

## LEPTOSPIROSE EM BOVINOS LEITEIROS NO RIO GRANDE DO SUL: PROBLEMAS REPRODUTIVOS, DIAGNÓSTICO E VACINAÇÃO ASSOCIADOS À PREVALÊNCIA DO SOROVAR DJASIMAN

JANAÍNA FADRIQUE DA SILVA<sup>1</sup>; SÉRGIO JORGE<sup>2</sup>; FÁBIO RAPHAEL PASCOTI  
BRUHN<sup>3</sup>; GUILHERME NUNES DE SOUZA<sup>4</sup>; LÍGIA MARGARETH CANTARELLI  
PEGORARO<sup>5</sup>; ODIR ANTÔNIO DELLAGOSTIN<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – nanafadrique@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – sergiojorgevet@hotmail.com

<sup>3</sup>Centro de Controle de Zoonoses, CCZ, UFPel – fabio\_rpb@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Embrapa Gado de Leite – guilherme.souza@embrapa.br

<sup>5</sup>Embrapa Clima Temperado – ligia.pegoraro@embrapa.br

<sup>6</sup>Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – odirad@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose com distribuição mundial e em bovinos está associada com transtornos reprodutivos como abortos, natimortos, retenção de placenta, morte do bezerro nas primeiras 72 horas e repetição de cio, com queda na produção de leite e perdas econômicas importantes (SIMÕES, 2016).

É causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*, sendo Hardjo o sorovar mais prevalente no rebanho bovino, ocasionando infecção crônica. Outros sorovares também podem causar a leptospirose bovina como Pomona, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa (FAVERO, 2017). O sorovar Djasiman é pouco citado na literatura, apresentando baixa prevalência. A mesorregião Noroeste do Rio Grande do Sul apresenta uma economia diversificada com destaque na produção leiteira (WESCHENFELDER, 2005). As regiões com clima tropical e subtropical são favoráveis à ocorrência da doença, pois favorecem a sobrevivência do microrganismo. O controle da leptospirose se dá através de medidas preventivas como controle de roedores e vacinação dos animais. As vacinas comercializadas no Brasil incluem os sorovares com baixa importância epidemiológica para a espécie bovina, levando a falhas na vacinação, custo desnecessário e até interferência no diagnóstico (MINEIRO, 2014).

O objetivo deste estudo foi avaliar a soroprevalência da leptospirose bovina, a presença de transtornos reprodutivos relacionados à soroprevalência do sorovar Djasiman com o diagnóstico e vacinação para leptospirose, em diferentes mesorregiões do Rio Grande Sul.

### 2. METODOLOGIA

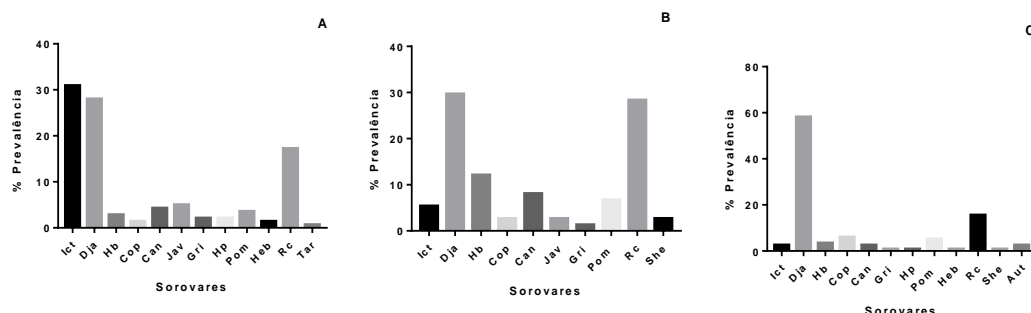
Foram coletadas 442 amostras de sangue de bovinos leiteiros, no mês de junho de 2016. As amostras são representativas das mesorregiões Nordeste e Noroeste (MR1), Noroeste (MR2), Sudeste e Sudoeste (MR3) do estado do Rio Grande do Sul, abrangendo 88 propriedades rurais produtoras de leite. A amostragem aleatória simples foi realizada considerando uma soroprevalência esperada de 50% com nível de confiança de 95% e erro amostral de 5%, por meio da calculadora epidemiológica Epitools (SERGEANT, 2018). No momento da coleta das amostras foi realizada uma entrevista com os proprietários abordando questões sobre as condições do ambiente, os cuidados sanitários com o rebanho, presença de roedores e outros animais, áreas alagadiças e transtornos reprodutivos encontrados. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500

g/10 min para separar o soro e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . As análises 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 previamente descrito (WHO, 2003). Para este fim, cada soro foi diluído 1:50 em solução tampão PBS para a triagem e titulação. Foram selecionados 13 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  $30^{\circ}\text{C}$ . As placas de 96 cavidades foram incubadas por 2 horas em estufa à temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$ . As leituras foram realizadas utilizando-se microscópio de campo escuro com condensador a seco, com 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 foram diluídas em diluições crescentes 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 análise estatística foi realizada por meio da análise univariada do qui quadrado de Pearson por meio do software SPSS versão 20.0, considerando  $p \leq 0,05$  como significativo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência média de anticorpos nas diferentes mesorregiões foi de 77,36%, sendo 74,33% (MR1), 84,09% (MR2) e 77,18% (MR3). No MR1, os sorovares prevalentes foram Icterohaemorrhagiae (sorogrupo Icterohaemorrhagiae) e Djasiman (sorogrupo Djasiman) com prevalência de 30,94% e 28,06%, respectivamente (Figura 1A). No MR2 foram Djasiman 29,73% e Hardjobovis 12,16% (sorogrupo Serjoe) Figura 1B e, na MR3, Djasiman e Copenhageni (sorogrupo Icterohaemorrhagiae) com 58,26% e 6,09%, respectivamente (Figura 1C).

Figura 1. Prevalência Dos Sorovares Na MAT Na MR1(A), MR2(B) e Na MR3 (C). Legenda: Ict: Icterohaemorrhagiae, Dja: Djasiman, Hb: Hardjobovis, Cop: Copenhageni, Can; Canicola, Jav: Javanica, Gri: Grippotyphosa, Hp: Hardjoprajitno, Pom: Pomona, Heb: Hebdomadis, RC: Reação Cruzada, Tar: Tarassovi, She: Shermani e Aut: Autumnalis.



Os sorovares prevalentes variaram em cada mesorregião, reforçando a necessidade de estudos epidemiológicos para informar a situação da leptospirose em cada área estudada.

Os resultados encontrados foram diferentes de LIMA et al. (2016) onde encontrou o sorovar Hardjo como o mais prevalente e os Icterohaemorrhagiae e Djasiman com valores abaixo de 10%. A alta prevalência do Djasiman nas mesorregiões analisadas reforça a importância do sorovar, sugerindo uma infecção incidental pelo contato com animais silvestres como roedores e gambás, que atuam como hospedeiros de manutenção (LANGONI, 2013). A prevalência dos demais sorovares encontrados pode estar relacionada às cepas utilizadas nas vacinas comerciais. Através da análise estatística (Tabela 1) observamos que a presença do sorovar Djasiman é relacionada com a ocorrência de problemas reprodutivos relatados pelo proprietário. Por outro lado, o diagnóstico clínico de leptospirose no rebanho realizado por um médico veterinário, assim como a realização de vacinação para a leptospirose não se mostraram estatisticamente associados ( $p>0,05$ ) a soroprevalência do sorovar Djasiman.

Tabela 1. Associação Entre A *Leptospira Interrogans*, Sorovar Djasiman Com Variáveis Dependentes Coletadas Por Meio De Entrevistas No Estado Do Rio Grande do Sul.

Variáveis (Dependentes)		Sorovar Djasiman (Variável Independente)		Valor de p	OR	IC 95%
Problemas reprodutivos	Sim	43 (89,6%)	19 (70,4%)	p=0,0035	3,62	1,047- 12,525
	Não	5 (10,4%)	8 (29,6%)			
Diagnóstico de Leptospirose	Sim	27 (35,1%)	50 (64,9%)	p=0,085	0,57	0,298- 1,084
	Não	38 (48,7%)	40 (51,3%)			
Vacinação para Leptospirose	Sim	93 (31,2%)	205 (68,8%)	p=0,072	0,69	0,458- 1,034
	Não	60 (39,7%)	91 (60,3%)			

A associação de problemas reprodutivos com o sorovar Djasiman é consistente com os sintomas da infecção crônica por leptospirose como ocorrência de abortos e repetição de cio (LIBONATI, 2018). A porcentagem de problemas reprodutivos não associados ao sorovar Djasiman é devida a infecção por outros sorovares ou por outras doenças reprodutivas. O diagnóstico de leptospirose não foi significativo na análise efetuada por apresentar sintomatologia reprodutiva semelhante à de outras doenças sendo confundida com as demais. A realização de vacinação também não apresentou diferença estatística, pois as vacinas comerciais apresentam os sorovares mais comumente diagnosticados, sendo eles os sorovares Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, sem o sorovar Djasiman nas formulações disponíveis comercialmente, sendo assim, parcialmente efetivas no controle da leptospirose bovina (RINEHART, 2012). A partir dos resultados obtidos são necessários mais estudos para a produção de novas vacinas comerciais, com um menor número de sorovares que incluam principalmente os prevalentes na região, garantindo efetiva proteção.

#### 4. CONCLUSÕES

A alta prevalência do sorovar Djasiman indica a ocorrência de infecção incidental, associada a possível transmissão indireta com urina contaminada. É necessária a realização de medidas de controle nas áreas estudadas, bem como

estudos adicionais para a inclusão deste sorovar nas vacinas comerciais devido sua importância na ocorrência dos transtornos reprodutivos em bovinos na área de estudo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FAVERO, J. F.; ARAÚJO, H. L. D.; LILENBAUM, W.; MACHADO, G.; TONIN, A. A.; BALDISSERA, M. D.; STEFANI, L. M.; D. SILVA, A. S. Bovine Leptospirosis: Prevalence, associated risk factors for infection and their cause-effect relation. **Microbial Pathogenesis**, Amsterdam, v.107, p.149-154, 2017.

LANGONI, H.; VIEIRA DA SILVA, A.; SEGISMUNDO, R.; LUCHEIS BALDINI, S.; PAES, A. C. Variáveis Epidemiológicas e alterações clínicas, hematológicas e urinárias em cães sororreagentes para *Leptospira* spp. **Semina: Ciências Agrárias** Londrina, v. 34, n. 2, p. 765-776, 2013.

LIBONATI, H. A.; SANTOS, G. B.; SOUZA, G. N., BRANDÃO, F. Z.; LILENBAUM, W. Leptospirosis is strongly associated to estrus repetition on cattle. **Tropical Animal Health en Production**, 2018.

LIMA, B. S.; BADKE, M. R.; PASTRE, G.; TEIXEIRA, M. C.A. Levantamento epidemiológico de *Leptospira borgpetersenii* hardjo bovis nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul no período entre maio e dezembro de 2015. In: **XXX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES**, Foz do Iguaçu, 2016. Anais da XXX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões: Foz do Iguaçu, 2016.p. 305- 306.

MINEIRO, A. L. B. B.; VIEIRA, R. J. ; BESERRA, E.E. A.; LEAL, L. M.; SOUSA, F. A. L.; CAMPOS, A. P.; MOREIRA, E. C.; COSTA, F. A. L. Avaliação do controle de leptospirose por vacinação em bovinos de propriedade leiteira no estado do Piauí. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 81, n. 3, p.202-208, 2014.

RINEHART, C. L.; ZIMMERMAN, A. D.; BUTERBAUGH, R.E.; JOLIE, R. A.; CHASE, C. C. Efficacy of vaccination of cattle with the *Leptospira interrogans* serovar hardjo type hardjopravitno component of a pentavalent *Leptospira* bacterin against experimental challenge with *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo type hardjo-bovis. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.73, n.5, p.735-740, 2012.

SIMÕES, L. S.; SASAHARA, T. H. de C.;FAVARON, P. O.; MIGLINO, M. A. Leptospirose- Revisão. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia PUBVET**, v. 10, n. 2, p.138- 146, 2016.

SERGEANT, E. S. G. **EpiTools Epidemiological Calculators**. Ausvet. 2018. Acessado em: 14 de set de 2019. Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au>.

WESCHENFELDER, S.; PIRES, N. J. A.; SCHMIDT, V. Levantamento sorológico e distribuição geográfica da leptospirose em bovinos no Rio Grande do Sul, no período de 1999 a 2001. **Pesquisa. Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.11, n.1-2, p.89-93, 2005.

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