

during 90 days at Unidade de Pesquisa Experimental em Caprinos e Ovinos (UniPECO-UFF). A PCR targeting the *lipL32* gene was performed. Microscopic Agglutination Test was performed using an antigen panel represented by 28 reference strains. Sera displaying at least 50% agglutinating activity at a 1:100 dilution were considered positive. **Results:** All animals showed titers from D7 to D22, and animals inoculated with FV52 and FV237 presented higher titers (≥ 400). All of them, except for one (Group C), were positive on urinary PCR. Four of the six animals presented positivity at least once in vaginal fluid samples. One ewe (Group A) was positive in PCR of uterine wash, and all animals were negative in PCR of follicular aspirate. Regarding to the uterus fragment samples, Group A showed more positive results in PCR. In this group all animals were positive, and one ewe was positive from D30 to D90. Group B presented one positive reaction and Group C none. **Conclusion:** It was confirmed the presence of strains of serogroup Sejroe in genital tract, indicating a chronic infection in this site. **Ethics committee approval number:** 814/2016. **Funding:** This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

10. DESENVOLVIMENTO DE UM ELISA INDIRETO UTILIZANDO PEPTÍDEOS PARA DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE BOVINA

Development of an indirect elisa using peptide for diagnosis of bovine leptospirosis

SANTOS, J. P.;¹ PEREIRA, F. S.;² FERREIRA-JÚNIOR, A.;² LIMA, A. M. C.¹

¹Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brasil.

²Laboratório de Sorologia, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia/GO, Brasil.

E-mail: jandra.santos@yahoo.com.br

Introdução: A leptospirose é uma importante zoonose de ocorrência mundial, que pode reduzir os indicadores da performance da reprodução em bovinos. O teste de aglutinação microscópica (MAT) é considerado padrão-ouro, entretanto, apresenta baixa sensibilidade.

Objetivo: Analisar a eficiência de três peptídeos sintéticos (preditos *in silico* e denominados peptídeo (p)

127, p128 e p129), oriundos de uma proteína hipotética da membrana externa de *L. interrogans*, aplicados em uma plataforma ELISA para a detecção de anticorpos IgG bovinos anti-*Leptospira interrogans*. **Métodos:** A padronização do teste ELISA indireto foi iniciada pela determinação das concentrações ótimas de antígenos, bloqueio, anticorpos primários e anticorpos secundários por meio da metodologia de *checkerboard*. Os três peptídeos foram testados nas concentrações ($\mu\text{g/ml}$) 10, 5, 2,5 e 1,25. O bloqueio foi realizado com albumina sérica bovina (BSA) a 5%. Os anticorpos primários (soros sanguíneos de bovinos, nunca vacinados, negativos ou positivos no MAT) foram testados nas diluições 1:400, 1:800 e 1:1600 em triplicata. O anticorpo secundário (IgG de cabra anti-IgG bovino/HRP) foi testado nas diluições 1:5000; 1:10000 e 1:20000. A revelação foi realizada com tetrametilbenzidina (TMB) e H_2O_2 30%. O bloqueio da reação foi realizado com H_2SO_4 2N. A leitura foi efetuada em 450 nm. O ponto de corte foi calculado pela média das densidades óticas (DO) dos soros negativos acrescida de três desvios padrões. **Resultados:** As condições ótimas da reação foram: peptídeos 5 $\mu\text{g/ml}$; anticorpos primários diluição 1:400 e anticorpo secundário diluição 1:20.000, combinação que melhor diferenciou, respectivamente, as amostras positivas e negativas no MAT. **Conclusão:** Os resultados sugerem que os três peptídeos sintéticos podem ser promissores para a detecção de anticorpos IgG anti-*Leptospira* em soros de bovinos naturalmente infectados. **CEUA:** 006/2017 (Uniube). **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig).

11. PROJETO-PESQUISA MOLECULAR E CULTIVO DE LEPTOSPIRA SPP. NA URINA DE BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICO: RESULTADOS PARCIAIS.

Molecular project-research and cultivation of *Leptospira* spp. in urine of bovines slaughtered in slaughterhouse: partial results.

MANZINI, S.;¹ DUTRA, M.;¹ SÁNCHEZ, G. P.;¹ SANTOS, W. J.;¹ GUIRALDI, L. M.;¹ AIRES, I. N.;¹ RIBEIRO, E.;¹ LUCHEIS, S. B.¹

¹Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA/SAA), Polo Centro-Oeste, Bauru/SP, Brasil.

E-mail: pacheco.sanchez.gabriela@gmail.com

Introdução: A leptospirose é uma zoonose cujos agentes infecciosos são espécies patogênicas do

gênero *Leptospira* spp. Em animais de produção, como os bovinos, a leptospirose determina falhas reprodutivas representadas por: abortamentos e infertilidade, que ocasionam prejuízos econômicos nas fazendas e também põem em risco à saúde dos funcionários.

Objetivo: Investigar a presença de *Leptospira* spp. em bovinos de um frigorífico localizado no Centro-Oeste paulista, a partir de amostras de urina por meio de PCR e cultivo bacteriológico; e comparar a eficiência de tais técnicas para o estabelecimento do diagnóstico da leptospirose bovina. **Métodos:** Foram coletadas 100 amostras de sangue e urina de bovinos no momento do abate, procedentes de diferentes propriedades do estado de São Paulo. O volume de sangue colhido por animal foi de 10 mL em tubos contendo EDTA, os quais foram armazenados em freezer a -20°C até o momento da realização das provas moleculares. As amostras de urina em volumes de 5 mL foram obtidas por punção direta da bexiga, com a utilização de seringas estéreis e acondicionadas em papel alumínio para abrigo da luz, e transportadas em caixas de isopor até o laboratório. As amostras foram cultivadas no mesmo dia, sob condições estéreis, em capela de fluxo laminar, inoculando-se 1 mL diretamente em meio Fletcher e 1 mL em meio EMJH. Os cultivos foram incubados em estufa a $28-30^{\circ}\text{C}$ por 16 semanas, com leituras quinzenais em microscopia de campo escuro. **Resultados:** Os resultados preliminares demonstraram crescimento de microrganismos em forma de espiroquetas somente no meio Fletcher em 13 amostras, porém não houve crescimento em meio EMJH; contudo, após a conclusão do período de leitura em microscopia, todas as amostras serão submetidas à técnica de PCR para confirmação. **Conclusões preliminares:** Os resultados preliminares, disponíveis até o momento, revelaram que o meio de Fletcher está sendo mais favorável ao crescimento de microrganismos sugestivos de leptospirose que o meio EMJH, porém ainda não foi realizada a comparação dos resultados de todas as técnicas diagnósticas previstas. **CEUA:** Protocolo CEUA 0063/2017. **Financiamento:** Fapesp.

12. EFFECTIVENESS OF ANTIMICROBIAL COCKTAILS IN PRIMARY ISOLATION OF LEPTOSPIRA FROM BOVINE CLINICAL SAMPLES

Eficácia de coquetéis antimicrobianos no isolamento primário de *Leptospira* de amostras clínicas bovinas

PEREIRA, P. V.;¹ BRASIL, T.;¹ LOUREIRO, A. P.;¹ CORREIA, L.;¹ PIRES, B. C.;¹ FIGUEIREDO, L.;¹ MARTINS, G.;¹ LILENBAUM W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: wlilenbaum@id.uff.br

Introduction: Isolation of leptospires from clinical samples is a challenge since presence of other microorganisms impairs leptospiral growth. Such contaminating bacteria deplete nutrients and produce metabolites that lead to inhibition of leptospires development. **Objective:** Evaluate the effectiveness of antimicrobial cocktails most frequent used in primary isolation of *Leptospira* from bovine clinical samples. **Methods:** Four cows under reproductive age were random selected from the Fazenda Escola of Universidade Federal Fluminense (UFF). The animals were divided into group A (spontaneous micturition) and group B (urethral catheter). Cervix-vaginal mucus (CVM) samples were also collected from all animals using cytology brush. All samples were seeded into 12 different culture media intended for leptospires isolation – EMJH, T80/40LH and Fletcher, with or without antimicrobial cocktails STAFF, A5 and CHID; which were kept in 30°C for 10 consecutive days. **Results:** There was no difference in contamination growth between urine sample collected by spontaneous micturition or urethral catheter. However, tubes that were seeded with urine (group A and B) presented high contamination level in all media, comparing with those seeded with CVM, which presented lower rates. A5 cocktail did not inhibit microorganism growth when added to any of the culture media. In contrast, CHID cocktail had a superior performance in controlling those contaminants growth, even when compared to STAFF cocktail. **Conclusion:** CVM samples have less microbial load compared to urine samples, resulting in lower contamination of leptospires culture media. Addition of CHID cocktail to EMJH, T80/40LH and Fletcher showed to be the most effective on controlling contaminating microorganism growth for urine and CVM samples. **Ethics committee approval number:** 1025/2017. **Funding:** This study was financed in part by Capes – Finance Code 001 and Faperj.