

AValiação DA SORO PREVALÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM REBANHOS LEITEIROS DA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL

JANAÍNA FADRIQUE DA SILVA¹; NATASHA RODRIGUES DE OLIVEIRA²; LÍGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO³; ODIR ANTÔNIO DELLAGOSTIN⁴

¹*Universidade Federal de Pelotas – nanafadrique@yahoo.com.br*

²*Universidade Federal de Pelotas – oliveira_natasha@hotmail.com*

³*Empraba Clima Temperado Estação Experimental Terras Baixas – ligia.pegoraro@embrapa.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – odirad@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose distribuída mundialmente, porém sua ocorrência é observada mais em países de clima tropical e subtropical. Nos bovinos, a infecção crônica está associada com transtornos reprodutivos como ocorrência de abortos, natimortos, retenção de placenta, morte do bezerro em até 72 horas e repetição de cio, ocasionando queda na produção de leite e perdas econômicas importantes (CABRAL PIRES, 2017). É causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*. Os sorovares envolvidos podem variar de região para região dependendo das espécies animais de contato, dos sorovares preexistentes e condições ambientais e climáticas favoráveis ao desenvolvimento das leptospiras (OLIVEIRA, 2009). O sorovar Hardjo é o mais prevalente no rebanho bovino. Outros sorovares também podem causar a infecção como Pomona, *Icterohaemorrhagiae* e *Grippotyphosa* (FAVERO, 2017). O sorovar Djasiman é pouco citado na literatura apresentando baixa prevalência nos animais testados, porém em nosso estudo anterior este sorovar apresentou resultados relevantes (SILVA, 2022).

O diagnóstico da leptospirose bovina e a identificação do sorovar/sorogrupo prevalente em determinada região é importante para o conhecimento da epidemiologia, das características clínicas, tratamento e prevenção da enfermidade. O diagnóstico padrão é a técnica de aglutinação microscópica (MAT), capaz de identificar os sorovares/sorogrupos infectantes e o título de anticorpos (HARTLEBEN, 2016).

O controle da leptospirose se dá através de medidas de biossegurança como controle de roedores e vacinação dos animais. As vacinas comercializadas no Brasil incluem os sorovares de importância epidemiológica para a espécie bovina, levando a falhas na proteção e até interferência no diagnóstico (MINEIRO, 2014). O objetivo deste estudo foi avaliar a soro prevalência da leptospirose bovina e identificar os sorovares prevalentes em diferentes rebanhos da região Sul do Rio Grande Sul.

2. METODOLOGIA

Foram coletadas 73 amostras de sangue de bovinos leiteiros, nos meses de setembro a novembro de 2019 de 5 propriedades produtoras de leite da região Sul

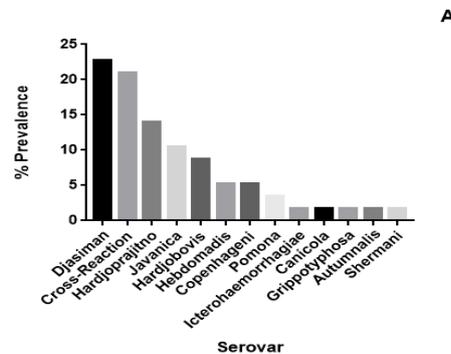
do estado do Rio Grande de Sul, abrangendo municípios de Pelotas, Capão do Leão, São Lourenço do Sul e Canguçu. A amostragem aleatória simples foi realizada considerando uma soroprevalência esperada de 50% com nível de confiança de 95% e erro amostral de 5%, por meio da calculadora epidemiológica EpiTools (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 alagadas e transtornos reprodutivos encontrados. As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 g/10 min para separar o soro e armazenadas a -20°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, Grippytyphosa, 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 placas de 96 cavidades foram incubadas por 2 horas em estufa à temperatura de 30°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.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência média de anticorpos contra leptospira diagnosticada pelo MAT foi de 82%, indicando alta prevalência da leptospirose na região estudada. Os sorovares/sorogrupos prevalentes da leptospirose bovina foram Djasiman (sorogrupo Djasiman), Hardjoprajitno (sorogrupo Serjoe) e Javanica (sorogrupo Javanica) com 22,8%, 14,0% e 10,5%, respectivamente. Os demais sorovares testados mostraram valores inferiores a 10% como demonstrado na Figura A.

Os sorovares/sorogrupos encontrados como prevalentes não são os mesmos relatados por OLIVEIRA (2021), onde o sorogrupo Serjoe apresentou maior prevalência. A sorologia nem sempre identifica anticorpos contra o sorovar Hardjo, mesmo com eliminação de *Leptospira* na urina, pois o diagnóstico de hospedeiros de manutenção é mais complexo, por apresentarem baixos títulos de anticorpos (HARTLEBEN, 2016).

Figura A. Prevalência dos Sorovares na MAT.



No estudo realizado por GUEDES et al. (2019), o sorovar prevalente foi o Hardjoprajtino (sorogrupo Serjoe) com 95,4% e no nosso estudo apresentou apenas 14% de prevalência. A alta prevalência encontrada do sorovar Djasiman, indica a presença de roedores silvestres e gambás nas propriedades, que são os reservatórios, como disseminador da infecção incidental (LANGONI, 2013). Geralmente a infecção crônica pelo sorovar Hardjo, ocasiona abortos, aumento do intervalo entre partos e repetição de cio. Os abortos ocasionados por infecção por sorovares incidentais, como o Djasiman, costumam ocorrer no terço final da gestação, enquanto pelo sorovar Hardjo ocorrem de forma esporádica em qualquer período (HARTLEBEN; BROD, 2016).

No estudo anterior realizado por nosso grupo onde avaliamos amostras de sangue de bovinos de leite de diferentes mesorregiões do Rio Grande do Sul em 2016, também encontramos ao realizar o MAT uma alta prevalência do Sorovar Djasiman com 68,4%, sendo bem maior do que a observada em outros estudos relatados (menos de 10%). Como demonstrado neste estudo, os sorovares envolvidos na infecção podem variar de região para região dependendo das espécies animais de contato, dos sorovares preexistentes, indicando a importância da adição deste sorovar/sorogrupo em estudos de prevalência. A imunidade humoral e celular adquirida através das vacinas comerciais contra a leptospirose atualmente são limitadas aos sorovares/sorogrupos incluídos na sua composição, sendo necessários novos estudos a fim de incluir o sorovar Djasiman na sua formulação para garantir a proteção efetiva dos animais da área estudada.

4. CONCLUSÕES

Este estudo mostrou uma alta prevalência incomum do sorogrupo/sorovar Djasiman em bovinos leiteiros na área estudada, sendo este sorovar considerado causador de uma infecção incidental, indicando a presença de seus reservatórios, reforçando a necessidade de adotar e/ou reforçar as medidas de biossegurança.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CABRAL PIRES, B.; BERZIN GRAPIGLIA, J.; MOREIRA, L.; JAERGER, L. H.; CARVALHO-COSTA, F. A.; LILENBAUM, W. Occurrence of uterine carriers for *Leptospira interrogans* on slaughtered cows, **Microbial Pathogenesis**, 2017.
- 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.
- GUEDES, I. B.; SOUZA, G. O.; CASTRO, J. F. de P.; FILHO, A. F. de S.; ROCHA, K. de S.; GOMES, M. E. T.; MORAES, C. C. G. de; HEINEMANN, M. B. Development of a pooled antigen for use in the macroscopic slide agglutination test (MSAT) to detect Sejroe serogroup exposure in cattle, **Journal of Microbiological Methods**, v.166, p. 1-5, 2019.
- 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.
- LANGONI, H.; VIEIRA DA SILVA, A.; SEGISMUNDO, R.; LUCHEIS BALDINI, S.; PAES, A. C. Epidemiological variables and clinical, hematological and urinary changes in seroreagent dogs for *Leptospira* spp **Semina: Agrarian Sciences**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 765-776, 2013.
- 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.
- OLIVEIRA, G. D. M.; GARCIA, L. A. N.; SOARES, L. A. P.; LILENBAUM, W.; SOUZA, G. N. Leptospirosis by Sejroe strains leads to embryonic death (ED) in herds with reproductive disorders, **Theriogenology**, v.174, n. 15, p. 121-123, 2021.
- OLIVEIRA, F. C. S.; AZEVEDO, S. S.; PINHEIRO, S. R.; VIEGAS, S. A. R. A.; BATISTA, C. S. A.; COELHO, C. P.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G. O.; GONÇALES, A. P.; ALMEIDA, C. A. S.; VASCONCELLOS, S. A. Soroprevalência de leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no estado da Bahia, **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n,4, p.539-546, 2009.
- SERGEANT, E. S. G. **EpiTools Epidemiological Calculators**. Ausvet. 2018. Acessado em: 14 de ago de 2022. Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au>.
- SILVA, J. F.; ALBA, D. A. H.; JORGE, S.; GINDRI, P.; BIALVES, T. S.; SOUZA, G. N.; BRUHN, F. R. P.; PEGORARO, L. M. C.; DELLAGOSTIN, O. A. Leptospirosis in Dairy Cattle from Southern Brazil - Risk Factors. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.50, n.1857,p.1- 8, Porto Alegre, 2022.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control**, Malta, 2003.