

LEPTOSPIROSE LETAL EM HAMSTERS INFECTADOS COM LEPTOSPIRAS ISOLADAS DE BOVINOS

SEIXAS NETO, Amilton Clair Pinto¹; FERRO, Ariana Gayer¹; CEZARI N
Clos²; COLONETTI, Karina³; SILVA, ÉVERTON FAÇANDE

¹Faculdade de Veterinária – PPGV/UFPel; ²Coordenadoria de Inspecção de Produtos
Animal/RS; ³Graduação em Biotecnologia – COTEC/UFRS. E-mail: silva@ufpel.edu.br

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose zoonose de distribuição global. Na atualidade, a leptospirose é considerada como uma das doenças zoonóticas negligenciadas (KO et al., 2009). Para a agropecuária, a enfermidade impacta economicamente os índices de abortos, na produção de leite (ELIS, 1999).

Então as cepas de *Leptospira* podem ser hábitadas e uma ampla variedade de animais, como hamsters (*Mesocricetus auratus*) é o modelo padrão de estudo da leptospirose, devido a sua suscetibilidade à infecção e a reprodução. As aplicações mais comuns dos hamsters como modelo animal no estudo da leptospirose incluem o teste de virulência de isolados clínicos, a recuperação da passagem sucessiva *in vitro*, teste de antígenos e reprodução a partir de amostras patológicas da doente. Muitos aspectos, a leptospirose aguda em hamsters reproduz a forma severa da leptospirose em humanos (HAAKE, 2006).

O isolamento de leptospirosas de humanos e animais no Brasil vem sendo descrito desde o início do século passado. Em Pelotas, nos últimos dez anos, o isolamento e a caracterização de leptospirosas oriundas principalmente de humanos, caninos, ovinos e roedores são comuns. Com estes isolamentos, podemos evidenciar uma ampla variedade de serogrupos que circulam em nossa região e que podem ser clinicamente relevantes até mesmo para a população humana (SILVA et al., 2008). Além disso, o isolamento de leptospirosas de ovinos e a realização de ensaios para a caracterização de virulência em modelo animal posterior utilizadas no diagnóstico e no desenvolvimento de vacinas para a leptospirose.

Em 2010, nosso grupo relatou o isolamento de leptospirosas a partir do cultivo do tecido renal de bovinos, abatedouro frigorífico de Pelotas (SEIXAS NETO et al., 2010), o qual representa um novo serogrupo de leptospirose bovina na UFPel. Dando sequência a este estudo, a infecção de hamsters com as três cepas isoladas de bovinos, visando reproduzir experimentalmente a leptospirose.

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Cepas

As cepas de *Leptospira* utilizadas neste trabalho foram *L. interrogans* (BOV3) e *L. borgpetersenii* (BOV14 e BOV15), as quais foram isoladas do tecido

rená de bovídeos em fide Pelotas, RS (SEXAS NETO et al., 2010). Para os experimentos, as cepas foram cultivadas em meio 3 Qui do C e E Ti g h a u McCullough-Johnson-Harris (EMJH) (Difco-EUA) adicionado de 10% de suplemento comercial (Difco-EUA).

Teste de virulência

Para este teste de virulência foi utilizado-se o protocolo de SILVA (2008) com modificações. Grupou-se dois hamsters (*Mesocricetus auratus*) machos, com 4 semanas de idade foram inoculados com 1 ml de cada uma das cepas a tra via intraperitoneal (IP). Após a infecção, os animais foram mantidos em microisoladores, sendo alojados em estantes ventiladas com temperatura controlada. Todos os animais foram monitorados diariamente, observando-se o aparecimento dos sinais clínicos. Durante o experimento, os animais moribundos foram eutanasiados, realizando-se a análise e cópia dos órgãos e tecidos. Procedeu-se também a coleta de cada hamster para a tentativa de reisolamento das cepas.

Aspectos éticos

Este trabalho faz parte de um projeto cadastrado no COCEPE/UFPel sob o número 500.00.019 e aprovado pela Comissão de Ética em Experimento Animal (CEEA) da UFPel, processo nº 23 11 00-84 0005 r7/ 20 11 EE 4657. Os animais utilizados neste trabalho foram tratados de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, regulados pela Resolução de Experimentação Animal (COBEA). Além disso, o laboratório de Biotologia (CDTec) possui Certificação de Qualidade e nº B081/98. S e g

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado do teste de virulência das duas cepas (BOV 3 e BOV 15) foram capazes de reproduzir experimentalmente o saccharosaccharose, como prova de desidratação de peso, e a biotina 100% dos animais infectados, a partir do 5º dia de infecção. Por outro lado, a cepa BOV 14 não foi capaz de reprodução de necrobacilose no grupo de animais (Tab. 1).

Tabela 1 – Achados clínicos observados nos hamsters inoculados com as cepas BOV 3, BOV 14 e BOV 15 de acordo com o dia de desfecho.

| Cepa | Início dos sintomas | Sinais clínicos | Mortalidade (%) (dia) |
|--------|---------------------|-----------------|-----------------------|
| BOV 3 | 5º dia | P; D; PP | 100% (7º, 8º) |
| BOV 14 | - | - | 0% |
| BOV 15 | 5º dia | P; I; D; PP | 100% (7º, 7º) |

*P= prostração; I = isolamento; D= desidratação

Em todos os animais doentes e que morreram (cepas BOV 3 e BOV 15), alterações na cor, descamação da pele e animal, como a hiperemia, a congestão de órgãos e hemorragia, foram evidentes.

a necropsia. Para os animais sobreviventes (cepa BOV 14), após a eutanasia, foram realizadas as alterações macroscópicas (Figura 1). O isolamento das três cepas foi obtido com sucesso a partir de qualquer um dos 6 animais.



Figura 1. Análise macroscópica representativa da necropsia realizada com hamsters inoculados no experimento. (A) Hamster inoculado com BOV 3; (B) Hamster inoculado com BOV 14; (C) Hamster inoculado com BOV 15. As setas brancas indicam presença de hemorragias (A) e (B).

A inoculação de leptospiros em hamsters permanece sendo uma ferramenta essencial em muitos aspectos para o estudo da leptospirose. Neste trabalho, o teste de virulência permitiu selecionar duas cepas que causam a leptospirose experimental em hamster, com manifestações clínicas semelhantes às que são descritas em humanos e animais isolados BOV 3 e BOV 15 poderão ser em ensaios para a determinação da dose letal 50% posterior (LD₅₀) em experimentos que para avaliar a imunoproteção humoral e bactericida por vacinas produzidas em nosso grupo (SILVA et al., 2008).

Com o passar dos anos, o estudo da leptospirose bovina ganhou um grande destaque, não apenas por ser uma zoonose, mas também porque o bovino foi apontado como um importante reservatório da leptospirose. Além disso, a leptospirose bovina é uma doença ocupacional, onde se pode observar como as de magre, fazendeiros e veterinários são considerados alto risco (LILEMBAUN et al., 2003). No Brasil, a leptospirose bovina apesar de ser subdiagnosticada, é considerada um grande problema de saúde pública. Este fato pode ser principalmente nos animais que apresentam uma manifestação crônica, assim como os animais que se portam doentes e adquirem os quais podem eliminar a bactéria em longo período no ambiente, disseminando a enfermidade para o bovino e o homem.

No Brasil, a vacina contra a leptospirose de apaslineção sintética. As preparações vacinais disponíveis são bacterianas específicas, ou seja, a prevenção é com os sorovares que constituem a vacina. Além disso, essas vacinas são produzidas por cepas das diversas partes do mundo, com fauna e ecossistemas diferentes das existentes em nosso país. O desenvolvimento de uma vacina nacional a partir do uso de cepas isoladas no Brasil é fundamental.

4 CONCLUSÕES

As cepas BOV 3 e BOV 15 são capazes de reproduzir a leptospirose experimental em hamster. As cepas BOV 3 e BOV 15 causam o óbito e manifestações clínicas semelhantes às descritas nas formas graves da leptospirose humana e animal.

A cepa BOV 14, no formato de ensaio utilizado, não é capaz de reproduzir a enfermidade em hamster.

As cepas BOV 3 e BOV 15 são cardiotóxicas em teste de vacinas.

5 REFERÊNCIAS

ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 10, n. 3, p. 463-478, 1994.

FAVERO, M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose Bovina – Variantes Sorológicas Predominantes em Cativeiro e em Rebanhos de 21 Estados do Brasil. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 68, n. 2, p. 29-35, 2001.

HAAKE, D.A. Hamster model of leptospirosis. **Current Protocols in Microbiology**, Chapter: Unit-12E.2. 2006.

KO, A.I, GOARANT, C., PICARDEAU, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p.736-749, 2009.

LILEMBAUN, W., SOUZA, G.N. Factors associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 75, p. 249-251, 2003.

SEIXAS NETO, A.C.P., FERRO, A.G., DINIZ, J.A., CEZARINI, C.C., DELLAGOSTIN, O.A., SILVA, E.F. Isolamento de leptospiroses em bovinos no sítio de Pelotas/RS. In: **XII ENPOS**, Pelotas, 2010.

SILVA, E.F., SANTOS, C.S., ATHANAZIO, D.A., SEIFFER, E., CERQUEIRA, G.M., FAGUNDES, M.Q., BROD, C.S., REIS, M.G., DELLAGOSTIN, O.A., KO, A.I. Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in a hamster model. **Vaccine**, v. 26, n. 31, p. 3892-3896, 2008.