

ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA EM BOVINOS NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL: UM ESTUDO PILOTO

RAPHAEL LUIZ GENTIL FELIX DE CARVALHO COSTA¹; JULIANA RIBEIRO PEGORARO²; JÚLIA MENDONÇA GOMES³; KAROLINA SILVA SOARES⁴; FRANCIELI DELL'OSBEL⁵; ÉVERTON FAGONDE DA SILVA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – raphaelgentilcosta@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - ribeiropegoraro@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - juliamendgomes@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – karolsssoares@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – fran_dellosbel@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fagondee@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Com base nos dados disponibilizados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, o Brasil conta com um rebanho bovino de 224,6 milhões de cabeças (IBGE, 2021). No Brasil, ao longo do ano de 2022, registrou-se o abate de aproximadamente 29,80 milhões de cabeças bovinas. Esses indicadores colocam o Brasil em uma posição de destaque no que diz respeito a produção e exportação de carne bovina mundial (NAVOLAR et al., 2018).

A leptospirose é causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* e se destaca como uma das doenças infecciosas mais significativas na produção de bovinos e ovinos. Trata-se de uma zoonose de distribuição mundial, concentrando-se em países tropicais e subtropicais, onde elevadas temperaturas e altos índices pluviométricos contribuem para a sobrevivência do microrganismo (LEVETT, 2001). A leptospirose acomete diversas espécies de animais, tendo disseminação no ambiente através da excreção de urina por animais infectados (ADLER, 2015; DEWES et al., 2020). Em bovinos, a enfermidade resulta em interferências no âmbito reprodutivo como aborto, infertilidade, animais natimortos, além de afetar a produção de carne e leite (ELLIS, 2015; DEWES et al., 2020).

O sorovar Hardjo é amplamente conhecido como maior causador de leptospirose bovina no mundo (ELLIS, 2015; DEWES et al., 2020). Contudo, os sorovares Pomona, Icterohaemorrhagiae e Grippotyphosa também estão associados à leptospirose bovina (LILENBAUM; MARTINS, 2014; ELLIS, 2015). O diagnóstico sorológico da leptospirose é realizado por meio do teste de soroaglutinação microscópica (MAT), considerado teste padrão-ouro pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2014). Além disso, diagnóstico da doença também pode ser realizado através do isolamento bacteriano e pela reação em cadeia da polimerase (PCR) (ELLIS, 2015).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo realizar um estudo piloto para coletar amostras de sangue, urina e rins durante o abate de bovinos e ovinos em três frigoríficos da região Sul do Rio Grande do Sul, visando uma análise sorológica, bacteriológica e molecular da leptospirose.

2. METODOLOGIA

Durante os meses abril e maio de 2023, foram coletadas amostras de sangue, urina e rins de bovinos e ovinos em três municípios do sul do Rio Grande do Sul: Pelotas (A), São Lourenço do Sul (B) e Capão do Leão (C). Foram coletadas 16 amostras de sangue de ruminantes, sendo 14 de bovinos. Destas, 6 amostras

de bovinos foram obtidas no município A, 5 amostras de bovinos em B, e 3 amostras de bovinos no município C.

As amostras foram coletadas no momento da sangria, utilizando tubos estéreis de falcon de 15 ml sem anticoagulante, e posteriormente transportadas em caixa isotérmica para serem encaminhadas ao laboratório. As amostras foram centrifugadas a 3000 rotações por 5 minutos, e o soro resultante foi armazenado em tubos Eppendorf.

No que diz respeito às amostras de urina, estas foram obtidas por punção na bexiga na linha de abate. Vale destacar que, no município C, foi possível estabelecer a correspondência entre as amostras de sangue e as de urina. As gotas das amostras de urina foram inoculadas em meio EMJH.

Em relação aos rins, foram coletados 5 fragmentos de rins apenas no Município A, sem correspondência com outras amostras coletadas. Com uso de material estéril, foram coletadas pequenas porções do lóbulos de rins condenados por nefrite, congestão e presença de cisto urinário. Posteriormente, foram encaminhadas para o laboratório para processamento e utilizando seringa, os rins foram macerados e inoculados em meio EMJH.

Para a detecção de anticorpos anti-*Leptospira*, empregou-se o teste de aglutinação microscópica (MAT). A sorologia foi utilizada como ferramenta para aprofundar a compreensão dos aspectos epidemiológicos relacionados à prevalência dos sorogrupos predominantes.

Durante o MAT foi utilizada uma bateria de antígenos vivos, cultivados em 29°C durante 7 dias. A diluição utilizada foi de 1:50 em solução tampão de PBS (Phosphate-buffered saline). Utilizou-se uma diluição dos soros em 1:50 e um painel contendo onze sorovares patogênicos (*Icterohaemorrhagiae*, Copenhageni, Canicola, Grippothyphosa, Pomona, Australis, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Butembo e Bratislava) e um saprófita – Patoc I. Posteriormente, foram incubadas a uma temperatura de 29°C por aproximadamente duas horas e realizada a leitura em microscopia de campo escuro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos rins e a urina coletados, não foi observado crescimento de *Leptospira*. No entanto, a urina processada será utilizada posteriormente para a realização da técnica de PCR.

Durante o MAT, 9 das 14 amostras (64,28%) foram reagentes com títulos de 100. Esses resultados estiveram principalmente associados aos sorogrupos Hardjo e Wolffi (35,7%), estando de acordo com o que foi descrito por (ELLIS, 2015; DEWES et al., 2020), em que o sorovar Hardjo é amplamente reconhecido como o principal agente causador de leptospirose bovina em todo o mundo.

O sorovar Wolffi foi o segundo mais frequente nos bovinos analisados, o que também era esperado, visto que ele está listado entre os de maior ocorrência nos rebanhos bovinos do Brasil (Sarmiento et al., 2012).

Além deles, também foi observada a ocorrência de reações em bovinos para os sorovares Bratislava, *Icterohaemorrhagiae* e Pomona. Esses sorovares são considerados acidentais para bovinos, e segundo Castro et al. (2008) a transmissão indireta está associada ao contato com o meio ambiente contaminado por leptospiros oriundas de espécies silvestres ou de outras espécies domésticas.

Quadro 1. Resultados do teste de soroaglutinação microscópica (MAT) com soros bovinos, apresentados de acordo com os sorovares e os títulos de anticorpos.

Soros	Antígenos											
	Icte	Cop	Can	Grip	Pom	Aus	Pyro	Hard	Pat	Wol	But	Bra
1	-	-	-	-	-	-	-	100	-	100	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100
4	-	-	-	-	-	-	-	100	-	100	-	-
5	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	-	100
6	-	-	-	-	-	-	-	100	-	100	100	-
BB1	-	-	-	100	-	-	-	-	-	-	-	-
BB2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BB3	100	-	100	100	100	-	-	-	-	-	-	-
B1	-	-	-	-	-	-	-	100	-	100	-	-
B2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B5	-	-	-	-	-	-	-	100	-	100	-	-

Legenda: Icte=Icterohaemorrhagiae, Cop=Copenhageni, Can=Canicola, Grip=Grippothyphosa, Pom=Pomona, Aus=Australis, Pyro=Pyrogenes, Hard=Hardjo, Pat=Patoc, Wol=Wolffi, But=Butembo, Bra=Bratislava

4. CONCLUSÕES

Foi possível concluir a prevalência dos sorogrupos Hardjo e Wolffi (35,7%) como principais agentes da leptospirose nos bovinos incluídos no estudo, além da detecção de outros sorovares considerados acidentais, o que sugere transmissão indireta através do contato com o meio ambiente contaminado. Isso enfatiza a necessidade de vigilância e controle da leptospirose na produção de bovinos, dada a sua relevância para a reprodução e produção de carne. Para isso, é necessário continuar a pesquisa para obter um quadro epidemiológico mais abrangente para implementar estratégias de controle apropriadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, B. *Leptospira and leptospirosis*. Current Topics in Microbiology and Immunology, Berlin, 387, 293, 2015.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira and leptospirosis*. Veterinary Microbiology, v.140, p.287-296, 2010.

CASTRO, V.; AZEVEDO, S.S.; GOTTI, T.B.; BATISTA, C.S.A.; GENTILI, J.; MORAIS, Z.M.; SOUZA, G.O.; VASCONCELLOS, S.A.; GENOVEZ, M.E. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.75, n.1, p.3- 11, 2008.

DEWES, C. et al. Padronização de ELISA indireto para a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* em soros bovinos. *Brazilian Journal of Development*, v. 6, n. 9, p. 72941-72948, 2020.

ELLIS, W.A. Animal leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 387, 99-137., 2015.

HAMMOND, C.; MARTINS, G.; LILENBAUM, W.; MEDEIROS, M.A. PCR detection of leptospiral carries among seronegative horses. *The veterinary record*, v.71, p. 105 – 106, 2012.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Disponível em:<
<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?id=72380&view=detalhes> >. Acesso em: 07 de agosto, 2023.

LEVETT P.N. Leptospirosis: a forgotten zoonosis. *Clin. Appl. Immunol. Rev.* 14(2):296-326, 2001.

LILENBAUM, W.; MARTINS G., Leptospirosis in cattle: a challenging scenario for the understanding of the epidemiology, *Transbound. Emerg. Dis.*, Hoboken, v.6, p.63-68, 2014.

NAVOLAR, F. M. N.; DE PAULA, G. R.; PEREIRA, T. P. S.; CARVALHO, R. H. Bem estar em animais de produção. *Ciência Veterinária UniFil*, v. 1, n. 2, 2018.

OIE. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. World Organization for Animal Health, Paris, 2014. Disponível em: < http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.12_LEPTO.pdf. >. Accessed 03 de setembro de 2023

REZENDE, Laís Miguel. Diagnóstico de leptospirose bovina em duas propriedades rurais utilizando MAT, ELISA e PCR. 2016. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

SARMENTO, A. M. C.; AZEVEDO, S. S.; MORAIS, Z. M.; SOUZA, G. O.; OLIVEIRA, F. C. S.; GONÇALES, A. P.; MIRAGLIA, F.; VASCONCELLOS, S. A.. Emprego de estirpes *Leptospira* spp. isoladas no Brasil na microtécnica de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da leptospirose em rebanhos bovinos de oito estados brasileiros. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n. 7, p. 601-606,