

SORO-PREVALÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM BOVINOS NA MESORREGIÃO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL

DIEGO ALEXANDRE HEMB ALBA¹; JANAÍNA FADRIQUE DA SILVA²;
GUILHERME NUNES DE SOUZA³; SÉRGIO JORGE⁴; ODIR ANTÔNIO DELLAGOSTIN⁵; LÍGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO⁶.

¹*Universidade Federal de Pelotas – diegoalba06@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – nanafadrique@yahoo.com.br*

³*Embrapa Gado de Leite – guilherme.souza@embrapa.br*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – sergiojorgevet@hotmail.com*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – odirad@gmail.com*

⁶*Embrapa Clima Temperado – ligia.pegoraro@embrapa.br*

1. INTRODUÇÃO

Nos bovinos, as perdas econômicas decorrem de transtornos reprodutivos como infertilidade, aborto, nascimento de bezerros fracos e diminuição temporária da produção leiteira (CERVANTES *et al.* 2002). Uma das doenças envolvidas nas falhas reprodutivas é a leptospirose, importante zoonose causada por espiroquetas. O principal agente etiológico é a *Leptospira hardjo*, e a sua característica biológica mais importante é o estabelecimento de infecções crônicas. Com isso, um animal infectado pode eliminar a leptospira pela urina, de forma intermitente, por vários meses ou até mesmo anos, sendo fonte de infecção para os outros animais do rebanho (CHIDEROLI *et al.*, 2016). Alguns surtos com quadros agudos estão associados à infecção pelos sorovares produtores de hemolisina como *pomona*, *grippotyphosa*, *icterohaemorrhagiae* e *autumnalis*, ao contrário do sorovar *hardjo*, cuja infecção geralmente leva a quadros subclínicos causando abortos (SULLIVAN, 1974).

No Brasil, a soroprevalência da leptospirose em rebanhos varia de 74% a 100% e em animais de 45,56% a 62,3%. Os inquéritos sorológicos evidenciam como importantes os sorovares *Hardjo*, *Wolffi*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae* e *Canicola*, sendo mais prevalente o sorovar *Hardjo* (FAVERO *et al.* 2001)

Por provocar manifestações bastante inespecíficas, o diagnóstico clínico é dificultado, exigindo, usualmente, a confirmação laboratorial (PINTO, 1997). O método de diagnóstico laboratorial preconizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) é a soroaglutinação microscópica – MAT. (CUBAS *et al.*, 2007).

Objetivou-se, através deste estudo, determinar a prevalência da leptospirose e identificar os sorovares infectantes em bovinos de leite localizados na mesorregião Noroeste do estado do Rio Grande do Sul.

2. METODOLOGIA

Foram coletadas 270 amostras de sangue de bovinos de leiteiros, no mês de junho de 2016, representativos da mesorregião Noroeste do estado do Rio Grande de Sul abrangendo 18 propriedades rurais produtoras de leite distribuídas em 17 municípios da região Noroeste.

As amostras foram centrifugadas a 3500 rpm/10 min para a separação do soro, e armazenados a -20°C. As análises laboratoriais foram realizadas no

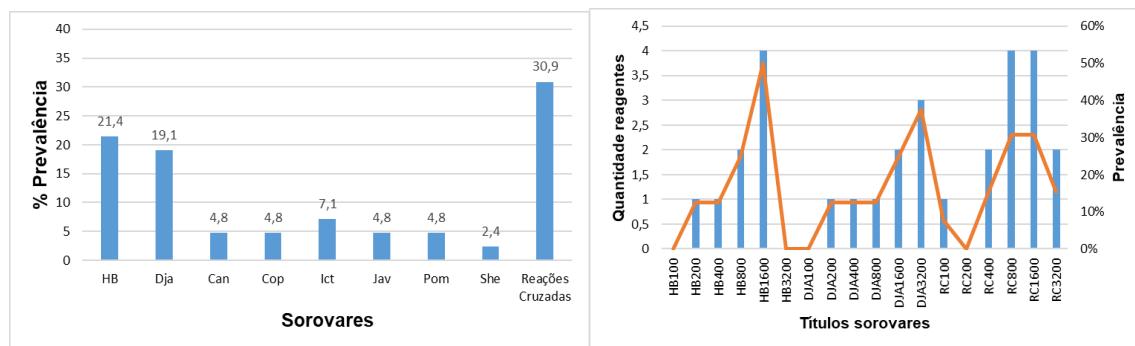
Laboratório de Vacinologia do Núcleo de Biotecnologia - CDTec da Universidade Federal de Pelotas.

Para triagem dos animais reagentes foi realizado o teste ELISA indireto investigando a presença de anticorpos contra a proteína rLipL32 ,conforme protocolo previamente estabelecido (BOMFIM, 2005). As amostras positivas no ELISA foram testadas na MAT conforme protocolo (WHO,2003). Para este fim, cada soro foi diluído 1:50 em solução tampão PBS para a 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. As placas foram incubadas por 2 horas em estufa bacteriológica à temperatura a 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. Após, os positivos foram diluídos em PBS em diluições crescentes partindo de 1:100 até 1:3200 para determinação do título final de anticorpos aglutinantes.

O sorovar com maior título na MAT foi considerado sorovar prevalente. A amostragem aleatória simples foi realizada considerando uma soro-prevalência esperada de 50%. O nível de confiança de 95% e erro amostral de 5% foram utilizados no cálculo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A soro-prevalência da leptospirose bovina diagnosticada no ELISA indireto foi de 15,6% (42 amostras). O número total de amostras reativas foi submetido ao teste MAT no qual 100% reagiram, havendo confirmação do resultado obtido pelo ELISA. Os sorovares/sorogupos prevalentes foram *Hardjo Bovis* (*Hardjo*) e *Djasiman* (sorogrupo *Djasiman*) com 21,4% e 19%, respectivamente. Os demais sorovares testados mostraram valores inferiores a 10% como demonstrado na Figura 1.



1.Prevalência dos sorovares no MAT.

2.Títulos dos sorovares prevalentes.

Os resultados encontrados corroboram, com Tedesco (1997), que analisou 2.448 amostras de soro, provenientes de 56 propriedades dos estados das regiões sul, sudeste e centro-oeste no qual o sorovar *hardjo* foi apontado como o

mais incidente. Os bovinos são considerados hospedeiros de manutenção para este sorovar e, a partir destes resultados, salienta-se a sua importância para esta espécie, nos diferentes estados pesquisados (GOMES, 2013). Entretanto, enquanto o estudo publicado por Tedesco (1997) revelou 61% de animais positivos para a leptospirose, o presente trabalho somente confirmou 15,6% das amostras positivas. Embora haja certa diferença entre as áreas de estudo, nota-se a significativa queda no número de animais infectados. Considerando o tempo entre a realização de um trabalho e outro, que é de dez anos, a menor prevalência aqui relatada pode ser justificada pela atenção destinada atualmente aos cuidados com manejo e sanidade na pecuária leiteira, medidas responsáveis pelo controle do agente infectante na propriedade.

Apesar da confirmação de prevalência do sorovar *hardjo*, o número de amostras com resultados positivos, tanto no ELISA quanto no MAT, para mais de um sorovar – reação cruzada – foi predominante, atingindo 30,9%. Este resultado é frequentemente observado uma vez que anticorpos produzidos em resposta à infecção com um dado sorovar de *Leptospira* reagem com diversos outros sorovares, visto que há um intenso parentesco entre eles (GOMES, 2013).

O uso de testes sorológicos é complicado, em áreas do mundo em que a vacinação é amplamente difundida, pois alguns animais vacinados desenvolvem títulos tanto para IgM quanto para IgG, produzindo resultados positivos e confusos ao teste. Em geral, os bovinos desenvolvem baixos níveis de anticorpos aglutinantes (100 a 400) em resposta à vacinação e, estes títulos permanecem por um a três meses. Entretanto, alguns animais desenvolvem altos títulos embora diminuam com o tempo, eles podem persistir por seis meses ou mais, após a vacinação (GOMES, 2013). Dessa forma, pode gerar resultados falso-positivos.

4. CONCLUSÕES

A partir do presente trabalho, pode-se concluir que o sorovar *hardjo* permanece sendo o mais prevalente na mesoregião noroeste do Rio Grande do Sul.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOMFIM, M. R. Q.; KO, A.; KOURY, M. C. Evaluation of the recombinant LipL32 in enzyme-linked immunosobent assay for the serodiagnosis of bovine leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.109, p. 89- 94, 2005.

CERVANTES, L.P.M.; PUEBLA, M.A.C.; ROSAS, D.G. et. al. Estudio serológico de leptospirosis bovina en México. **Revista Cubana Medicina Tropical** 54(1):24-27. 2002.

Chideroli RT, Pereira UP, Gonçalves DD, Naka,ura AY, Alfieri AA, Alfieri AF, Freitas JC. Isolation and molecular characterization of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo strain Hardjobovis in the urine of naturally infected cattle in Brazil. **Genetics and Molecular Research**, 15(1), 2016, doi: 10.4238/gmr.15018473.

CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. São Paulo: Editora Roca, 2007. p.736-741.

Favero M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. 2001. Leptospirose bovina: variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arquivos do Instituto. Biológico**, São Paulo, 68(2):29-3

PINTO, C.M. **Utilização do papel de filtro para o transporte de amostras destinadas à reação de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em hamsters (Mesocricetus auratus) experimentalmente infectados com Leptospira interrogans sorotipo pomona**. 1997, 39f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

SULLIVAN, N.D. Leptospirosis in animals and man. **Australian Veterinary Journal**, v.50, p.216-223, 1974.

TEDESCO, L.A. Leptospirose: uma doença que se expande e assusta. **Revista Balde Branco**, n.9, p.44-48, 1997.

GOMES, J.P.M. **Gênero Leptospira spp.** FAVET-UFRGS. 2013. Acessado em: 01 out. 2017. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Leptospira%204-2013-1.pdf>

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