

## BOVINOS LEITEIROS REAGENTES PARA *L. interrogans* SOROVAR DJASIMAN NA MESORREGIÃO NOROESTE DO RIO GRANDE DO SUL: PRESENÇA DE ROEDORES E ÁREAS ALAGADIÇAS COMO FATORES DE RISCO

JANAÍNA FADRIQUE DA SILVA<sup>1</sup>; GABRIELA OLIVEIRA DA ROCHA BRITO<sup>2</sup>; LÍGIA MARGARETH CANTARELLI PEGORARO<sup>3</sup>; GUILHERME NUNES DE SOUZA<sup>4</sup>, SÉRGIO JORGE<sup>5</sup>; ODIR ANTÔNIO DELLAGOSTIN<sup>6</sup>

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

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabirbrito@outlook.com

<sup>3</sup>Embrapa Clima Temperado – ligia.pegoraro@embrapa.br

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

<sup>5</sup>Núcleo de Biotecnologia, CDTec, UFPel – sergiojorgevet@hotmail.com

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

### 1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose distribuída mundialmente e em bovinos está relacionada com transtornos reprodutivos como abortos, natimortos, retenção de placenta, morte do bezerro nas primeiras 72 horas e repetição de cio, culminando com a diminuição temporária na produção de leite e perdas significativas importantes (CABRAL PIRES, 2017).

Esta enfermidade é causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* spp., sendo os sorovares prevalentes no rebanho bovino Hardjo, bem como outros do sorogrupo Sejroe, os quais causam infecção crônica e persistente do trato reprodutivo. Porém outros sorovares podem ser causadores da leptospirose bovina, tais como Pomona, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa (FAVERO, 2017). O sorovar Djasiman causando significativa soroconversão em bovinos leiteiros é pouco citado na literatura. Um estudo realizado por Juliano *et al.* (2000) apresentou baixa prevalência na mesorregião Sudeste e Sudoeste do Rio Grande do Sul (menos de 10%), porém no nosso estudo apresentou uma prevalência alta.

A mesorregião Noroeste do Rio Grande do Sul é caracterizada por uma economia diversificada com destaque na produção leiteira. As regiões com clima tropical e subtropical e período de chuvas, são favoráveis à ocorrência da enfermidade, pois favorecem a sobrevivência do microrganismo. As espécies patogênicas de *Leptospira* spp. infectam animais selvagens e domésticos, sendo transmitidas principalmente através do contato direto ou indireto com a urina de animais reservatórios. A presença de roedores, que são considerados os principais reservatórios para o sorovar Djasiman, em contato direto com o gado e com o alimento, são um importante fator de risco para disseminação deste patógeno (LANGONI, 2013).

O objetivo deste estudo foi relacionar a soroprevalência encontrada do sorovar Djasiman com a presença de transtornos reprodutivos em bovinos leiteiros, roedores e áreas alagadiças na mesorregião Noroeste do Rio Grande do Sul.

## 2. METODOLOGIA

Foram coletadas 88 amostras de sangue de bovinos leiteiros, no mês de junho de 2016. As amostras são representativas da mesorregião Noroeste do estado do Rio Grande de Sul (MR), abrangendo 18 propriedades rurais produtoras de leite distribuídas em 17 municípios da região Noroeste. No momento da coleta das amostras foi abordado um questionário sobre as condições do ambiente, cuidados sanitários com o rebanho como vacinação e período realizado, presença de roedores e outros animais, áreas alagadiças, dieta administrada e transtornos reprodutivos encontrados.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 3500 rpm/10 min para a separação do soro e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . As análises laboratoriais 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 realização da triagem e titulação. Foram selecionados 14 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  $30^{\circ}\text{C}$ .

As análises de MAT foram realizadas em placas de 96 cavidades de fundo côncavo. As placas foram incubadas por 2 horas em estufa bacteriológica à temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$ . 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. As amostras reagentes da triagem foram diluídas 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 análise descritiva da soro-prevalência da leptospirose bovina nos rebanhos diagnosticada através do MAT foi de 84,09% indicando alta prevalência da leptospirose na mesorregião estudada. Os sorovares/sorogrupos prevalentes da leptospirose bovina foram Djasiman (sorogrupo Djasiman) e Hardjobovis (sorogrupo Serjoe) com 29,73% e 12,16%, respectivamente. Os demais sorovares testados mostraram valores inferiores a 10%.

De acordo com as respostas obtidas com a realização do questionário epidemiológico foi observada a presença de alterações reprodutivas em 88% (15/17) das propriedades estudadas (Figura 1A), sendo 93% de repetição de cio e 36% de aborto no terço final da gestação, como demonstrado na figura 1B.

1A

1B



Figura 1A: Presença de Alterações Reprodutivas na MR; 1B: Alterações Reprodutivas Encontradas na MR.

A presença de áreas alagadiças foi relatada em 47% das propriedades e, a presença de roedores em apenas 5,88%. Os sorovares encontrados em nosso estudo são diferentes dos resultados relatados por MINEIRO *et al.* (2007) e FAVERO *et al.* (2017), onde o sorovar Hardjo apresentou maior prevalência enquanto o sorovar Djasiman apresentou valor inferior a 10%. A sintomatologia de infecção crônica manifesta no rebanho leiteiro normalmente está associada a perdas reprodutivas como verificado neste estudo. Geralmente a infecção persistente do trato reprodutivo pelo sorovar Hardjo, que é o mais comumente encontrado, ocasiona infecção do feto em vacas prenhes, resultando em abortos, aumento do intervalo entre partos e repetição de cio. Os abortos 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).

A presença de áreas alagadiças em regiões tropicais e subtropicais, favorece ocorrência da enfermidade, devido a persistência e multiplicação das bactérias em ambientes alagados, podendo sobreviver por até 180 dias, dependendo das condições de temperatura, pH, salinidade e poluição, o que indica ser um fator de risco importante para a permanência da bactéria nas propriedades analisadas (ROLIM, 2012). A presença de roedores pouco relatada ou ocultada pelos proprietários, não foi muito relevante no nosso estudo, sugerindo uma nova abordagem a ser realizada, pois a alta prevalência encontrada do sorovar Djasiman, indica a presença deste reservatório como disseminador da infecção incidental, já que este sorovar possui os animais silvestres como roedores e gambás como hospedeiros de manutenção (LANGONI, 2013).

Estudos adicionais para determinação de outros patógenos causadores de transtornos reprodutivos foram igualmente efetuados. Portanto, outros agentes podem estar envolvidos nas falhas reprodutivas observadas, bem como serem disseminados em áreas alagadiças contaminadas e por roedores no ambiente.

#### 4. CONCLUSÕES

A alta soro-prevalência de leptospirose bovina encontrada na mesorregião Noroeste do Rio Grande do Sul, bem como a prevalência do sorovar Djasiman,

indica a ocorrência de infecção incidental, associada a possível transmissão indireta com urina contaminada, presença de áreas alagadiças e de roedores no rebanho perpetuando a enfermidade. É necessária a realização de medidas de controle na área estudada, bem como estudos adicionais para a elucidação da importância do sorovar Djasiman na ocorrência dos transtornos reprodutivos em bovinos.

## 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.

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.

JULIANO, R. S.; TRONCOSO CHAVES, N. S.; DOS SANTOS, C. A.; SOUZA RAMOS, L.; QUEIROZ DOS SANTOS, H.; RODRIGUES MEIRELES, L.; GOTTSCHALK, S.; CAETANO CORRÊA FILHO, R. A. Prevalence and epidemiological aspects of bovine leptospirosis in dairy herds in the Goiânia microregion - Go. **Rural Science**, v. 30, n. 5, 2000.

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; BEZERRA, E. E. A.; VASCONCELLOS, S. A.; COSTA, F. A. L.; MACEDO, N. A. Infecção por leptospira em bovinos e sua associação com transtornos reprodutivos e condições climáticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.5, p.1103-1109, 2007.

ROLIM, M. B. Q; BARROS, S.E. M.; SILVA, V.C.L.; SANTANA, V. L. A; SOUZA, M. A.; HARROP, M.H.V.; MOTA, R. A.; OLIVEIRA, M.A L.; MOURA, A.P. B. L.; LIMA, P. F., Leptospirose em bovinos: revisão *Medicina Veterinária*, v6, n.2, p.26-31, 2012.

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