

ESTUDO RETROSPECTIVO DE DIAGNÓSTICOS DE *LEPTOSPIRA* SPP. EM RUMINANTES REALIZADOS NA FMVZ/USP DE 2018 A 2022

RETROSPECTIVE STUDY OF *LEPTOSPIRA* SPP. IN RUMINANTS CARRIED OUT AT FMVZ/USP FROM 2018 TO 2022

Bianca Galindo Campos¹ , Lucas Cajé Araújo Ferreira¹ ,
Jessica Santana Cassorla¹ , Gisele Oliveira de Souza² , Denise Batista Nogueira² ,
Marcos Bryan Heinemann²  e Natália Carrillo Gaeta^{2,3,4} 

RESUMO

Leptospira é um gênero bacteriano que inclui espécies zoonóticas transmitidas, principalmente, pela exposição direta ou indireta à urina de animais infectados. O estudo epidemiológico desse gênero em ruminantes é crucial devido aos impactos na saúde animal e pública. Diante disso, este trabalho analisou dados epidemiológicos de diagnósticos diretos e indiretos de *Leptospira* spp. em ruminantes, realizados pelo Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil. Foram identificados 563 pedidos de diagnóstico por isolamento, principalmente de amostras de bovinos. *Leptospira* spp. foi isolada em 11,9% das amostras, predominantemente em 2020 (24,2%), a partir de amostras bovinas do Pará (24,65%). Já quanto ao diagnóstico indireto por aglutinação microscópica (MAT), 3.377 amostras foram testadas, principalmente de origem bubalina (42,9%) provenientes de animais do Estado do Pará (54,75%). Para estas solicitações, observou-se elevada ausência de dados sobre a procedência das amostras (41,16%). Por fim, a maioria dos indivíduos testados apresentaram anticorpos para os sorogrupos Pomona (13,6%) e Sejroe (13,1%). Os dados obtidos durante o período avaliado indicam que a *Leptospira* está presente em rebanhos de ruminantes de várias regiões do Brasil. A baixa frequência de isolados desta bactéria se deve, provavelmente à dificuldade no isolamento deste agente exigente. Além disso, notou-se uma alta frequência de informações ausentes nas fichas de requisição de exames, o que evidencia falhas nas etapas pré-analítica e analítica, dificultando avaliações epidemiológicas e a compreensão da dinâmica da infecção.

Palavras-chave: bovino, bubalino, isolamento, leptospirose, MAT.

ABSTRACT

Leptospira is a bacterial genus that includes zoonotic species primarily transmitted through direct or indirect exposure to the urine of infected animals. The epidemiological study of this genus in ruminants is crucial due to its impact on both animal and public health. In this context, this study analyzed epidemiological data from direct and indirect diagnostics of *Leptospira* spp. in ruminants, conducted by the Laboratory of Bacterial Zoonoses (LZB) at the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo, between 2018 and 2022. A total of 563 diagnostic requests for isolation were identified, mainly from bovine samples. *Leptospira* spp. was isolated in 11.9% of the samples, predominantly in 2020 (24.2%), from bovine samples in Pará (24.65%). Regarding the indirect diagnosis by microscopic agglutination test (MAT), 3,377 samples were tested, primarily of bubaline origin (42.90%), from animals in the State of Pará (54.75%). A high lack of data on sample origin (41.16%) was observed in these requests. Finally, most tested individuals showed antibodies for the Pomona (13.6%) and Sejroe (13.1%) serogroups. The data obtained during the evaluated period indicate that *Leptospira* is present in ruminant herds across various regions of Brazil. The low frequency of bacterial isolates is likely due to the challenges in isolating this fastidious agent. Additionally, a high frequency of missing information in the diagnostic request forms was noted, highlighting flaws in both the pre-analytical and analytical stages, which complicates epidemiological assessments and the understanding of infection dynamics.

Keywords: bovine, buffalo, isolation, leptospirosis, MAT.

1 Discente do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Cruzeiro do Sul (UNICSUL), São Paulo, SP, Brasil.

2 Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.

3 Universidade de Santo Amaro (UNISA), São Paulo, SP, Brasil.

4 Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária (PCVet), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil.



Autora para correspondência:
ngaeta@prof.unisa.br

Revista Brasileira de Buiatria
Volume 1, Número 1, p.20-27, 2024

Publicado em 30 de outubro de 2024

ISSN 2763-955X

DOI: 10.70061/2763-955X.2024.006



Associação Brasileira
de Buiatria



INTRODUÇÃO

Os ruminantes desempenham um papel crucial na economia agrícola global, contribuindo significativamente para a produção de carne, leite e outros produtos derivados. No Brasil, por exemplo, o setor pecuário é um dos pilares da economia, com um rebanho bovino que supera os 200 milhões de cabeças, sendo um dos maiores produtores mundiais de leite e carne¹. Apesar do potencial econômico desses animais, fatores como as enfermidades infecciosas representam uma ameaça significativa para a produtividade e lucratividade do setor². Portanto, compreender e abordar essas enfermidades é essencial para garantir a saúde e o bem-estar dos rebanhos, bem como a sustentabilidade econômica da indústria pecuária.

Dentre as enfermidades infecciosas de importância econômica nesses animais, destaca-se a leptospirose, zoonose distribuída mundialmente cujo agente etiológico é uma bactéria espiroqueta do gênero *Leptospira* spp. Este gênero apresenta atualmente 64 espécies sendo elas caracterizadas como patogênicas, intermediárias ou saprófitas. A maioria das infecções humanas e animais estão relacionadas a espécies virulentas patogênicas como *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii*, e *L. noguchii*³. Sorologicamente, as leptospirosas são classificadas em sorogrupos. *Leptospira interrogans*, a principal espécie patogênica, apresenta 25 sorovares que estão agrupados em 25 sorogrupos antígenicamente relacionados⁴.

A depender do sorovar infectante, os indivíduos podem ser caracterizados como hospedeiros adaptados ou acidentais, sendo os primeiros, aqueles que apresentam alta possibilidade de se infectar com *Leptospira* spp., mas com baixa patogenicidade e, os acidentais, aqueles que têm uma baixa possibilidade de se infectar, porém a bactéria tem alta habilidade de causar a doença, crônica ou aguda⁴. Nos ruminantes, a leptospirose é caracterizada por episódios de abortamentos, retenção

de placenta, nascimentos prematuros, morte, infertilidade e diminuição na produção de leite, causando grandes perdas econômicas para a produção⁵.

De maneira geral, o diagnóstico de *Leptospira* spp. pode ser realizado a partir de testes diretos e indiretos. No primeiro caso, destacam-se o cultivo e isolamento e/ou detecção de importantes genes como 16S rRNA (para confirmação da presença da bactéria na amostra) e *lipL32* (para confirmação da patogenicidade da bactéria)⁶. Devido à baixa sensibilidade do cultivo e isolamento, testes indiretos (sorológicos) são extensivamente utilizados. Para a *Leptospira* spp., o principal teste é a soroaglutinação microscópica (do inglês, *Microscopic Agglutination Test* - MAT), na qual leptospirosas vivas são utilizadas como antígenos e cujo resultado é sorogrupo-específico⁷.

A compreensão da frequência de isolados e da distribuição dos sorogrupos de *Leptospira* spp. em diversas regiões pode ser realizada pela compilação de dados obtidos em laboratórios de rotina diagnóstica. Essa prática complementa os dados acadêmicos, auxiliando nas tomadas de decisão quanto às medidas de prevenção e controle a serem implementadas nas diferentes regiões do país, para contribuir com a redução das perdas econômicas decorrentes desta enfermidade. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi analisar dados epidemiológicos de diagnósticos diretos e indiretos de *Leptospira* spp. em ruminantes, realizados pelo Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), entre os anos de 2018 e 2022.

MATERIAL E MÉTODO

Cadernos de registro de amostras foram utilizados para a obtenção dos dados provenientes de diagnósticos de diretos (cultivo, isolamento e reação em cadeia da polimerase) e indiretos (MAT) de *Leptospira*



spp. em ruminantes, realizados no LZB/FMVZ/USP, entre os anos de 2018 e 2022. Em cada ficha/caderno, foi realizada a compilação dos dados relacionados ao ano do diagnóstico, espécie, sexo, idade e localização do animal, tipo de amostra, exame solicitado e resultados obtidos.

Com relação ao exame direto, foram compilados dados relacionados ao resultado do cultivo e isolamento de *Leptospira* spp., bem como da amplificação dos genes 16S rRNA e/ou *lipL32*. Quanto ao exame indireto (MAT), foram compilados os resultados referentes à aglutinação (reagente) ou não (não-reagente) das amostras frente à 24 sorovares pertencentes à dezoito sorogrupos (Tabela 1).

Por fim, os resultados foram demonstrados em frequências absolutas e relativas. Gráficos foram utilizados para facilitar a visualização dos dados e foram realizados no Excel.

RESULTADOS

Entre 2018 e 2022, foram solicitados 563 diagnósticos para *Leptospira* spp. por cultivo e isolamento, com a maioria das solicitações ocorrendo em 2021 (57%, n=321), seguido por 2020 (38,9%, n=219), 2018

(3,9%, n=22) e 2022 (0,2%, n=1). A maior parte das amostras foram provenientes do Estado do Amapá (49,4%, n=278), seguido pelo Pará (38,2%, n=215), Minas Gerais (7,6%, n=43) e São Paulo (4,6%, n=26). Apenas uma solicitação não apresentou a localização dos animais. Em relação ao tipo de espécime clínico, foram predominantemente processados rins (49,5%, n=279), urina (47,4%, n=267), leite (2,1%, n=12), sangue (0,7%, n=4) e fígado (0,2%, n=1). Nenhuma ficha continha informações sobre a idade e o sexo dos animais.

Leptospira spp. foram isoladas em 11,9 % (67/563) das amostras, sobretudo em 2020 (9,4%, n=53), a partir de amostras bovinas do Pará (9,4%, n=53). Em 2021 (2,5%, n=14), os isolados foram obtidos principalmente de bubalinos do Amapá (1,4%, n=8), seguidos por bovinos de Minas Gerais (1,1%, n=6). Dentre as *Leptospira* spp. isoladas, 13,4% (9/67) das estirpes foram caracterizadas como patogênicas devido a amplificação do gene *lipL32*. Esses isolados foram obtidos a partir de urina (11,1%, n=1) e rim (88,9%, n=8) de búfalos do Amapá.

Em relação ao diagnóstico indireto (MAT), 3.377 amostras foram enviadas para diagnóstico sorológico majoritariamente em 2019 (57,2%, n=1.931),

Tabela 1. Painel contendo 24 sorovares utilizados como antígenos durante o teste de soroaglutinação microscópica (MAT) realizado no LZB/FMVZ/USP.

ID	Sorogrupo	Sorovar	ID	Sorogrupo	Sorovar
1	Australis	Australis	13	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
2		Bratislava	14		Icterohaemorrhagiae
3	Autumnalis	Autumnalis	15	Javanica	Javanica
4		Butembo	16	Panama	Panama
5	Ballum	Castellonis	17	Pomona	Pomona
6	Batavia	Bataviae	18	Pyrogene	Pyrogenes
7	Canicola	Canicola	19		Pomona
8	Celledoni	Whitcombi	20	Sejroe	Hardjo (Hardjoprajitno)
9	Cynopteri	Cynopteri	21		Hardjobovis
10	Djasiman	Sentot	22	Shermani	Shermani
11	Grippotyphosa	Grippotyphosa	23	Pomona	Pomona
12	Hebdomadis	Hebdomadis	24	Tarassovi	Tarassovi



seguida por 2021 (35,2%, n=1.188) e 2022 (1,9%, n=65). Os espécimes eram principalmente de origem bubalina (42,9%, n=1.449), seguida por bovina (32,2%, n=1.088), ovina (24,1%, n=814) e caprina (0,76%, n=26). Quanto a localização, as amostras eram provenientes principalmente do Estado do Amapá (49%, n=1.656), seguido por Pará (5,2%, n=177) e Minas Gerais (4,08%, n=138). A ausência de dados quanto a procedência das amostras foi verificada em 41,2% (1.390) das solicitações. Do total de amostras recebidas no período do levantamento, 1.904 (56,38%) foram reagentes a *Leptospira* spp. (Tabela 2).

Quanto ao MAT, notou-se que as espécies bubalina e ovina apresentaram anticorpos contra uma maior (n=14) e menor (n=5) diversidade de sorogrupos, respectivamente (Figura 1), enquanto nenhum caprino foi reagente aos sorogrupos testados. Durante o período do estudo, os sorogrupos Autumnalis, Cynopteri e Icterohaemorrhagiae foram os únicos reagentes nas três espécies. O sorovar Pyrogene foi encontrado somente nos ovinos, enquanto o Canicola, somente nos bovinos. Por fim, cinco sorovares foram detectados somente nos búfalos, sendo eles Shermani, Javanica, Hebdomadis, Batavia e Ballum (Figura 1).

Tabela 2. Frequência de solicitações de 563 isolamentos, 3377 testes de aglutinação microscópica (MAT) e resultados positivos a *Leptospiras* spp. de acordo com o ano, espécie de ruminantes, procedência e tipo de amostra.

Variáveis	Solicitações		Positivos
	Isolamentos %	(n)MAT % (n)	Isolamentos ou MAT % (n)
Ano			
2018	3,9 (22)	-	-
2019	-	57,2 (1.931)	-
2020	38,9 (219)	-	9,4 (53)
2021	57,0 (321)	35,2 (1.188)	2,5 (14)
2022	0,2 (1)	1,9 (65)	-
Sem dados	-	5,7 (193)	-
Espécie			
Bovinos	50,3 (283)	32,2 (1.088)	10,5 (59)
Bubalinos	49,4 (278)	42,9 (1.449)	1,4 (8)
Ovinos	0,3 (2)	24,1 (814)	-
Caprinos	-	0,76 (26)	-
Estado			
Amapá	49,4 (278)	-	1,4 (8)
Pará	38,2 (215)	54,7 (1.849)	9,4 (53)
Minas Gerais	7,6 (43)	7,08 (138)	1,1 (6)
São Paulo	4,6 (26)	-	-
Sem localização	0,2 (1)	41,2 (1.390)	-
Amostras			
Rins	49,5 (279)	-	1,4 (8)
Urina	47,4 (267)	-	10,5 (59)
Leite	2,1 (12)	-	-
Sangue	0,7 (4)	-	-
Fígado	0,2 (1)	-	-
Total isolamentos	100 (563)	-	11,9 (67)
Estirpes patogênicas	-	-	1,6 (9)
Total MAT (Soro)	-	100 (3.377)	56,38 (1.904)



A maioria dos 1.904 testes positivos no MAT foi observada em 2019 (48,6%, n=1.643), representando treze sorogrupos, com destaque para Pomona (10,6%, n=360), Autumnalis (8,7%, n=293) e Sejroe (7,8%, n=263). Já 2021 foi o segundo ano em frequência de animais reagentes (7,4%, n=251), com destaque para o sorogrupo Pomona (3,7%, n=122). Enfim,

durante 2022, houve somente dez testes positivos (0,3%, n=10), todos para o sorovar Sejroe (Figura 2).

Finalmente, destaca-se que a maioria dos testes reagentes, bem como a maior diversidade de sorogrupos (n=14) foram observadas nos estados da região Norte, com destaque para o Amapá (32,5%, n=1.098), estando associado principalmente por bubalinos.

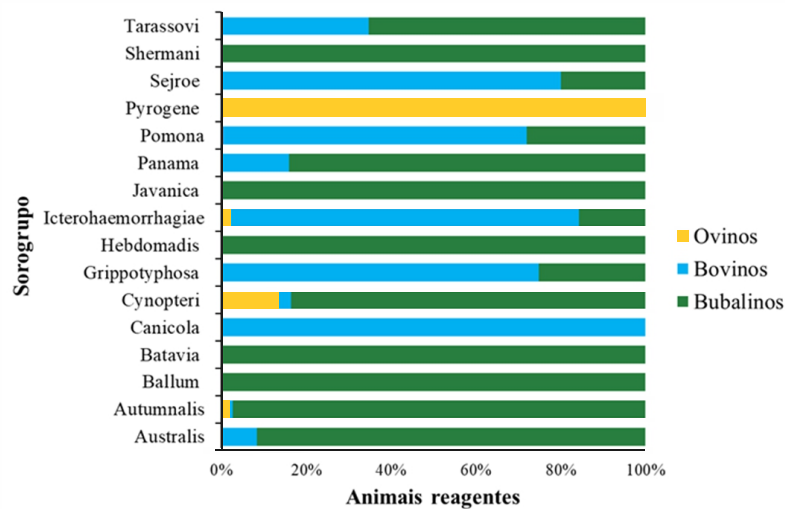


Figura 1. Sorogrupos detectados em 1.904 amostras de ovinos, bovinos e bubalinos reagentes a *Leptospira* spp. entre 2019 e 2022 no LZB/FMVZ/USP.

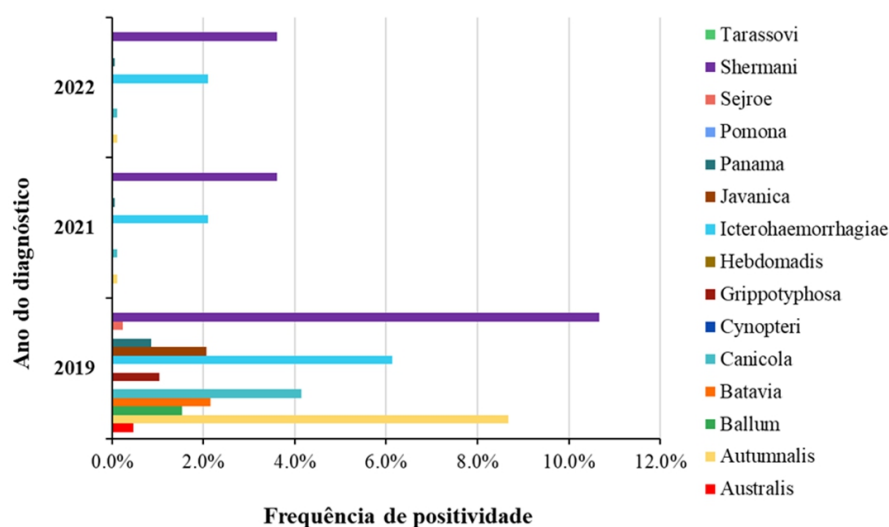


Figura 2. Distribuição dos sorogrupos de *Leptospira* spp. detectados em 3.377 amostras de soro de ruminantes, de acordo com o ano do diagnóstico.



Minas Gerais, representado somente por um rebanho, foi a região com menor positividade (5,15%, n=174) (Figura 3).

DISCUSSÃO

A análise dos dados coletados entre 2018 e 2022 revelou importantes características no diagnóstico de *Leptospira* spp. realizados pelo LZB/FM-VZ/USP, principalmente quanto à frequência de reagentes e à distribuição dos sorogrupos em búfalos no Amapá.

O Brasil possui 1.598.268 cabeças de bubalinos⁸, concentradas principalmente na região Norte, particularmente nos estados do Amapá e Pará (60% do rebanho nacional). Assim como outros ruminantes, esses animais também estão suscetíveis à infecção por *Leptospira* spp. e, de acordo com trabalhos realizados com esta espécie no Brasil, os principais sorogrupos detectados em bubalinos foram Sejroe⁹⁻¹⁴, Pomona^{12,14}

¹⁵, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae¹², semelhante ao encontrado no presente estudo.

Os bovinos se infectam mais frequentemente pelos sorogrupos Sejroe (Hardjo) (considerado como o mais adaptado à espécie bovina), Pomona, Grippotyphosa e Icterohaemorrhagiae (considerados acidentais nesta espécie), como observado neste estudo. O sorogrupo Canicola, no entanto, também apresentou alta frequência de detecção neste trabalho, este sorogrupo também é incidental e está relacionado à presença de cães nos rebanhos, haja visto que esses animais são hospedeiros adaptados ao Canicola. Como observado por Fávero et al.¹⁵, bovinos estão mais predispostos a infecção por este sorogrupo em propriedades onde os cães têm acesso a pasto.

Notou-se, ainda, a ausência de caprinos reagentes durante o período do estudo. Entretanto, este resultado possivelmente se deve à quantidade limitada de amostras analisadas, indicando uma necessidade de maior abrangência nas análises futuras.

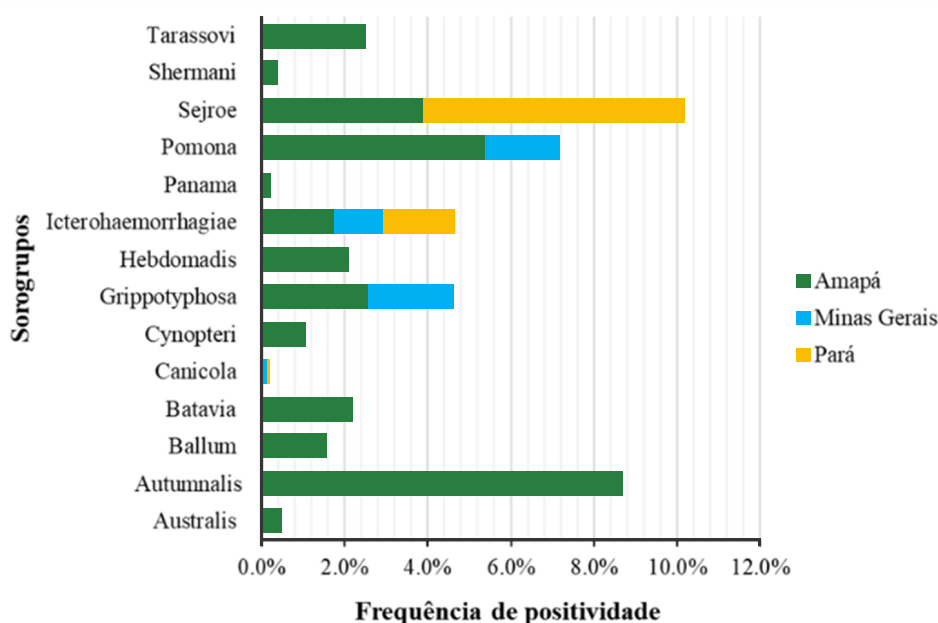


Figura 3. Distribuição dos sorogrupos detectados em 3.377 amostras de soro de ruminantes, entre 2019 e 2022, de acordo com o estado de procedência dos animais.



Quanto ao cultivo e isolamento, é importante destacar a predominância de amostras de rins e urina como amostras recebidas para o diagnóstico, o que reflete a escolha dos espécimes clínicos mais indicados para o isolamento da bactéria. Ainda, a taxa de isolamento de *Leptospira* spp., foi relativamente baixa (11,9%), a qual está relacionada à complexidade do processo. Problemas como a coleta e manutenção de amostras e a exigência de condições específicas de nutrientes e ambiente, e o crescimento lento da bactéria estão geralmente relacionados a baixa frequência de isolamento de *Leptospira* spp.

A análise dos isolados de *Leptospira* spp. revelou que uma fração significativa (13,4%) das cepas foi caracterizada como patogênica, em búfalos de Amapá com predominância desses isolados provenientes de rins. Esta característica ressalta a importância deste tipo de amostra clínicas para a detecção de leptospirosas.

Ainda, esses achados são fundamentais para a compreensão da epidemiologia da leptospirose em búfalos e para a implementação de estratégias efetivas de controle da doença, especialmente em áreas endêmicas como no Amapá. A utilização de técnicas moleculares para a caracterização de estirpes patogênicas proporciona uma ferramenta poderosa para a vigilância e controle da leptospirose, contribuindo para a saúde animal e pública.

Por fim, é importante destacar a ausência de dados nas fichas de requisição de exames referentes a procedência das amostras, sexo e idade dos animais. Isto ressalta a importância de melhorar a qualidade das informações coletadas nas fases pré-analítica e analítica visando o aprimoramento da compreensão epidemiológica da leptospirose e a orientação medidas de controle mais eficazes.

CONCLUSÕES

A vigilância de *Leptospira* spp. em ruminantes demanda atenção contínua e aprimoramento nos métodos de diagnóstico e controle, sobretudo em búfalos, visando minimizar os impactos na saúde pública e na economia. A melhora na coleta de dados e o incentivo para estudos retrospectivos de diagnóstico laboratorial são essenciais para o avanço na compreensão e manejo da leptospirose no Brasil.

REFERÊNCIAS

1. IBGE. Rebanhos e valor dos principais produtos de origem animal foram recordes em 2022. Agência de Notícias do IBGE, 2022.
2. SANTOS, S.R.M. et al. Importância da sanidade animal na bovinocultura desempenhada por agricultores familiares. *Revista Sertão Sustentável*, v.4, n.1, p.75-80, 2022.
3. SYKES J.E. et al. A global one health perspective on leptospirosis in humans and animals. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.260, n.13, p.1589-1596, 2022.
4. POLO, N. A one health approach to investigating *Leptospira* Serogroups and their spatial distributions among humans and animals in Rio Grande do Sul, Brazil, 2013-2015. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, n.4, n.1, p.1-20, 2019.



5. MUGHINI-GRAS, L. et al. Application of an integrated outbreak management plan for the control of leptospirosis in dairy cattle herds. *Epidemiology and Infection*, v.142, n.6, p.1172-1181, 2014.
6. MURRAY, G.L. The lipoprotein LipL32, an enigma of leptospiral biology. *Veterinary Microbiology*, v.162, n.2-4, p.305-314, 2013.
7. OIE. Leptospirosis. In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris: World Organization for Animal Health, 2021.
8. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022. Rebanho de Bubalinos (Búfalos).
9. DE OLIVEIRA, P.R.F. et al. Occurrence of serological reactions for serogroup Sejroe (GTG and Prajтино) in female buffalo in the state of Pernambuco, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.49, n.4, p.795-800, 2018.
10. ROCHA, K.S. et al. Detecção de anticorpo anti-*Brucella* sp. e anti-*Leptospira* spp. em búfalos (*Bubalus bubalis*) abatidos em matadouro na cidade de Belém, Pará. *Amazon Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, v.62, p.1-4, 2019.
11. KRUEGER, L. et al. Serological frequency of *Leptospira* spp. in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Paraná state, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.43, e07147, 2023.
12. GIRIO, R.J.S. et al. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul. Utilização da técnica de imuno-histoquímica para detecção do agente. *Ciência Rural*, v.34, n.1, p.165-169, 2004.
13. CARVALHO, O.S. et al. Occurrence of *Brucella abortus*, *Leptospira interrogans* and bovine herpesvirus type 1 in buffalo (*Bubalus bubalis*) herd under extensive breeding system. *African Journal of Microbiology Research*, v.9, n.9, p.598-603, 2015.
14. PIMENTA, C.L.R. et al. Seroprevalence and predominant serogroups of *Leptospira* sp. in serological tests of ruminants in northeastern Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, v.40, n.4, p.1512-1522, 2019.
15. FÁVERO, J.F. et al. Leptospirose Bovina - variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.68, n.2, p.29-35, 2001.