

## **Leptospira interrogans SOROTIPO pomona EM CAPRINOS: DETERMINAÇÃO DO FIBRINOGENO, PROTEÍNA TOTAL, TRANSAMINASES E BILIRRUBINAS, DURANTE INFECÇÃO EXPERIMENTAL**

### *Leptospira interrogans SEROVAR pomona IN EXPERIMENTAL INFECTION OF GOATS: DETERMINATION OF FIBRINOGEN, TOTAL PROTEIN, TRANSAMINASES AND BILIRRUBINS*

José Eugênio GUIMARÃES<sup>1</sup>; Rosilda Menezes de SOUZA<sup>2</sup>; Romana Damasceno ASSUNÇÃO<sup>3</sup>;  
Maria Angela Ornelas de ALMEIDA<sup>1</sup>; Maria Consuelo Caribé AYRES<sup>4</sup>; Gilênio Borges FERNANDES<sup>5</sup>

#### RESUMO

Com o objetivo de estudar os aspectos laboratoriais, através da determinação do fibrinogênio plasmático, proteína total plasmática, aspartato e alanina aminotransferases séricas, e bilirrubinas séricas total, direta e indireta, utilizaram-se 20 caprinos mestiços, clinicamente sadios, de ambos os sexos, com dez meses de idade e, com peso vivo médio de oito quilogramas. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de dez: grupo "A", controle e grupo "B", experimental. Nos animais deste último grupo foram inoculados cinco mililitros, via intraperitoneal, de cultura de *Leptospira interrogans* sorotipo *pomona* (estirpe M7/87), previamente preparada. Inicialmente, as amostras sanguíneas foram colhidas a partir do 3º dia após inoculação, em intervalos de quatro dias, entre o 3º e 15º dia, passando para seis dias do 16º ao 44º dia, e finalmente para sete dias entre o 45º e 93º dia. A análise estatística revelou significância a nível de 5% para a bilirrubina total e direta, enquanto para as demais variáveis não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

**UNITERMOS:** *Leptospira interrogans*; Fibrinogênio; Proteína total; Transaminases; Bilirrubinas; Caprinos;

#### INTRODUÇÃO

Grande número de espécies de animais domésticos, bem como o homem são susceptíveis à infecção pela leptospira.

Para EAST<sup>1</sup> (1983) as espécies ovina e caprina parecem ser menos propensas do que a bovina e suína. Porém, a patogenicidade de muitos sorotipos de *Leptospira interrogans*, principalmente na espécie caprina, ainda não está bem esclarecida.

Em uma pesquisa realizada por UPADHYE et al.<sup>14</sup> (1980) constatou-se uma maior incidência de *L. pomona* entre os seis sorotipos utilizados para testar a presença de anticorpos anti-leptospira.

DAVIDSON e HIRSH<sup>1</sup> (1980); KING<sup>8</sup> (1983) e KINGSCOTE<sup>9</sup> (1985) propuseram a *Leptospira interrogans* sorotipo *pomona* como agente responsável de leptospirose nas espécies caprina e ovina, devido ao alto título sérico de anticorpos para este microrganismo no rebanho estudado.

De um modo geral, a leptospirose é caracterizada principal-

mente por nefrite intersticial, anemia hemolítica, hemoglobinúria, icterícia e aborto (DAVIDSON; HIRSH<sup>1</sup> (1980); EAST<sup>1</sup> (1983); FETCHER<sup>5</sup> (1983) e KINGSCOTE<sup>9</sup> (1985).

Entre as estruturas orgânicas pelas quais a leptospirose tem afinidade encontra-se o fígado, razão pela qual vários constituintes enzimáticos sintetizados neste órgão alteram-se devido às modificações ocasionadas por este microrganismo.

Assim, sendo o fígado local da síntese de proteínas/plasmáticas incluindo o fibrinogênio e a albumina, baixos níveis destas devem alertar o clínico quanto à possibilidade de doença/hepática.

Segundo FETCHER<sup>5</sup> (1983) a icterícia é um dos sinais de disfunção hepática mais reconhecível na maioria das espécies. Contudo, os ruminantes não se tornam icterícios com tanta frequência, mesmo quando há um comprometimento hepatocelular grave. Além disso, quando se observa icterícia em caprinos deve-se levar em consideração as doenças hemolíticas.

1 - Professor Assistente III - Escola de Medicina Veterinária da UFBA - Bahia  
2 - Professor Adjunto IV - Escola de Medicina Veterinária da UFBA - Bahia  
3 - Técnico Nível Superior - Escola de Medicina Veterinária da UFBA - Bahia

4 - Professor Auxiliar II - Escola de Medicina Veterinária da UFBA - Bahia  
5 - Estatístico - Empresa de Pesquisa Agropecuária da Bahia/EPABA

Esta autora ressalva ainda de que se o plasma se encontra icterico, deve-se determinar os níveis de bilirrubina direta e indireta, sendo que um aumento na bilirrubina total em caprinos é devido primariamente à elevação de quantidades de bilirrubina indireta, que é comumente vista em doenças hemolíticas.

Quanto às enzimas úteis na avaliação de problemas hepáticos, o aspartato aminotransferase (AST) é citado por FETCHER<sup>5</sup> (1983) e KANEKO<sup>7</sup> (1989).

BIRGEL<sup>4</sup> (1967) trabalhando com caprinos das raças Anglo-Nubiana, Toggenbourg e Angorá, com idade variando entre sete e doze meses, cita os seguintes valores para fibrinogênio: 509,7 mg%, 392 mg% e 360,8 mg% e de proteína total de 5,97 g%, 6,12 g% e 6,68 g%, respectivamente.

MILLSON et al.<sup>12</sup> (1960) determinaram proteína plasmática total em caprinos, encontrando um valor de 6,70 a 7,85 g/dl.

MILLAR et al.<sup>11</sup> (1977) estudaram experimentalmente os efeitos da *Leptospira interrogans* sorotipo pomona em ovinos. Nestes animais a bilirrubina variou de 15,3 a 69,5  $\mu$ mol/l e a concentração de bilirrubina direta em nenhum tempo excedeu aos valores normais. O aspartato aminotransferase (AST) apresentou um valor médio de  $38,4 \pm 1,1$  UI/l para o grupo controle e  $66,2 \pm 4,4$  UI/l para o grupo inoculado. Em relação à alanina aminotransferase (ALT) estes valores foram:  $3,2 \pm 0,8$  UI/l e  $9,8 \pm 1,4$  UI/l, respectivamente.

MATOS et al.<sup>10</sup> (1979) obtiveram uma média de  $6,76 \pm 0,3$  g/100ml para a proteína total, ao estudarem caprinos da raça Bhuj, entre um e dois anos de idade, criados em regime semi-extensivo.

ALI et al.<sup>1</sup> (1984) encontraram um valor médio de  $22,1 \pm 1,7$  URF em caprinos machos para o aspartato aminotransferase.

KANEKO<sup>7</sup> (1989) obteve um valor normal de fibrinogênio plasmático na espécie caprina de 1 a 4 g/l e proteína sérica total de  $6,9 \pm 4,8$  g/100ml.

JAIN<sup>6</sup> (1986) cita uma variação para proteína e fibrinogênio plasmático em caprinos de 6,0 a 7,5 g/dl, e 1 a 4 g/l, respectivamente.

Além do fígado, o rim é outro órgão de predileção da leptospira que, conseqüentemente, poderá ser intensamente afetado.

KING<sup>8</sup> (1983) relata em sua pesquisa de que os rins de caprinos estavam edemaciados e congestionados, enquanto

DAVIDSON e HIRSH<sup>3</sup> (1980) encontraram histopatologicamente necrose tubular e necrose hepatocelular periacinar.

Macroscopicamente, focos renais pálidos (1 a 5 mm de diâmetro) e áreas congestionadas foram encontradas por KINGSCOTE<sup>9</sup> (1985) sendo que histologicamente as lesões revelaram nódulos linfóides na medula, focos intensos de células mononucleares intersticiais, fibrose e na maioria das amostras nefrite intersticial focal ou difusa. Convém salientar, entretanto, que estas alterações foram observadas com anticorpos fluorescentes para a *Leptospira hardjo* e *grippotyphosa* mas não para a *L.pomona* neste mesmo trabalho.

O objetivo desta pesquisa foi verificar possíveis alterações nos níveis de fibrinogênio plasmático, transaminases; aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) bilirrubinas total, direta e indireta, e proteína total plasmática, em caprinos inoculados com *Leptospira interrogans* sorotipo pomona.

## MATERIAL E MÉTODO

### Animais

Foram utilizados 20 caprinos clinicamente sadios, de ambos os sexos, sem raça definida, com 10 meses de idade, peso vivo médio de oito quilogramas e, livres de aglutininas séricas para 19 sorogrupos de leptospiros patogênicas, bem como para 13 sorogrupos de leptospiros apatogênicas a serem pesquisadas.

### Tratamento

Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos de dez, designados por "A" o grupo controle e por "B" o experimental, sendo que neste último inoculou-se intraperitonealmente, cinco mililitros da cultura de *Leptospira interrogans* sorotipo pomona (estirpe M7/87), previamente preparada.

Foram realizadas 16 colheitas de sangue através de punção da veia jugular dos animais de ambos os grupos, conforme cronograma pré-estabelecido. Inicialmente, nas duas primeiras semanas, foram colhidas amostras de quatro em quatro dias, sendo que a primeira colheita foi feita no 3º dia após a inoculação. Entre o 16º e 44º dia colheram-se amostras com intervalos de seis dias e a partir do 45º dia até o final do experimento (93º dia) em períodos de sete dias, totalizando o estudo em 297 amostras.

## Métodos

Para a determinação do fibrinogênio e proteína plasmática, as amostras colhidas durante o experimento foram acondicionadas em frascos estéreis contendo EDTA 10% (etileno diamino tetra-acetato de sódio).

O fibrinogênio foi avaliado segundo KANEKO<sup>†</sup> (1989) e a concentração de proteína plasmática total foi obtida através de refratometria\*.

Para a avaliação das transaminases (AST e ALT), bilirrubinas total, direta e indireta utilizaram-se "kits" reagentes\*\*, sendo que as dosagens foram realizadas em amostras sanguíneas após dessoração.

## Delimitação experimental

Os dois tratamentos foram distribuídos em blocos inteiramente casualizados com resultados obtidos de 16 colheitas. A análise de variância foi feita de acordo com o teste "t" de Student, utilizando-se o cálculo de diferença mínima significativa (dms), a nível de 5%, segundo SNEDCOR e COCHRAN<sup>13</sup> (1971), conforme esquema abaixo:

FORTE DE VARIAÇÃO	GL
Tratamento	1
Animal x tratamento	17
Colheita	15
Tratamento x colheita	15
Resíduo	248
<b>TOTAL</b>	<b>296</b>

## RESULTADOS

O fibrinogênio plasmático no grupo inoculado, a partir do 11<sup>o</sup> dia até o final do experimento, com exceção do 51<sup>o</sup> dia, apresentou valores bem menores que os do grupo controle, sendo o valor mínimo de 2,4 g/l para o primeiro, enquanto para o último foi de 3,2 g/l. A média para o grupo inoculado e controle foram respectivamente: 3,3 g/l e 3,9 g/l.

A proteína total plasmática para o grupo inoculado foi menor no 11<sup>o</sup> dia, com um valor de 5,4 g/dl, enquanto no grupo controle este valor foi de 5,0 g/dl no 15<sup>o</sup> e 66<sup>o</sup> dias, com uma média de  $6,32 \pm 0,42$  g% e  $6,69 \pm 0,71$  g/dl, respectivamente.

A concentração de bilirrubina sérica total apresentou uma significância para tratamentos durante o experimento. Até o 27<sup>o</sup> dia os tratamentos apresentaram valores próximos, porém a partir deste período houve uma tendência do grupo inoculado para valores mais elevados, com um valor médio máximo de 1,3mg% (Graf. 1).

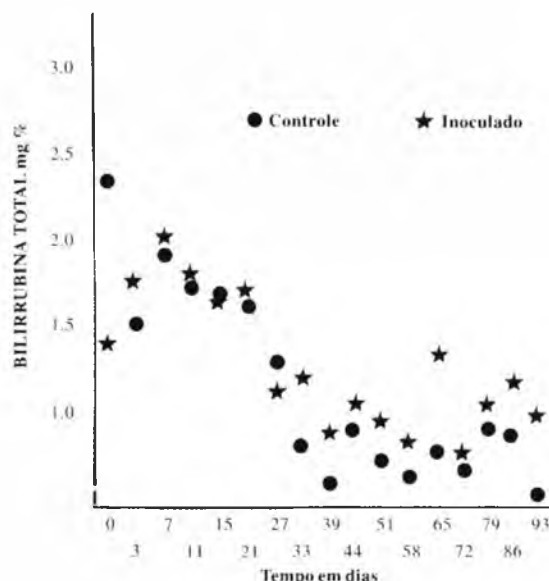


GRÁFICO 1

Bilirrubina total durante o período experimental.

A bilirrubina direta também mostrou uma significância entre tratamentos, sendo evidenciados valores maiores no término do experimento, porém, a partir do 51<sup>o</sup>, o grupo inoculado apresentou valores superiores ao grupo controle (Graf. 2).

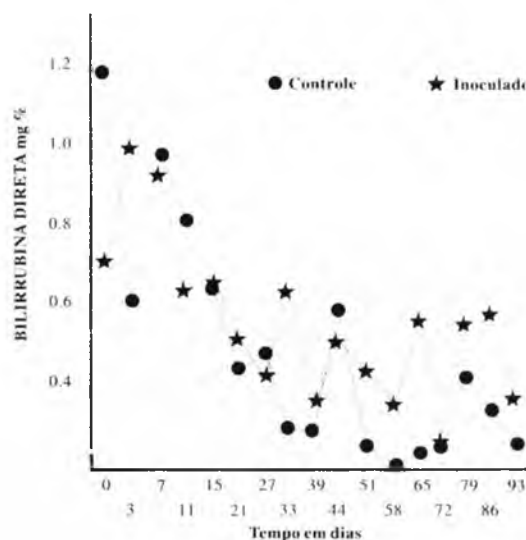


GRÁFICO 2

Bilirrubina direta durante o período experimental.

\* Refratômetro Cosmo

\*\* Doses reagentes e equipamentos

A bilirrubina indireta apesar de não apresentar significância entre tratamentos, mostrou uma similaridade com a bilirrubina direta (Graf. 3).

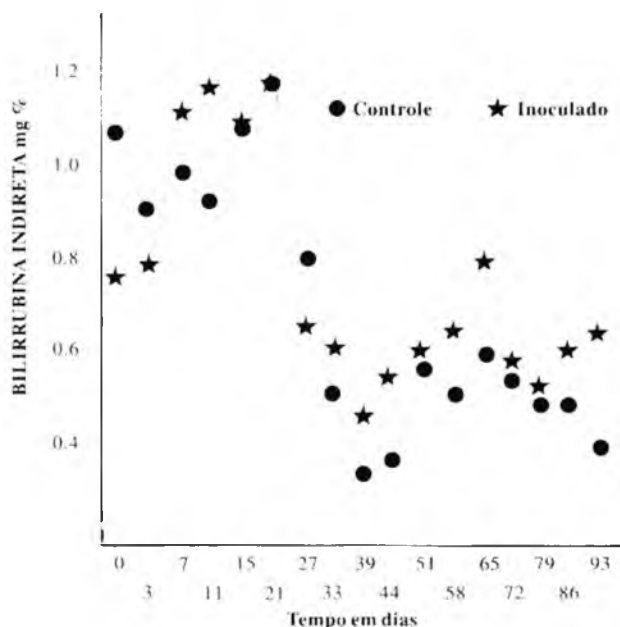


GRÁFICO 3

Bilirrubina indireta durante o período experimental.

Para o grupo inoculado a média da bilirrubina total foi de  $1,30 \pm 0,49$  mg%, da bilirrubina direta de  $0,55 \pm 0,27$  mg%, enquanto que da indireta foi de  $0,74 \pm 0,38$  mg%.

O aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), não apresentaram significância entre tratamentos durante o período experimental.

Constatou-se, porém, que o AST no grupo inoculado revelou valores ligeiramente maiores do que para o grupo controle:  $29,77 \pm 24,65$  UI/l e  $31,13 \pm 11,00$  UI/l, respectivamente. Para a ALT os valores foram praticamente os mesmos;  $10,59 \pm 6,34$  UI/l e  $10,16 \pm 4,82$  UI/l, respectivamente.

Do início ao término do experimento quatro animais do grupo inoculado morreram, porém não foram constatadas lesões macro e microscópicas à necropsia.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Apesar do fibrinogênio no grupo inoculado apresentar-se com valores abaixo do grupo controle, estes encontram-se dentro dos valores normais propostos por JAIN<sup>6</sup> (1986) e KANEKO<sup>7</sup> (1989) para esta espécie. Isto demonstra não ter havido alterações orgânicas consistentes, com extravasamento deste

constituente para fora de seu compartimento de produção, e conseqüente elevação de seus níveis plasmáticos.

Comparando-se estes valores de fibrinogênio aos valores citados por BIRGEL<sup>2</sup> (1967) nota-se que o referido autor encontrou níveis diferentes em relação à raça Anglo-Nubiana.

Embora MILLAR et al.<sup>11</sup> (1977) tenham observado diferenças significativas na proteína sérica em ovinos infectados por *Leptospira interrogans* sorotipo pomona, tais resultados não foram constatados em caprinos. Estes dados estão de acordo com os valores normais citados por MILLSON et al.<sup>12</sup> (1960); MATOS et al.<sup>10</sup> (1979); JAIN<sup>6</sup> (1986) e KANEKO<sup>7</sup> (1989).

Dos parâmetros bioquímicos examinados, as bilirrubinas séricas total e direta mostraram significância entre os dois grupos ( $P < 0,05$ ), apresentando um aumento nas médias obtidas para o grupo inoculado. Estes resultados estão em concordância com os obtidos por MILLAR et al.<sup>11</sup> (1977) em ovinos, no que diz respeito à bilirrubina total, porém para a bilirrubina direta os valores não excederam em nenhum momento aos níveis normais.

As concentrações séricas de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) não foram significativas, mesmo notando-se um ligeiro aumento no grupo inoculado. No entanto MILLAR et al.<sup>11</sup> (1977) observaram tais diferenças ao estudarem esta cepa de leptospirose em ovinos.

Em relação aos valores citados por ALL et al.<sup>1</sup> (1984), os níveis de aspartato aminotransferase para os grupos neste experimento estão diminuídos.

Estes são justificáveis quando se nota que não houve hemoglobinemia nem aumento das transaminases, supondo-se assim não ter havido danos significativos na integridade da estrutura celular do tecido hepático.

Outro aspecto a se considerar é quanto à icterícia citada por alguns autores (DAVIDSON; HIRSH<sup>4</sup>, 1980; EAST<sup>3</sup>, 1983; KINGSCOTE<sup>9</sup>, 1985) muito embora FETCHER<sup>5</sup> (1983) cite a sua baixa ocorrência na espécie caprina. Assim, nossos dados estão de acordo com esta última autora, uma vez que não se observou icterícia nos animais desse experimento.

Os exames histopatológicos dos animais necropsiados demonstraram que não houve lesões macro ou microscópicas compatíveis com o quadro agudo de leptospirose. Estes dados discordam daqueles obtidos por DAVIDSON e HIRSH<sup>4</sup> (1980) e KING<sup>8</sup> (1983). Contudo, muito embora KINGSCOTE<sup>9</sup> (1985) tenha observado lesões macro e microscópicas à nível renal, estas só foram atribuídas à

**Leptospira hardjo** e **grippotyphosa**. Assim sendo, no que diz respeito à **L. pomona** os seus dados estão de acordo com os encontrados nesse experimento, isto é, esse último sorotipo, provavelmente não ocasiona lesões renais e/ou hepática.

Supõe-se que a quantidade de cultura inoculada não tenha sido suficiente para provocar um aumento acima dos valores para os parâmetros analisados nem revelar as lesões acima encontradas por alguns autores.

## SUMMARY

The purpose of this experiment was to determine during experimental infection of goats the levels of total plasma protein and fibrinogen, serum aspartate aminotransferase, serum alanine aminotransferase, and direct and indirect total serum bilirrubins. Twenty healthy mongrel goats of both sexes, ten months old and with eight kilograms in body weight were utilized in this investigation. The animals were divided into two groups: group "A", control and the group "B" was inoculated intraperitoneally with five milliliters, of a culture of *Leptospira interrogans* serovar **pomona**, strain M7/87. The first blood sample was collected on the third day post infection. From the third to fifteenth day, samples were collected at four days intervals. Subsequently samples were collected at six days intervals between the sixteenth to the forty fourth day. Finally, between the forty fifth to the ninetieth day post infection, sample were collected at seven days intervals. Total and direct bilirrubin were significantly higher ( $P < 0.05$ ) in the infected group than in the control group. For other parameters, there was no statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) between the two groups.

**UNITERMS:** *Leptospira interrogans*; Fibrinogen; Total protein; Transaminases; Bilirrubins; Goats

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ALI, B.H.; HASSAN, T.; MUSA, N. The effect of feed restriction on certain haematological indices, enzymes and metabolites in Nubian goats. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.79A, n.3, p.325-8, 1984.
- 02-BIRGEL, E.H. **Contribuição à hematologia de caprinos (Capra hircus) criados no Estado de São Paulo**. São Paulo, 1967. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- 03-DAVIDSON, J.N.; HIRSH, D.C. Leptospirosis in lambs. **J. Amer. Vet. Med. Ass.**, v.176, n.2, p.124-5, 1980.
- 04-EAST, N.E. Pregnancy toxemia, abortions and periparturient diseases. **Vet. Clin. N. Amer. Large Anim. Pract.**, v.5, n.3, p.601-18, 1983.
- 05-FETCHER, A. Liver diseases of sheeps and goats. **Vet. Clin. N. Amer. Large Anim. Pract.**, v.5, n.3, p.525-9, 1983.
- 06-JAIN, C.N. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4.ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1986.
- 07-KANEKO, J.J. **Clinical biochemistry of domestic animal**. 4.ed. California, Academic Press, 1989.
- 08-KING, J.M. Sudden death in sheep and goat. **Vet. Clin. N. Amer. Large Anim. Pract.**, v.5, n.3, p.701-10, 1983.
- 09-KINGSCOTE, B. Leptospirosis in sheep in Western Canada. **Can. vet. J.**, v.26, n.5, p.164-8, 1985.
- 10-MATOS, M.S.; PEREIRA FILHO, M.; SILVA, J.A.H.; RAMOS, J.V.; SOUZA, R.M.; COSTA, J.A. Níveis séricos de cálcio, fósforo inorgânico e proteína total em caprinos, Bahia - Brasil. **Arq. Esc. Med. Vet. Univ. Fed. Bahia**, v.4, n.1, p.59-73, 1979.
- 11-MILLAR, K.R.; HODGES, R.T.; SHEPARD, A.D.; HAMMINGTON, M.W. Clinical and biochemical changes in sheeps inoculated with *Leptospira interrogans* serotype **pomona**. **N. Z. vet. J.**, v. 25, n.8, p.203-7, 1977.
- 12-MILLSON, G.C.; WEST, L.C.; DEW, S.M. Biochemical and haematological observations on the blood and cerebrospinal fluid of clinically healthy and scrapie-affected goats. **J. Comp. Path.**, v.70, n.2, p.194-8, 1960.
- 13-SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Métodos estatísticos**. México, D.F. Continental, 1971.
- 14-UPADHYE, A.S.; KRISHNAPPA, G.; NAVEED AHMED, S.; KESHAVAMURTHY, B.S. Leptospiral antibodies in sheep and goats in Karnataka state and epidemiological survey. **Indian Vet. J.**, v.57, n.12, p.968-70, 1980.

Recebido para publicação em 28/05/92  
Aprovado para publicação em 02/07/93