



SOROVARES PREVALENTES NO DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE EQUINA

USECHE, Santiago D. C.; QUINHONES, Lara T. N. G.; NASCIMENTO, Isabel S.; JORGE, Sérgio; RADIN, Jaqueline; HERNANDES, Juliana C.; PRESTES, Leonardo F.; RECUERO, Ana L. C.; BROD, Claudiomar S.; HARTLEBEN, Cláudia P.;

1-Centro de Controle de Zoonoses – Faculdade de Veterinária/UFPel
Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900- email: sergiojorgevet@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose que acomete animais domésticos, silvestres e o homem e a transmissão ocorre através da água contaminada por *Leptospiras* (Faine et al, 1999) e a população de risco, humana ou animal, são aquelas que vivem em condições sanitárias e de infra-estrutura precárias (Barwick et al, 1997).

Na espécie eqüina a enfermidade foi descrita com apresentação subclínica, resultando em abortos, nascimentos de animais prematuros e debilitados. Os sintomas freqüentemente descritos são a febre, a icterícia, nefrite e complicações oculares (Hong et al, 1993). A oftalmia se instala após a fase de latência da doença, podendo ser detectada pela presença de leptospiras nas lesões oculares e alta concentração de anticorpos no humor aquoso (Radostits, et al., 2000). Os sorovares descritos como prevalentes em amostras de soro eqüino, detectados no teste de aglutinação microscópica são o *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Wolffi*, *Hardjo*, *Canicola*, *Ballum*, *Butembo*, *Bataviae*, *Pyrogenes*, *Javanica*, *Tarassovi*, *Panamá*, *Castellonis*, *Sejroe*, *Hebdomadis*, *Grippotyphosa* (Hong et al, 1993, Linhares et al, 2005, Molnar et al, 2001, Swart et al, 1982).

O presente estudo descreve os sorovares prevalentes em amostras de soro eqüino reagentes no teste de aglutinação microscópica (MAT), recebidas para diagnóstico de leptospirose no Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública, departamento de Medicina Veterinária Preventiva, da UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de soro

Foram analisadas amostras de soro de 29 eqüinos reagentes na MAT, recebidas no laboratório do Centro de Controle de Zoonoses da UFPEL (CCZ UFPEL) para diagnóstico de leptospirose, no período de 2 de janeiro de 2008 a 23 de dezembro de 2008. As amostras de sangue total foram submetidas à centrifugação a 3.000 rpm por 5 min, recolhido o soro sobrenadante, identificadas e congeladas a -20°C até o momento do uso.

Teste de Aglutinação Microscópica (MAT)

Foi utilizada a técnica de aglutinação microscópica (MAT) para a pesquisa de aglutininas anti *Leptospira* nas amostras de soros (Faine et al., 1999). O título de triagem utilizado foi de 100. Os antígenos utilizados foram em número de 70, pertencendo às espécies *L.interrogans*, *L. Borgpetersenii*; *L. Kirshneri*; *L. Biflexa*; *L. Santarosai* e cepas isoladas ainda não caracterizadas e um *Leptonema (L. illini)*. As bactérias foram cultivados em meio EMJH enriquecido. Nos casos de coaglutinação, o sorovar que apresentou maior título foi considerado como prevalente. O diagnóstico foi realizado no Laboratório do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ/UFPel) Faculdade de Veterinária, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

Análise dos Dados

Para a análise dos resultados obtidos, foi construído um banco de dados no programa EPI Info 6. O banco consta de identificação, procedência dos animais, data de coleta de amostras, reatividade na MAT e título de anticorpos dos sorovares reagentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A freqüência de soropositividade na MAT foi de 87,10%. Das 31 amostras de animais suspeitos de Leptospirose, 4 (12,9%) foram negativas e 27 (87%) foram positivas para um ou mais sorovares de *Leptospira* com títulos iguais ou superiores a 100. Das amostras reagentes, os sorovares patogênicos prevalentes foram o CCZ 49, isolado de bovino, sorogrupo ainda não caracterizado (32,3%), com título variando de 100 a 200, CCZ *Isoton*, *isolado humano*, sorogrupo Djasiman (29%), com título variando de 100 a 200; sorovar Djasiman, sorogrupo Djasiman (16,1%), com título de 100, sorovar *Proechimys*, sorogrupo Pomona (12,9%) e sorovar cascata, sorogrupo *Bataviae* Entre os sorovares saprófitas, o sorovar patoc, *L. biflexa* foi o mais freqüente (9,7%).

Tabela 01. Freqüência de sorovares em soros eqüinos reagentes na MAT

Sorogrupo	Sorovar	Amostra	Esp.genômica	Freq.%...
<i>Illini</i>	<i>Illini</i> **	3055	<i>L. illini</i>	20	64.5
	Picanha	Isolado bovino*		10	32.3
<i>Djasiman</i>	<i>Isoton</i>	Isolado humano*	<i>L. Interrogans</i>	9	29.0
<i>Djasiman</i>	<i>Djasiman</i>	<i>Djasiman</i>	<i>L. Interrogans</i>	5	16.1
<i>Pomona</i>	<i>Proechimys</i>	1161 U	<i>L. Interrogans</i>	4	12.9
<i>Bataviae</i>	<i>Cascata</i> ¹	Isolado humano*	<i>L. Interrogans</i>	4	12.9
<i>Australis</i>	<i>Australis</i> ***	Ballico	<i>L. Interrogans</i>	3	9.7
<i>Pyrogenes</i>	<i>Pyrogenes</i> ***	Salinem	<i>L. Interrogans</i>	3	9.7
<i>Sejroe</i>	<i>Hardjo</i> ***	Hardjoprajitno	<i>L. Interrogans</i>	3	9.7
<i>Semarang</i>	<i>Patoc</i> ***	Patoc I	<i>L. Biflexa</i>	3	9.7
<i>Doberto</i>	<i>Rufino</i> **	RPE		3	9.7
	Ike	Isolado humano*		3	9.7
	Cau	Isolado mus musculus*	<i>L. Borgpetersenii</i>	3	9.7
<i>Autumnalis</i>	Caco	Isolado ovino*		3	9.7
<i>Canicola</i>	Tande	Isolado canino*	<i>L. Interrogans</i>	3	9.7
<i>Australis</i>	Bratislava	Jez Bratislava	<i>L. Interrogans</i>	2	6.5
<i>Autumnalis</i>	<i>Autumnalis</i> ***	Akiyami A	<i>L. Interrogans</i>	2	6.5
<i>Autumnalis</i>	Butembo	Butembo	<i>L. kirshneri</i>	2	6.5
<i>Canicola</i>	<i>Canicola</i> ***	Hond Utrecht IV	<i>L. Interrogans</i>	2	6.5
	CCZ-Bahia	Isolado mus musculus*		2	6.5
<i>Bataviae</i>	<i>Bataviae</i> ***	Swart	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3
<i>Grippotyphosa</i>	<i>Grippotyphosa</i> ***	Moskva V	<i>L. Kirshneri</i>	1	3.3
<i>Hebdomadis</i>	<i>Hebdomadis</i> ***	Hebdomadis	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3
<i>Icterohaemorrh.</i>	<i>Copenhageni</i> ***	M 20	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3
<i>Icterohaemorrh.</i>	<i>Icterohaemorrh.</i> ***	RGA	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3
<i>Icterohaemorrh.</i>	<i>Icterohaemorrh.</i>	Kantorovic		1	3.3
<i>Pomona</i>	<i>Pomona</i> ***	Pomona	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3

<i>Sejroe</i>	Sejroe***	M 84	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3
<i>Sejroe</i>	Saxkoebing	Mus 24	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3
<i>Shermani</i>	Shermani	1342 K	<i>L. Santarosai</i>	1	3.3
<i>Tarassovi</i>	Tarassovi***	Prelepelitsin	<i>L. Borgpetersenii</i>	1	3.3
<i>Andamana</i>	Andamana**	CH 11	<i>L. Biflexa</i>	1	3.3
<i>Andamana</i>	Andamana**	Bovedo	<i>L. Biflexa</i>	1	3.3
<i>Djasiman</i>	Sentot	Sentot 90 C	<i>L. Interrogans</i>	1	3.3
	Gig	Isolado de bovinos*		1	3.3
	Kade	Isolado rattus rattus*		1	3.3

O *Leptonema ilini* apresentou reação cruzada com sorovares patogênicos em 58% das amostras e 6,45% das reações ocorreram somente para esta bactéria. As demais reações ocorreram na faixa de 9 a 3,3 % contra diversos sorovares utilizados, conforme apresentado na tabela 1.

O maior título contra sorovar patogênico (800) ocorreu para o sorovar CCZ 206, sorogrupo *Batavia* (*L.interrogans*), e contra sorovar saprófita (400), o sorovar patoc (*L.biflexa*). Para o *L. ilini* o maior título encontrado foi de 1.600 (Tabela 2).

Tabela 2 - Sorovares mais prevalentes e título sorológico, em 29 soros eqüinos reagentes na MAT no ano de 2008

Sorovares	Título de Anticorpos					Total
	100	200	400	800	1600	
<i>Leptonema ilini</i>	0	2	5	0	1	8
Picanha	3	1	0	0	0	4
Hardjo	3	0	0	0	0	3
Proechimys	0	1	1	0	0	2
Cascata ¹	0	1	0	1	0	2
Isoton	1	0	1	0	0	2
Cau	1	0	1	0	0	2
Bratislava	1	0	0	0	0	1
Patoc	0	0	1	0	0	1
Rufino	0	1	0	0	0	1
Ike	0	1	0	0	0	1
Gig	0	0	1	0	0	1
Caco	0	1	0	0	0	1
Total	9	8	10	1	1	29

A frequência de soros positivos, descrita neste estudo foi semelhante à descrita no estado do Pará (Molnar et al, 2001) mas inferior ao descrito em outras regiões do país (Giorgi, 1981, Linhares et al, 2005), porém os soros utilizados neste estudo eram provenientes de animais com suspeita clínica de leptospirose, diferindo de estudos epidemiológicos realizados em populações aparentemente saudáveis (Giorgi, 1981; Molnar et al, 2001; Linhares et al, 2005) .

Os sorovares prevalentes encontrados foram semelhantes aos descritos como comuns para a espécie eqüina (Linhares et al, 2005), porém a recomendação da inclusão de cepas isoladas locais (Levett, 2001) aumentou o número de soros reagentes e as cepas isoladas da região Sul, apresentaram a maior prevalência (CCZ 49) e o maior título (CCZ 206- cascata).

4. CONCLUSÕES

Concluimos que amostras de soro da espécie eqüina devem ser analisadas com o maior número possível de sorovares, Ainda, a inclusão de cepas isoladas de animais presentes no ecossistema aumenta a sensibilidade da MAT para o diagnóstico e identificação de soros reagentes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARWICK, R.S; MOHAMMED, H.O.; MCDONOUGH, P.L.; WHITE, M.E. Risk factors associated with the likelihood of Leptospiral seropositivity in horses in the state of New York. **American Journal Veterinary Research**, 1997, 58, p.1097-1103.

FAINE, S. ADLER, B. BOLIN, C. PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**, p.296. MediSci, Melbourne, Austrália, 1999.

GIORGI, W. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **Instituto Biológico de São Paulo**, 1981, 47, p. 47-53.

HONG, C.B.; DONAHUE, J.M.; GILES, R.C.; PETRITES-MURPHY, M.B.; POONACHA, K.B.; ROBERTS, A.W.; SMITH, B.J.; TRAMONTIN, R.R.; TUTTLE PA; SWERCZEK TW. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 following seasons. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 1993, 5, p. 560-566.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Review**, 2001, 14, p.296-326.

LINHARES, G. F. C.; GIRIO, R. J. S.; LINHARES, D. C. L.; MONDEIRO, L. C. M.; OLIVEIRA, A. P. A. Sorovares de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da microrregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, 2005, 6, p. 255-259.

MOLNAR, E.; DIAS, H. L. T.; MOLNAR, L. Estudo comparativo entre o teste da soroaglutinação microscópica (SAM) e o imunoensaio ligado à enzima (ELISA) para o diagnóstico da leptospirose eqüina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 2001, 23, p. 151-155.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. et al. Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9.ed. London: W.B. Saunders, 2000. p.867-891.

SWART, K. S.; CALVERT, K.; MENEY, C. The prevalence of antibodies to serovars of *Leptospira interrogans* in horses. **Australian Veterinary Journal**, 1982, 59, p. 25-27.