hardjoprajtino, Wolffi, Ballum e Tarassovi através de soroaglutinação microscópica (SAM).

Foram considerados positivos os animais com titulação igual ou superior a 1/100 para os sorogrupos não contidos nas vacinas realizadas nos manejos sanitários ou que possuíram soroconversão quatro vezes maior ou menor entre as coletas, ou ainda títulos significativamente altos para serem considerados resposta vacinal. (Anexo 1)

Com a análise dos resultados, 18 animais dos 42 testados foram considerados positivos para pelo menos uma sorovar testada, revelando uma prevalência de 42,85% de animais infectados. Os sorovares não contidos na vacina que demonstraram titulação foram *L. Copenhageni* (12) *L. Butembo* (7), *L. Wolffi* (7), *L. Pyrogenes* (4) e *L. Bratislava* (1), além dos sorovares *L. Canicola* (4), *L. Pomona* (1), *L. Hardjo Pratjino* (1) e *L. Gryppotyphosa* (1), que são contidos nas vacinas comerciais mas demonstraram titulação não condizente com resposta vacinal (Tabela 2).

Tabela 2. Identificação de reação não vacinal para sorogrupos testados

AMOSTRA	POSITIVO	SOROGRUPO COM RESPOSTA NÃO VACINAL
1	NÃO	Não positivou
2	NÃO	Não positivou
3	SIM	<i>L. Wolffi</i> ; <i>L. Canicola</i> ; <i>L. Hardjo pratjino</i> ; <i>L. Gryppotyphosa</i>
4	NÃO	Não positivou
5	NÃO	Não positivou
6	SIM	<i>L. Wolffi</i> ; <i>L. Butembo</i> ; <i>L. Copenhageni</i>
7	NÃO	Não positivou
8	SIM	<i>L. Pyrogenes</i> ; <i>L. Copenhageni</i> ; <i>L. Butembo</i> ; <i>L. Wolffi</i>
9	NÃO	Não positivou
10	SIM	<i>L. Copenhageni</i> ; <i>Pyrogenes</i> ; <i>L. Bratislava</i> ; <i>L. Canicola</i> ; <i>L. Wolffi</i>
11	SIM	<i>L. Copenhageni</i>
12	SIM	<i>L. Copenhageni</i>
13	SIM	<i>L. Copenhageni</i> ; <i>L. Butembo</i>
14	SIM	<i>L. Butembo</i>
15	NÃO	Não positivou

Tabela 2. Identificação de reação não vacinal para sorogrupos testados

<b>AMOSTRA</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>SOROGRUPO COM RESPOSTA NÃO VACINAL</b>
16	NÃO	Não positivou
17	NÃO	Não positivou
18	SIM	<i>L. Butembo</i> ; <i>L. Copenhageni</i>
19	SIM	<i>L. Butembo</i> ; <i>L. Canicola</i>
20	NÃO	Não positivou
21	SIM	<i>L. Wolffii</i>
22	SIM	<i>L. Pyrogenes</i> ; <i>L. Copenhageni</i> ;
23	SIM	<i>L. Wolffii</i>
24	SIM	<i>L. Copenhageni</i> ;
25	NÃO	Não positivou
26	NÃO	Não positivou
27	SIM	<i>L. Copenhageni</i>
28	NÃO	Não positivou
29	NÃO	Não positivou
30	SIM	<i>L. Copenhageni</i> ; <i>L. Butembo</i>
31	NÃO	Não positivou
32	NÃO	Não positivou
33	NÃO	Não positivou
34	NÃO	Não positivou
35	NÃO	Não positivou
36	NÃO	Não positivou
37	NÃO	Não positivou
38	NÃO	Não positivou
39	SIM	<i>L. Pyrogenes</i>
40	NÃO	Não positivou
41	SIM	<i>L. Pyrogenes</i> ; <i>L. Copenhageni</i> ; <i>L. Wolffii</i> ; <i>L. Pomona</i> ; <i>L. Canicola</i>
42	NÃO	Não positivou
<b>POSITIVOS</b>	<b>18</b>	
<b>NEGATIVOS</b>	<b>24</b>	

O sorovar mais prevalente neste estudo foi *L. Copenhageni* (30,77% das repetições), seguido de *L. Butembo* (17,95%), *L. Wolffii* (17,95%) e *L. Pyrogenes*

(12,82%). Ambas as sorovares com maior prevalência não são incluídas nas vacinas utilizadas para controle de leptospirose utilizada no rebanho (Tabela 3).

Sorovar	Animais positivos	% sobre repetições	% sobre animais positivos
<i>L. Copenhageni</i>	12	30,77%	66,67%
<i>L. Butembo</i>	7	17,95%	38,89%
<i>L. Wolffii</i>	7	17,95%	38,89%
<i>L. Pyrogenes</i>	5	12,82%	27,78%
<i>L. Canicola</i>	4	10,26%	22,22%
<i>L. Bratislava</i>	1	2,56%	5,56%
<i>L. pomona</i>	1	2,56%	5,56%
<i>L. Hardjo pratjno</i>	1	2,56%	5,56%
<i>L. Grippoyyphosa</i>	1	2,56%	5,56%

A prevalência de infecções concomitantes foi analisada, obtendo como resultados 44,44% (8/18) dos animais com infecção por apenas um dos sorovares testados, enquanto 27,78% (5/18) foram positivos para dois sorovares, 5,56%(1/18) para três, 11,11% (2/18) para quatro e 11,11%(2/18) para cinco sorovares de *Leptospira* (Tabela 4).

	1	2	3	4	5	TOTAL
QUANTIDADE DE ANIMAIS +	8	5	1	2	2	18
%	44,44%	27,78%	5,56%	11,11%	11,11%	

### 3.5 CORRELAÇÃO COM SITUAÇÃO REPRODUTIVA

A propriedade onde o estudo foi realizado apresenta um desafio reprodutivo com histórico de perda embrionária, alta taxa de inseminações por prenhez e doenças clássicas de pós-parto, como retenção de placenta, metrite e endometrite. No relatório de perdas gestacionais emitido através do Alta Gestão, com agrupamento de dados

de junho de 2021 a junho de 2023 foi possível observar que a taxa de perda é de 18% (20/112) no período de dois anos, porém permanece dentro do limite esperado (20%) pela empresa de assessoria.

O principal desafio se dá em relação à quantidade de inseminações necessárias para que seja gerada uma prenhez, os animais das amostras 8, 24 e 27 possuem 7, 6 e 7 inseminações no último período, respectivamente, sendo que o último não gerou prenhez e foi optado por indução de lactação. Como é possível observar na tabela 5, dos animais negativos para leptospirose e que foram inseminados mais de 50% (17/22) possui uma ou duas inseminações no último período reprodutivo, enquanto para os positivos e inseminados essa relação se inverte e a maioria dos animais (8/15) possuem três ou mais inseminações. Os animais não inseminados são aqueles que estão no período voluntário de espera (PEV), animais descartados e/ou excluídos do sistema. Também é importante salientar que a última inseminação registrada não foi garantia de prenhez neste estudo, podendo o animal estar vazio ou sem confirmação de gestação na data analisada.

Tabela 5. Inseminações no período						
	1	2	3	4	5+	NÃO INSEMINADAS
<b>Animais negativos</b>	15	2	3	2	0	2
<b>Animais positivos</b>	2	5	4	0	4	3

Em relação aos eventos reprodutivos, analisamos a relação de sorologia positiva para a doença com a ocorrência de retenção de anexos fetais, metrite, endometrite ou abortos. Observou-se que, em relação a ocorrência de eventos reprodutivos, os animais considerados negativos obtiveram resultados semelhantes aos positivos, sendo que ambos os grupos continham 33% (6/18 e 8/24) dos animais com histórico de algum evento no último período reprodutivo. No entanto, o grupo positivo obteve maior proporção de abortos no período, diferente do que aconteceu nos casos de retenção de anexos fetais, onde o grupo negativo obteve maior número de animais afetados proporcionalmente (Tabela 6).

Tabela 6. Eventos reprodutivos no período				
	Retenção de anexos fetais (%)	Metrite/endometrite (%)	Aborto (%)	Total
Animais positivos	1 (5,55)	2 (11,11)	3 (16,66)	18
Animais negativos	3(12,5)	3 (12,5)	2 (8,33)	24

De maneira geral, foi possível observar que há fortes indícios de circulação de leptospirose neste rebanho, dado a reação positiva para sorovares não associados às vacinas utilizadas, sendo necessário tratamento e controle da enfermidade. De acordo com os resultados obtidos, serão empregados tratamentos para os animais com o uso de estreptomicina ou associação de penicilinas de acordo com a fase reprodutiva, sendo realizada a utilização de estreptomicina para as vacas positivas que estão em período de lactação e emprego de protocolo de tratamento com Pencivet® Plus PPU (Benzilpenicilina G, Procaína, Benzilpenicilina G Benzatina e Dihidroestreptomicina associado à Piroxicam) para os animais que entrarem no período seco, visando conciliar o tratamento para Leptospirose à prevenção de mastite. Este protocolo está sendo desenvolvido pelo Médico Veterinário que presta assistência e ainda não foi bem consolidado.

#### 4. DISCUSSÃO

Neste estudo foram identificados 18 animais positivos, representando 42,85% da população testada, semelhante ao encontrado por Peiter *et al.* (2015), no qual observaram prevalência de 41,35% de vacas positivas para pelo menos um sorovar de *Leptospira*. Em relação aos sorovares não contidos na vacina, o mais prevalente foi o *L. Copenhageni* com 30,77% das repetições e 66,67% dos animais positivos, se diferenciando de grande parte dos trabalhos, Baroni *et al.* (2020) encontraram prevalência de 3% e Jamas (2021) de 5,09% sobre os animais analisados, enquanto Juliano *et al.* (2000) encontraram prevalência menor que 1%. Isso pode ser explicado pela dificuldade em se traçar um perfil sorológico conclusivo em rebanhos vacinados.

Os sorovares *L. Butembo* e *L. Wolffi* foram igualmente prevalentes, presente em 38,98% dos animais positivos; Juliano *et al.* (2000) e Baroni *et al.* (2020) descrevem o sorovar *L. Wolffi* como maior prevalência de seus estudos, sendo 36,10% e 24% respectivamente. Já em relação ao sorovar Butembo, os trabalhos consultados demonstram prevalências menores, sendo 5,23% descrito por Peiter *et al.* (2015) e 10,84% por Baroni *et al.* (2020). Ademais, para o sorovar *L. Bratislava* foi observada prevalência em 5,56% dos animais, semelhante ao encontrado por Juliano *et al.* (2000) que obtiveram 3,10% de prevalência em sua pesquisa, representando frações pequenas dentro de ambos estudos.

Na análise dos resultados laboratoriais houve titulação para sorovares contidos nas vacinas comerciais, que em sua grande maioria demonstraram titulações abaixo de 1/400. As coletas ocorreram no período de 55 e 78 dias após a última vacinação com Leptoferm® e 33,34% dos animais testados não demonstraram sorologia reagente (<1/100), revelando resposta vacinal não detectável. Arduino (2009) citou em sua revisão que, para animais vacinados, há pouca produção e declínio rápido de anticorpos detectáveis pela MAT, principalmente em relação ao sorovar *L. canicola*. Do restante dos animais, apenas um não tituló para qualquer sorovar contido na vacina e 52,38% obtiveram titulação para *L. canicola*. Devido ao contexto, o autor recomenda que os animais que foram considerados negativos neste estudo, mas que foram reagentes para esse sorovar sejam acompanhados e retestados em outro momento, especialmente se houver correlação clínica.

A ocorrência de aborto foi maior no grupo de animais positivos, no entanto em relação a retenção de anexos fetais e metrite e endometrite o fato do animal ser considerado positivo para leptospirose não demonstrou correlação positiva. Mineiro *et al*, (2007) constatou que os distúrbios reprodutivos estão mais presentes em animais positivos para algum sorovar, sendo que *L. Hardjo* demonstra maior virulência em bovinos, diferenciando do presente estudo.

## CONCLUSÃO

A detecção de problemas reprodutivos em um rebanho direciona para a investigação da causa inicial, sendo necessário avaliar o conjunto de fatores de risco que podem evidenciar a presença de doenças reprodutivas. Nesse estudo, a investigação de problemas reprodutivos, em sua maioria a repetição de cio e dificuldade em emprenhar dos animais levou ao Médico Veterinário a investigação de doenças reprodutivas, sendo possível atestar a circulação de leptospirose através de sorologia pareada. A circulação pode ser confirmada ainda na primeira coleta, de maneira que houve reação de microaglutinação de sorovares não contidos na vacina, porém a realização de uma coleta pareada auxiliou para a detecção de sorovares circulantes de forma infecciosa e não vacinal daquelas contidas na vacina. Dessa forma, fica constatada a importância de se atentar aos índices zootécnicos e investigar as causas de infertilidade e problemas reprodutivos de um rebanho, mesmo que estes sejam vacinados, pois nem todas as vacinas são capazes de impedir a infecção e transmissão dos agentes, como é o caso da leptospirose bovina.

## REFERÊNCIAS

ARDUÍNO, G. G. C *et al.* Anticorpos contra *Leptospira* spp em bovinos leiteiros vacinados com bacterina polivalente comercial: perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. **Ciência Rural**, v.34, n.3, mai-jun, 2004. Disponível em <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000300032>>

BARONI, A. E. *et al.* Prevalência soroepidemiológica de *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos leiteiros da mesorregião do Rio Doce no Estado do Espírito Santo. **Pubvet**, [S. I.], v. 14, n. 02, 2020. DOI: 10.31533/pubvet.v14n2a505.1-11. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/670>. Acesso em: 15 jun. 2023.

BROD, C. S. FEHLBERG, M. F. EPIDEMIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE EM BOVINOS. **Ciência Rural**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 239-245, ago. 1992. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84781992000200020>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/4gwwSqJ7GzXXw63dHrrn5Hz/?lang=pt..> Acesso em: 16 jun. 2023.

DEWES, Caroline. **Leptospirose bovina: abordagens para o diagnóstico sorológico individual e do rebanho**. 2020. 55f. Tese (Doutorado em Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

DELOOZ, L. *et al.* **Serogroups and genotypes of *Leptospira* spp. strains from bovine aborted fetuses**. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol. 65, no. 1, p. 158–165, 24 Mar. 2017. DOI 10.1111/tbed.12643. Available at: <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.12643>.

FIGUEIREDO, A. O. **Leptospirose bovina: prevalencia, variáveis de risco e sorovares predominantes em rebanhos de Mato Grosso do Sul, Brasil**. Dissertação (mestrado) – Universidade federal de Mato grosso do Sul, Programa de pós Graduação em Ciência Animal, Campo Grande, MS, 2007. Disponível em <<https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/928>> Acesso em 18 jun 2023.

JAMAS, L. T *et al.* Leptospirose Bovina. **Veterinária e Zootecnia**, vol. 27, p. 1–19, 22 Oct. 2020. DOI 10.35172/rvz.2020.v27.403. Available at: <http://dx.doi.org/10.35172/rvz.2020.v27.403>.

JAMAS, L. T. **ACOMPANHAMENTO SOROLÓGICO PARA *Leptospira* spp E MONITORAMENTO DOS ÍNDICES PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS EM PROPRIEDADE LEITEIRA**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu, SP, 2021.

JULIANO, R. S. et al.. Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microrregião de Goiânia - GO. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, p. 857–862, set. 2000.

MADIGAN, T. M. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Cap. 14, Unidade 3. Porto Alegre: Artmed Editora, 2016. p. 466 ISBN 978-85-8271-298-6.

MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. Cap. 25.

MINEIRO, A.L.B.B. *et al.* Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.5, p.1103-1109, 2007.

MOLINARI, P. C. C. et al. Bovine endometrial cells do not mount an inflammatory response to *Leptospira*. **Reproduction & fertility**. vol. 2,3 187-198. 13 Jul. 2021, doi:10.1530/RAF-21-0012

PEITER, M. *et al.* PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DE *Leptospira* spp. EM BOVINOS LEITEIROS NA MICRORREGIÃO DE FRANCISCO BELTRÃO. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 22, n. 3, p. 392–395, 2022. Disponível em: <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/884>. Acesso em: 18 jun. 2023.

PELLISSARI, D. M. *et al.* Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000-2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 20(4), 565-574. 2011.

TORTEN, M. Leptospirosis. In: STEELE, J. H. CRC Handbook Series in Zoonoses Flórida: **CRC Press**, 1979. p. 363-421.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. p.249-250. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2015. v.1.

## ANEXOS

Anexo 1. Quadro de resultados da sorologia pareada. Elaborada pelo autor.

AMOSTRA	TITULAÇÃO 1°		TITULAÇÃO 2°	
	COLETA (01/05/2023)	SOROVAR	COLETA (24/05/2023)	SOROVAR
1	1/100	L. Pomona	Não retestada	
2	Não reagente		Não retestada	
3	1/800	L. Canicola	Não reagente	
	1/600	L. Grippotyphosa		
	1/200	L. Pomona		
	1/800	L. Hardjo prajitno		
	1/400	L. Wolffi		
4	1/100	L. Canicola	Não retestada	
	1/200	L. Pomona		
5	Não reagente		Não retestada	
6	1/100	L. Canicola	1/400	L. Canicola
	1/200	L. Copenhageni	1/200	L. Hardjo prajitno
	1/200	L. Butembo	1/200	L. Grippotyphosa
			1/100	L. Wolffi
7	1/100	L. Canicola	Não retestada	
8	1/400	L. Canicola	1/400	L. Canicola
	1/200	L. Grippotyphosa	1/100	L. Grippotyphosa
	1/200	L. Pyrogenes	1/100	L. Pyrogenes
	1/400	L. Copenhageni	1/200	L. Copenhageni
	1/200	L. Icterohaemorrhagiae	1/100	L. Icterohaemorrhagiae
	1/200	L. Pomona	1/200	L. Pomona
	1/400	L. Hardjo prajitno	1/200	L. Hardjo prajitno
			1/100	L. Butembo

	1/100	L. Wolffii		1/100	L. Wolffii
<b>9</b>	Não reagente			Não retestada	
<b>10</b>	1/1600	L. Canicola		1/1600	L. Canicola
	1/100	L. Grippotyphosa		1/100	L. Copenhageni
	1/200	L. Pyrogenes			
	1/400	L. Bratislava		1/100	L. Bratislava
	1/100	L. Pomona		1/100	L. Pomona
	1/100	L. Hardjo prajitno		1/200	L. Hardjo prajitno
	1/200	L. Wolffii			
<b>11</b>	1/100	L. Canicola		1/200	L. Canicola
	1/400	L. Copenhageni		1/200	L. Copenhageni
	1/100	L. Hardjo prajitno			
<b>12</b>	1/100	L. Canicola		1/100	L. Canicola
	1/200	L. Copenhageni		1/200	L. Copenhageni
<b>13</b>	1/200	L. Butembo		1/400	L. Butembo
	1/400	L. Copenhageni		1/400	L. Copenhageni
<b>14</b>	1/100	L. Butembo		Não retestada	
	1/400	L. Pomona			
<b>15</b>	Não reagente			Não retestada	
<b>16</b>	1/200	L. Canicola		Não retestada	
<b>17</b>	1/200	L. Canicola		Não retestada	
	1/200	L. Pomona			
<b>18</b>	1/400	L. Canicola		1/400	L. Canicola
	1/100	L. Butembo		1/200	L. Butembo
	1/400	L. Copenhageni		1/400	L. Copenhageni
	1/200	L. Icterohaemorrhagiae			
	1/400	L. Pomona			
<b>19</b>	1/400	L. Canicola		Não reagente	
	1/100	L. Butembo			
<b>20</b>	Não reagente			Não retestada	
<b>21</b>	1/200	L. Canicola		1/200	L. Canicola
	1/200	L. Grippotyphosa			

	1/200	L. Hardjo prajitno		
	1/100	L. Wolffi		
	1/400	L. Canicola	1/400	L. Canicola
<b>22</b>	1/100	L. Grippotyphosa	1/100	L. Grippotyphosa
	1/200	L. Pyrogenes	1/200	L. Pyrogenes
	1/400	L. Copenhageni	1/200	L. Copenhageni
	1/200	L. Hardjo prajitno	1/100	L. Hardjo prajitno
<b>23</b>	1/400	L. Canicola	1/400	L. Canicola
	1/200	L. Grippotyphosa		
	1/200	L. Hardjo prajitno		
	1/200	L. Wolffi		
<b>24</b>	1/200	L. Canicola	1/400	L. Canicola
	1/100	L. Grippotyphosa	1/200	L. Grippotyphosa
	1/200	L. Copenhageni	1/400	L. Copenhageni
	1/400	L. Pomona	1/400	L. Pomona
	1/200	L. Hardjo prajitno	1/200	L. Hardjo prajitno
<b>25</b>	1/200	L. Canicola	Não retestada	
<b>26</b>	1/100	L. Canicola	Não retestada	
<b>27</b>	1/100	L. Canicola	1/200	L. Canicola
	1/100	L. Copenhageni	1/100	L. Copenhageni
	1/100	L. Pomona		
<b>28</b>	Não reagente		Não retestada	
<b>29</b>	Não reagente		Não retestada	
<b>30</b>	1/200	L. Canicola	1/200	L. Canicola
	1/200	L. Copenhageni	1/200	L. Copenhageni
			1/200	L. Pomona
			1/100	L. Butembo
			1/100	L. Hardjo prajitno
<b>31</b>	Não reagente		Não retestada	
<b>32</b>	1/200	L. Canicola	Não retestada	
<b>33</b>	1/100	L. Canicola	Não retestada	
<b>34</b>	Não reagente		Não retestada	

<b>35</b>	Não reagente		Não retestada	
<b>36</b>	Não reagente		Não retestada	
<b>37</b>	Não reagente		Não retestada	
<b>38</b>	1/200	L. Canicola	Não retestada	
<b>39</b>	1/200	L. Canicola	Não retestada	
	1/200	L. Pyrogenes		
<b>40</b>	Não reagente		Não retestada	
<b>41</b>	1/600	L. Canicola	1/800	L. Canicola
	1/100	L. Grippotyphosa	1/200	L. Grippotyphosa
	1/200	L. Pyrogenes	1/100	L. Pyrogenes
	1/200	L. Copenhageni	1/200	L. Copenhageni
	1/800	L. Pomona	1/200	L. Pomona
	1/200	L. Hardjo prajitno	1/400	L. Hardjo prajitno
	1/200	L. Wolffi	1/100	L. Wolffi
<b>42</b>	Não reagente		Não retestada	