

NATÁLIA MATOS SOUZA

**PESQUISA DE AGLUTININAS ANTI *LEPTOSPIRA* SPP EM EQUINOS NA
REGIÃO DA ZONA DA MATA E ILHA DE FERNANDO DE NORONHA NO
ESTADO DE PERNAMBUCO**

RECIFE

2012.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

NATÁLIA MATOS SOUZA

**PESQUISA DE AGLUTININAS ANTI *LEPTOSPIRA* SPP EM EQUINOS NA
REGIÃO DA ZONA DA MATA E ILHA DE FERNANDO DE NORONHA NO
ESTADO DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de **MESTRE** em Ciência Veterinária.

Orientador:
Prof Dr Paulo Fernandes de Lima.

RECIFE

2012.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**PESQUISA DE AGLUTININAS ANTI *LEPTOSPIRA* SPP EM EQUINOS NA
REGIÃO DA ZONA DA MATA E ILHA DE FERNANDO DE NORONHA NO
ESTADO DE PERNAMBUCO**

Dissertação de Mestrado elaborada por

NATÁLIA MATOS SOUZA

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof Dr. PAULO FERNANDES DE LIMA
Orientador – Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. JEAN CARLOS RAMOS SILVA
Co-Orientador - Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof Dr. MARCOS ANTONIO LEMOS DE OLIVEIRA
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dr^a MABEL HANNA VANCE HARROP
Laboratório Nacional Agropecuário de Pernambuco - LANAGRO / PE

Prof. Dr. CLÁUDIO BARTOLOMEU COUTINHO
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

DEDICATÓRIA

Aos cavalos

*Seres encantadores que nos permite
dedicar parte da nossa vida, a vida deles.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela família que eu tenho e pela oportunidade de conhecer pessoas tão diferentes e especiais as quais fizeram com que a minha vida se tornasse especial a cada dia.

Agradeço aos meus pais, especialmente a minha mãe, que diante das dificuldades encontradas nunca se deixou abalar, sempre se mostrou forte, corajosa me ensinando a ter princípios, a ser digna e acima de tudo a respeitar as pessoas. Você mãe é meu alicerce, meu exemplo, minha vida!

Agradeço a minha irmã que sempre me incentivou a buscar novos conhecimentos, me apoiando em tudo que precisei.

Agradeço também aos meus eternos orientadores, professor Paulo, professor Jean, professora Fernanda Cajú, professor Antônio Travassos e Dr^a Mabel pela paciência de me ajudar nos meus questionamentos e pela amizade que construímos ao longo desses anos.

Agradeço a Márlon, meu marido, que sempre esteve junto comigo me apoiando, incentivando... Obrigada por tudo!

Agradeço ao Laboratório Nacional Agropecuário de Pernambuco (LANAGRO – PE) que possibilitou o processamento das amostras, além disso, me proporcionou conhecer pessoas muito especiais, que me ajudaram na minha inabilidade dos primeiros dias em um laboratório, me ensinando desde a pipetar minhas amostras até em me mostrar a dinâmica de um laboratório desse porte. A todos, Dr^a Vânia, Dr^a Marcília, Dr^a Andrea, Dr^a Elizete, Dr^a Mabel, Luis, Bruna, Cecília, Solange, meu Muito Obrigada!

Agradeço aos cavalos, que em seu silêncio sabe nos mostrar sua dor, nos faz descobrir e compreender o que os afligi. Enfim... é na tentativa de ajudá-los e de

retribuir todos os seus ensinamentos é que continuo numa busca incessante do conhecimento.

RESUMO

Objetivou-se com esse trabalho realizar uma pesquisa de aglutininas anti *Leptospira* spp em equinos na região da zona da mata e ilha de Fernando de Noronha no Estado de Pernambuco; identificar áreas de maior ocorrência da leptospirose; identificar os sorovares que ocorrem com maior frequência nas áreas estudadas; relacionar os sinais clínicos com a presença de aglutininas no soro sanguíneo dos equinos; relacionar a presença de roedores com a presença de animais soropositivos; observar a ocorrência de anticorpos anti leptospiras nas diferentes faixas etárias. Coletou-se sangue de 328 equinos de ambos os sexos, com idade a partir dos seis meses. Após centrifugação do sangue o soro foi analisado pelo teste de soro aglutinação microscópica, com ponto de corte na diluição de 1:100. Das 328 amostras examinadas constatou-se que 84 (25,6%) animais foram reagentes para aglutinação anti-*Leptospira* spp. Dentre os quais 12 (1,5%) potros, 20 (25,64%) jovens, 42 (31,11%) adultos e 10 (28,57%) senis. Dos 84 animais reagentes 69,04% (58) são fêmeas e 30,95% (26) são machos; 3,57% (3) são da raça Campolina, 2,3% (2) são mestiços, 35,71% (30) são da raça Quarto de Milha e 58,33% (49) são da Raça Mangalarga Marchador. Dentre as regiões estudadas Aldeia se destacou por apresentar o maior percentual de animais reagentes, com 32,31% (65), em seguida Pombos com 28,2% (22), Palmares com 23,81% (5), Bonanza 22,36% (17), Paudalho 22% (11) e por fim, Escada com 14,3% (4). Dentre os 27 sorovares pesquisados 10 foram mais prevalentes, em ordem de maior ocorrência, Icterohaemorrhagiae (58), Shermani (26), Panama (15), Copenhageni (10), Batavie (3), Hardjo (2), Australis (1), Pyrogenes (1), Cynopteri (1) e Canicola (1). Na ilha de

Fernando de Noronha das 16 amostras analisadas 10 foram consideradas reagentes e 6 foram consideradas não reagentes. Considerando os sorovares mais prevalentes 62,5% das amostras foram positivas para o sorovar Icterohaemorrhagiae, 37,5% foram positivas para o sorovar Copenhageni. Com a realização desse estudo foi possível concluir que a leptospirose na espécie equina ocorre de forma endêmica nas áreas estudadas. Acredita-se que a presença de roedores foi importante no aparecimento da afecção haja vista que foi relatada sua presença em todas as propriedades visitadas, todavia necessita-se de maiores estudos para verificar a participação destes animais na transmissão da leptospirose aos equinos. A partir desse trabalho pode-se traçar um perfil soro epidemiológico da leptospirose em equinos na Zona da Mata e na ilha de Fernando de Noronha no Estado de Pernambuco, que pode ser útil para realização de tratamento e da prevenção desta enfermidade, todavia, ainda é preciso estudos mais aprofundados para determinarmos o porque da ocorrência de determinados sorovares em algumas regiões estudadas.

Palavras-chave: *Leptospira* spp, equídeos, zoonose, sorovares, soroaglutinação microscópica.

ABSTRACT

This study was aimed to research *Leptospira* spp agglutinins in horses in the region of the forest area and Fernando de Noronha island in the state of Pernambuco; identifying highest areas of leptospirosis incidence; identifying the serovars that occur more frequently in the studied areas; relating clinical signs with the agglutinins presence in blood serum of equines; observing the reproductive disorders connection with the agglutinins presence in the equines blood serum; relating the presence of rodents and seropositive animals; observing the occurrence of anti leptospiras antibodies at different age groups. It was collected blood from 328 equines of both genders, aging beyond 6 months. After material centrifugation the serum was analyzed by LANAGRO/PE through the microscopic agglutination test. Of the 328 collected samples were found 84 reagents animals in the microscopic agglutination test for leptospirosis. Among which 12 (1.5%) foals, 20 (25.64%) young, 42 (31.11%) adults and 10 (28.57%) senile. Of the 84 reagents animals 69.04% (58) are female and 30.95% (26) are male; 3.75% (3) are Campolina, 2,3% (2) are mestizos, 37,71% (30) are of the breed Quarter horse and 58,33% (49) are Mangalarga Marchador. Among the studied counties Aldeia stood out to present the highest percentage of reagent animals with 32,31% (65) subsequently Pombos with 28,2% (22), Palmares with 23,81% (5), Bonanza with 22,36% (17), Paudalho with 22% (11) and finally Escada with 14,3%(4). The only studied county that did not present any reagent animal was Itambé. Among the 27 researched serovars by

the microscopic seroagglutination test for Leptospirosis diagnostic, 10 were found in reagent animals, which, in order of occurrence *Icterohaemorrhagiae* (58), *Shermani* (26), *Panama* (15), *Copenhageni* (10), *Bataviae* (3), *Hardjo* (2), *Australis* (1), *Pyrogenes* (1), *Cynopteri* (1) e *Canicola* (1). In this study 3 of 16 analyzed samples, 10 were considered reagent and 6 were considered non-reagent. 62,5% of samples were positives to the serovar *Icterohaemorrhagiae*, 37,7% were considered positive to serovar *Copenhageni*. Realizing this study it's possible to conclude that leptospirosis in equines occurs in endemic way at the studied area, considering that of 328 analyzed samples 84 (25,62%) were positives to the test. The presence of rodents was very important to the appearance of condition as proved how it was related in all visited property. From this study it was possiblited trace an epidemiologic profile of the leptospirosis in equines belonging to Zona da Mata and Fernando de Noronha island of the state of Pernambuco. Knowing the risk factors involving this condition and which may be useful to treat and prevent, however it's still needed a extensive study to determinate the reason of the occurrence of certain serovars in some studied regions.

Keywords: *Leptospira* spp, equidae, zoonosis, serovars, seroagglutination, microscopic.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

		Página
Figura 01	Infecção por Leptospirose	21

LISTA DE TABELAS

Publicação 01		Página
Tabela 01	Distribuição da prevalência de animais soropositivos para Leptospirose na Zona da Mata do Estado de Pernambuco, de acordo com o sexo, idade, raça e tipo de atividade.....	37
Publicação 02		Página
Tabela 01	Presença de aglutininas anti-leptospira em soro de equinos, pelo teste de soro aglutinação microscópica (SAM) segundo sorovar reagente e títulos, Fernando de Noronha – PE.....	49

SUMÁRIO

	Página
1- INTRODUÇÃO	13
2- REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1- <i>Etiologia e Fisiopatologia da Leptospirose</i>	15
2.2- <i>Histórico</i>	16
2.3- <i>Importância econômica e para a Saúde Pública</i>	18
2.4- <i>Epidemiologia</i>	19
2.5- <i>Sinais Clínicos</i>	22
2.6- <i>Diagnóstico</i>	23
2.7- <i>Tratamento</i>	24
2.8- <i>Profilaxia</i>	25
3- REFERÊNCIAS	26

4- CAPÍTULO 1

Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em equinos na região da Zona da Mata do Estado de Pernambuco..... 33

5- CAPÍTULO 2

Presença de aglutininas anti *Leptospira* spp em equinos no Arquipélago de Fernando de Noronha..... 44

Ficha catalográfica

S729p Souza, Natália Matos
Pesquisa de aglutininas anti *Leptospira* ssp em eqüinos na região da zona da mata e ilha de Fernando de Noronha no Estado de Pernambuco / Natália Matos Souza. – Recife, 2012.
51 f. :il.

Orientador: Paulo Fernandes de Lima.
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2012.
Referência.

1. *Leptospira* ssp 2.Eqüídeos 3.Zoonose 4. Sorovares
5. Soroglutinação 6. Microscopia I. Lima, Paulo Fernandes de,
orientador II. Título

CDD 636.089

1- INTRODUÇÃO:

O efetivo de equinos no Brasil é de 5.514 milhões de animais (IBGE, 2010). O cavalo ocupa uma posição de destaque nos países desenvolvidos e em muitos daqueles em desenvolvimento. Devido à sua versatilidade, os cavalos desempenham diversas atividades e atuam desde a lida com o gado, tração, até nos esportes como vaquejada, pólo, hipismo, nos quais os investimentos financeiros são gradativamente maiores chegando a milhões por prova.

O agronegócio que envolve esta espécie está se tornando cada vez mais presente não apenas no cenário externo, mas também nacionalmente; investimentos de milhões são empregados com o objetivo de oferecer um melhor rendimento funcional desses animais, bem como buscar perpetuar genes de bons atletas através dos programas de reprodução que se utilizam das biotecnologias como inseminação artificial (IA), transferência de embriões (TE), fertilização in vitro (FIV), entre outras (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Entretanto, algumas enfermidades infecciosas, como a leptospirose, brucelose, arterite viral equina, herpes vírus equino, metrite contagiosa equina, podem levar a distúrbios reprodutivos graves trazendo grandes prejuízos a criação de equinos. Essas afecções geralmente causam reabsorção embrionária, abortos em determinado período gestacional, natimortos e/ou nascimento de potros prematuros e fracos (THOMASSIAN, 2005).

Os abortamentos infecciosos contribuem com a maior porcentagem das gestações perdidas nos animais domésticos (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Para tanto, se faz necessário conhecer a epidemiologia dessas doenças, meios diagnósticos e terapias adequadas, visto que tais afecções promovem perdas econômicas imensas.

Dentre essas afecções, a leptospirose se destaca por ser uma zoonose que afeta mundialmente animais domésticos, silvestres e o homem, constituindo-se um importante problema de Saúde Pública. Ocasiona perdas econômicas, causadas principalmente pelo aborto, uveíte, nascimento de fetos fracos e prematuros. É causada por diferentes sorovares de *Leptospira interrogans* (BEER, 1999; JONES et al., 2000).

Os potros e fêmeas prenhes são particularmente susceptíveis à enfermidade. A forma aguda da doença, principalmente para os equídeos muito jovens, caracteriza-se por febre, depressão, anorexia, hematúria, hemoglobínúria, icterícia e morte (CÔRREA

et al., 1955; BARBOSA 1957; PINHEIRO et al., 1985; LILENBAUM, 1998; DONAHUE, 1995).

A maioria das infecções por leptospira é subclínica, e a principal fonte de disseminação é um animal infectado, que contamina o pasto, a água e os alimentos através da urina. Os animais infectados podem eliminar leptospiras por longo período, mesmo após a cura clínica. A porta de entrada do microrganismo ocorre através da mucosa ocular, digestiva, respiratória e genital, ou até mesmo pela pele íntegra quando em contato, por longo período, com água contaminada (FAINE et al., 1999).

O índice de animais reagentes depende do tratamento dispensado aos equinos, relacionando-se à higiene e às condições do meio ambiente, bem como à idade, densidade populacional, exposição a animais domésticos, roedores, animais silvestres e ao solo contaminado (CORDEIRO et al., 1974). Consequentemente, a incidência de cada sorovar de leptospira varia conforme as características regionais (CORRÊA et al., 1955; PLANK e DEAN, 2000).

Tendo em vista a importância econômica da leptospirose não só para a saúde pública, mas também para a saúde dos plantéis de equinos se faz necessário a realização de estudos incipientes que resultem em dados sobre a ocorrência de anticorpos para *Leptospira* spp. em equinos pertencentes a região da Zona da Mata e ilha de Fernando de Noronha do Estado de Pernambuco.

O objetivo deste trabalho foi determinar a presença de aglutininas anti *Leptospira* spp em equinos na região da Zona da Mata e ilha de Fernando de Noronha do Estado de Pernambuco; identificar áreas de maior ocorrência da leptospirose; identificar os sorovares que ocorrem com maior frequência nas áreas estudadas; relacionar os sinais clínicos com a presença de aglutininas no soro sanguíneo dos equinos; relacionar a presença de roedores com a presença de animais soropositivos e observar a ocorrência de anticorpos anti leptospiras nas diferentes faixas etárias.

2- REVISÃO DE LITERATURA:

2.1- Etiologia e Fisiopatologia da Leptospirose:

A *Leptospira* é uma espiroqueta aeróbica, Gram-negativa, com estrutura helicoidal apresentando gancho em uma ou ambas as extremidades, que ocorre como microrganismo de vida livre ou em hospedeiros vertebrados naturais. É visualizada por microscopia de campo escuro, contraste de fase ou em colorações especiais. A espécie *Leptospira interrogans* é o agente etiológico da leptospirose, zoonose de ocorrência mundial, que ocorre como doença primária de animais domésticos e silvestres. O homem é considerado hospedeiro acidental (KRIEG & HOLT, 1984).

Atualmente, existem 13 espécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii*, *L. wolffi*, com mais de 260 sorovares, tendo a possibilidade de outras espécies novas. As espécies saprófitas incluem *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii* e contém mais de 60 sorovares. Estes são classificados de acordo com os epítomos em um mosaico de lipossacarídeo (LPS) de antígenos, enquanto sua especificidade depende da composição e orientação do açúcar que o compõe (ADLER e MOCTEZUMA, 2010).

Além do lipopolissacarídeo, as proteínas da membrana externa (OMPs) são os principais antígenos que conferem imunidade para a *Leptospira* spp., tendo, provavelmente, papel na interação patógeno-hospedeiro. Elas iniciam inflamação e injúrias aos vasos por onde percorrem. Subsequentemente, o fator de transcrição nuclear (NF-kB) e a atividade mitogênica da proteína kinase são ativadas, induzindo as citocinas, cujas atividades se assemelham as das OMPs (TUNG et al., 2009).

A patogenia da bactéria pode ocorrer quando a matriz extracelular dos mamíferos (ECM) interage com a superfície protéica das células bacterianas. Essas interações são utilizadas pelas bactérias para aderirem aos tecidos, escapar da resposta imune e entrar no hospedeiro. Os componentes da ECM são diferentes e incluem lâmina 1, colágeno e fibronectina plasmática. A *Leptospira* spp. reconhece as moléculas de ECM e adere na célula do hospedeiro através das OPMs patogênicas, sendo as imunoglobulinas, endostatina e a LipL32 (TUNG et al., 2009).

A LipL32 é uma lipoproteína de superfície, que existe em grande quantidade entre as espécies patogênicas de *Leptospira* spp. É expressa em níveis elevados, tanto durante o cultivo em laboratório, quando durante infecção natural, na fase aguda ou na convalescença. Estudos realizados, mostraram que células tratadas com a LipL32 apresentaram resposta inflamatória verificada através de transcritos de MCP – 1 (proteína quimioatraente de monócitos), RANTES (expresso e secretado por célula T normal, regulada por ativação), iNOS (óxido nítrico sintetase), TNF- α (fator de necrose tumoral α), aumento na ligação nuclear de NF-kB (fator kB nuclear) e do fator de transcrição AP-1 (proteína ativadora – 1) (TEODORO, 2009).

Nesse contexto, a *Leptospira* spp. que venha apresentar a LipL32, ou seja, as patogênicas, depois de penetrar na mucosa ou pele lesionada, mobiliza-se e multiplica-se no meio viscoso como sangue, linfa ou líquido e atinge os órgãos referenciados, causando uma severa vasculite com danos endoteliais, resultando em injúrias dos capilares, edema tissular, hemorragia e coagulação intravascular disseminada (CID). Insuficiência renal ou distúrbios renais são os resultados dos danos associados à colonização e replicação dos organismos nas células do epitélio renal. Prejuízo agudo da função renal também pode resultar no decréscimo da infiltração glomerular e hipóxia causado pela diminuição da perfusão nos rins. Miocardite, pericardite e disritmia são manifestações bem documentadas que podem resultar da hipoperfusão. Manifestações hepáticas, do sistema nervoso central, ocular e genital também são peculiares. A replicação destes microorganismos nestes locais danifica variavelmente os tecidos e acarretam manifestações clínico-patológicas diversificadas, desde um processo inaparente até formas mais graves, sendo estas também dependentes da virulência do microorganismo e da susceptibilidade do hospedeiro (GUERREIRO et al., 2001; YANG et al., 2002; BARTHI et al., 2003; LANGOSTON e HEUTER, 2003; BRASIL, 2005, YANG et al., 2006).

2.2- Histórico:

O primeiro relato de ocorrência natural da leptospirose em equinos foi publicada na Rússia em 1947 (LUBASHENKO, NOVIKOVA, 1947a; LUBASHENKO, NOVIKOVA, 1947b). Na América do Norte a leptospirose em equinos tem sido

relatada desde 1952 nos casos de aborto, natimorto, morte neonatal, disfunção renal, disfunção hepática, e oftalmia periódica (ROBERTS, YORK, ROBINSON, 1952).

Em estudo efetuado pela primeira vez no Brasil em 1953-1955 verificou-se a ocorrência de soro-aglutininas antileptospiras em 118 equinos examinados na cidade de São Paulo e Jundiaí, sendo identificados 20 animais com aglutininas anti-leptospiras para sorovares *Icterohaemorrhagiae*, *Australis*, *Serjoe*, *Grippotyphosa* e *Canicola* (CORRÊA et al., 1955).

Pioneiramente no Brasil, em 1960, foram isoladas leptospiras provenientes de sangue do conteúdo gástrico e exudato de 20 fetos abortados de equinos e inoculados em cobaias. Apenas 11 cobaias foram submetidos a exames microscópicos. Pela microscopia, foram identificadas leptospiras no sangue do coração, rins, medula óssea e exudato pericárdico, em oito fetos, enquanto que três desses fetos foram positivos à soropositividade. A partir dos fetos e dos cobaias inoculados, as sementeiras em meio de Schuffner deram resultados negativos (FREITAS et al., 1960).

Santa Rosa et al. (1968), pesquisando aglutininas anti-Leptospiras em 419 soros de cavalos abatidos em matadouro nas cercanias da cidade de São Paulo e em 217 soros de cavalos de corrida, encontraram 37,9% de reação positiva para 419 soros examinados, com prevalência para o sorovar Pomona 13,6% e *Canicola* 12,2%. Com relação aos 217 soros de cavalos de corrida, verificou-se um percentual de 6,9% de soropositividade, encontrando-se 2,8% para Pomona, 2,3% para a *Icterohaemorrhagiae* e 1,4% para a *Hyos*.

Em inquéritos sorológicos realizados em seis fazendas no Estado do Rio de Janeiro, e ao se comparar com estudos anteriores, foi possível observar uma alta prevalência da doença reprodutiva nas éguas, principalmente o sorovar *Icterohaemorrhagiae* em 43,40%, *Ballum* em 7,24%, *Hardjo* em 3,40%, *Canicola* em 2,56%, *Andamana* com 1,70% (LILEMBAUM, 1998).

No estado de Minas Gerais, observou-se uma prevalência de 10,5% reagentes em 1174 amostras coletadas de equinos e muare abatidos em frigorífico, com predominância de reatividade para os sorovares Pomona 24,19%, *Javanica* 18,54%, *Canicola* 17,74% (PINHEIRO, 1985). No mesmo estado, foi verificada a presença de diversos sorovares de leptospiras em soros de cavalos de sela, cavalos de corrida Puro Sangue Inglês (criados em Jockey e Haras), cavalos de salto (criados em Haras) e

cavalos para produção de soro que apresentavam infecções subclínicas por leptospiras, com o sorovar Pomona (CORDEIRO et al., 1974).

2.3- Importância econômica e para a Saúde Pública:

A enfermidade está incluída na lista do Código Sanitário para Animais Terrestres da Organização Internacional de Epizootias por ter propagação internacional, ser emergente apresentar potencial zoonótico e difusão significativa nas populações humanas (OIE, 2008).

Devido à patogenia da leptospirose e ao comprometimento de alguns sorovares de *Leptospira* spp. é possível observar injúrias ao sistema reprodutor dos animais domésticos, especialmente equinos, elevando os prejuízos econômicos na pecuária brasileira como um todo. Muito embora não tenham sido estimadas as perdas monetárias nacionais proporcionadas pela enfermidade, Carvalho Neta et al. (2008) ratificam grandes danos comerciais, principalmente pelos abortos, retenção de placenta, metrites, infertilidade, natimortos e crias fracas e pequenas (AMATREDJO e CAMPPELL, 1975; ELLIS, 1984; GÍRIO et al, 1990) que podem vir a óbito nos primeiros meses de vida ou tornarem-se portadores renais da bactéria (GÍRIO e MATHIAS, 1989).

Em humanos a leptospirose é pouco diagnosticada devido à falta de suspeita clínica e aos entraves no diagnóstico laboratorial. Frequentemente, há falta de familiaridade dos médicos clínicos gerais com a ampla apresentação clínica da leptospirose haja vista que a infecção por leptospira é geralmente assintomática (ASHFORD et al., 2000).

Menos comumente, a leptospirose nos seres humanos é uma doença sintomática. Quando sintomática, na maioria das vezes, se manifesta como uma doença febril indiferenciada. Podendo ainda manifestar-se, em 5-10% dos casos, em doença grave caracterizada por icterícia, insuficiência renal, hemorragia, choque refratário e miocardite (BHARTI et al., 2003).

A leptospirose animal não é de notificação compulsória no Brasil, mas casos isolados suspeitos e surtos de leptospirose humana devem ser notificados pelo Ministério da Saúde, de forma rápida, para o desencadeamento das ações de vigilância epidemiológica (BRASIL, 1995).

Através destes registros de órgãos competentes, foi possível a constatação de que exercer algumas profissões torna o indivíduo humano bastante susceptível à infecção com a *Leptospira* spp. O grupo de risco é aquele que engloba os garis, catadores de lixo, agricultores, médicos veterinários, tratadores de animais, magarefes, laboratoristas, canavieiros, militares e bombeiros (FAINE, 1999), devido, principalmente, pela exposição aos animais doentes ou reservatórios naturais, contato com vísceras e ambiente de trabalho (LEVETT, 2001).

Em Buenos Aires, Caminoa et al. (1990) realizaram a soroaglutinação microscópica (SAM) e hemoculturas de 26 funcionários de um frigorífico e encontraram 26,92% de positividade. Foram encontrados anticorpos para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Pomona e Hardjo, cujos títulos foram de 100. Os autores relataram que a leptospirose humana está geralmente associada à animal. Os funcionários do frigorífico por manterem contato direto e diário com estes animais tornaram-se grupo de risco para esta enfermidade.

Orrego Uribe (2003) na Colômbia, pesquisaram pela SAM 45 amostras de trabalhadores de frigoríficos de bovinos e suínos e encontraram amostras positivas com anticorpos contra os sorovares para Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Grippotyphosa, Brastislava, Hardjobovis, Hardjopratiño. Os quatro primeiros sorovares são frequentemente encontrados entre animais domésticos e silvestres, porém os demais nunca haviam sido detectados em humanos na Colômbia. Estes autores afirmam que a Hardjopratiño possui alta prevalência entre bovinos na região estudada e estes resultados confirmam a exposição ocupacional dos funcionários no frigorífico.

Carvalho et al. (1985), analisando soros de funcionários de frigorífico, matadouros e açougues em Ribeirão Preto (SP), identificaram anticorpos para os vários sorovares com títulos entre 100 e 800. A maior positividade encontrada foi nos magarefes, sugerindo a possibilidade destes trabalhadores terem maior risco de contrair a infecção.

2.4- Epidemiologia:

Em algumas regiões onde há alta prevalência da doença, como Ilhas Andaman (SEHGAL et al., 1995; SEHGAL et al., 1999; SEHGAL et al., 2000c), área rural da Nicarágua (TREVEJO et al., 1995) e na Amazônia peruana (JOHNSON et al., 2004;

SEGURA et al., 2005) foi possível observar doença hemorrágica pulmonar e ausência de icterícia. No Brasil, em uma epidemia de leptospirose ocorrida em Salvador, verificou-se que nem sempre os sinais de icterícia e insuficiência renal estão associados à hemorragia pulmonar (KO AI, et al., 1999).

A avaliação ambiental é fundamental para determinar os riscos da leptospirose. Um melhor entendimento dos fatores epidemiológicos é necessário para melhor determinar diretrizes de saúde pública visando bloquear a cadeia de transmissão da leptospirose. Sabe-se que reservatórios animais da leptospirose podem ser de animais domésticos, ratos e camundongos peridomiciliados, animais de companhia, especialmente cães, e animais potencialmente selvagens, tais como morcegos, (BUNNELL et al., 2000; MATTHIAS et al., 2005) marsupiais e uma grande variedade de roedores (BUNNELL et al., 2000).

Fatores climáticos, condições de umidade e grandes oportunidades de exposição aos contaminantes (LEVETT, 2001), tornaram a leptospirose uma doença cosmopolita, comum a várias espécies (MINEIRO et al., 2007). Ecologicamente, a existência e a dispersão da doença são mais favorecidas nas regiões tropicais e subtropicais que nas temperadas (FAINE, 1999), devido a persistência e multiplicação das bactérias em ambientes alagados, podendo sobreviver por até 180 dias, dependendo das condições de temperatura (28° a 30°), pH (7,2 a 7,4), salinidade e poluição (BRASIL, 1995).

As fontes de infecção zoonótica podem variar em diferentes regiões. A leptospirose tem sido tradicionalmente considerada principalmente uma doença dos agricultores. Em locais onde o gado e os porcos são criados, estes animais muitas vezes são cronicamente colonizados por *Leptospira*, e são agentes potenciais de transmissão para os humanos (VINETZ et al., 1996; KO AI, et al., 1999).

Estudos realizados em equinos nas diferentes regiões do Brasil confirmam a variabilidade da ocorrência da leptospirose de acordo com a região, haja vista a diferença dos resultados nos estudos realizados, em Goiás a prevalência encontrada foi de 45,05%, no Pará 38% a 72% e na Bahia, 23% (LINHARES, 2005).

A leptospirose equina é uma enfermidade causada por diferentes sorovares de *Leptospira interrogans*, que normalmente se manifesta por uveíte recorrente, abortos ou outros distúrbios reprodutivos. Evolui geralmente como doença aguda ou crônica,

individual ou de grupo de animais, sendo que a maioria das infecções apresenta caráter inaparente (BEER, 1999; JONES et al., 2000).

De acordo com estudos retrospectivos em equinos os sorotipos frequentemente estudados são: Icterohaemorrhagiae, Pomona, Wolffii, Hardjo, Canicola, Australis, Autumnalis, Ballum, Batavie, Grippytyphosa, Javanica, Panama, Pyrogenes, Tarassovi, Castelloni, Hebdomadis, Sejröe, Bratislava e Butembo (LINHARES,2005).

A infecção geralmente resulta de transmissão direta através da urina contaminada ou líquido da placenta, ou indiretamente, a partir de um ambiente contaminado (BOLIN, 2000).

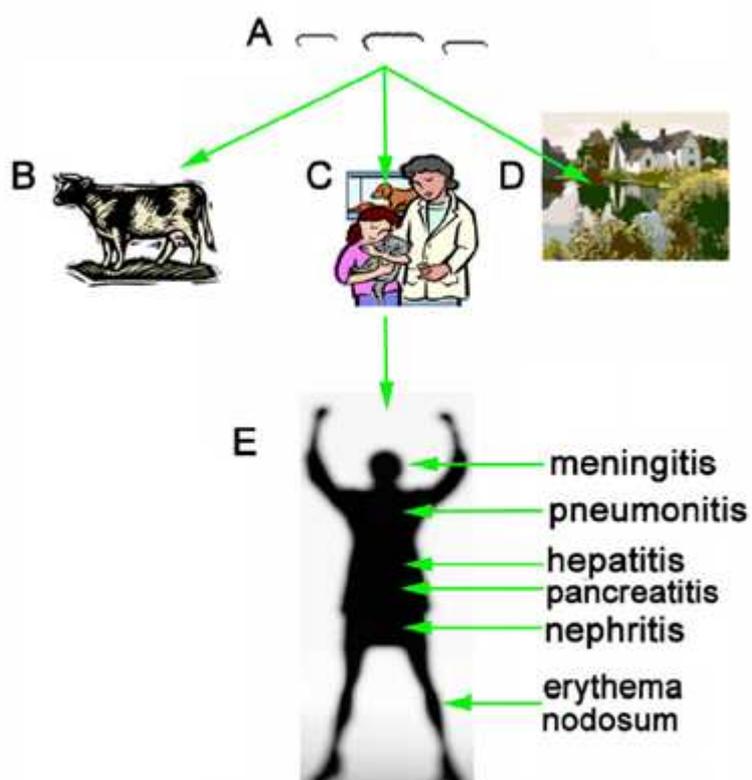


Figura 01: Cadeia Epidemiológica da Leptospirose

2.5- Sinais Clínicos:

Nos equinos, assim como nas demais espécies domésticas as manifestações clínicas da leptospirose variam de aguda a subaguda e infecção crônica. Doença grave com icterícia, hemoglobinúria, insuficiência renal meningite e abortos podem ocorrer em animais domésticos. As formas subclínicas são talvez mais comuns com os animais infectados cronicamente que podem ser portadores por vários anos (OIE, 2004). Infecções clínicas têm sido por vezes observada em cavalos (ELLIS et al., 1983a).

A *Leptospira* pode causar uveítes (FABER et al., 2000; BRANDES et al., 2007), aborto (ELLIS et al., 1983b; BERNARD et al., 1993a), natimorto (DONAHUE et al., 1991), potros prematuros (VEMULAPALLI et al., 2005), disfunção renal (DIVERS et al., 1992) e hepática (HATHAWAY et al., 1981). Outros sinais observados incluem hematuria (BERNARD et al., 1993b), febre, icterícia, anorexia e do desconforto respiratório (VAN DEN INGH et al., 1989).

A forma aguda começa de maneira súbita com febre de 40-40,5°C, inapetência e diminuição dos rendimentos. Em alguns dias aparece a icterícia, diminui a febre e agrava-se o estado geral. Outros sinais clínicos são: marcha cambaleante, paralisias e mialgias. Nas mucosas com tonalidade ictérica aparecem petéquias. Em determinadas ocasiões aparece diarreia de curta duração, que é convertida em constipação com manifestações de cólica. Existe oligúria. A urina tem coloração vermelha e apresenta alterações patológicas (BEER, 1999).

Às vezes, também, apresenta necrose da pele e das mucosas. Esta forma clínica, dura aproximadamente, 2 semanas e sua mortalidade é de, aproximadamente, 40-60%. A forma crônica é, geralmente, a consequência de uma afecção aguda ou subaguda. Os sinais clínicos mais importantes são o enfraquecimento e a diminuição dos rendimentos, assim como acessos periódicos de febre de 2-5 dias, separados por algumas semanas. As recidivas são acompanhadas de leve icterícia, hemorragias e aceleração da atividade cardíaca (BEER, 1999).

Além dessas formas patológicas as infecções do equino por leptospirosas também provocam uma peculiar manifestação orgânica nos olhos, que é conhecida como oftalmia periódica. Ela ocorre como sequência alérgica tardia de uma infecção leptospirósica (BEER, 1999).

A doença começa com uma inflamação serofibrinosa aguda primária da íris, do corpo ciliar e do cristalino, da retina, da papila do nervo óptico e da córnea. A uveíte aguda diminui, de maneira geral, em 14 dias, mas acarreta, com frequência, sinéquias, turvação do cristalino e humor vítreo, atrofia da íris, do corpo ciliar, coróides, entre outros. Os acessos agudos recidivam a intervalos indeterminados (6-8 semanas, mas também meses). Progressivamente, o globo ocular vai atrofiando-se. De maneira geral, são afetados ambos os olhos, e assim, os animais, frequentemente, ficam cegos. A cura é rara. A forma aguda é caracterizada por fotofobia, lacrimejamento, hiperemia e inflamação das conjuntivas, vasodilatação episcleral e turvação da córnea. A câmara anterior do olho encontra-se cheia de líquido fibrino-hemorrágico. A pupila apresenta miose. Dura cerca de 2-3 semanas. A forma subaguda dura 2 meses ou mais, fotofobia e lacrimejamento apresentam-se diminuídos. Na forma crônica prevalecem as sinéquias, atrofia da zona uveal e do bulbo, catarata e liquefação do humor cristalino (BEER, 1999).

2.6- Diagnóstico:

O diagnóstico da leptospirose pode ser realizado através da identificação do agente ou pela detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Considerando as dificuldades circunstanciais encontradas para o isolamento do agente etiológico de casos clínicos da leptospirose, restam apenas as reações sorológicas como principal prova específica de diagnóstico (LEVETT, 2001).

Na leptospirose, os anticorpos circulantes em que predomina inicialmente a classe IgM e depois IgG, podem ser pesquisados por várias provas sorológicas. Entre outras, pode-se citar a fixação de complemento, a hemaglutinação passiva e a hemólise de eritrócitos sensibilizados. Essas provas, que utilizam um antígeno gênero-específico obtido por extração alcoólica, principalmente de polissacarídeos do envoltório bacteriano, funciona melhor para detectar anticorpos na fase aguda da doença. Elas tendem a negatividade na convalescença. Tem-se, também, as provas de micro e de macroaglutinação, com antígenos inativados pelo formol, e a prova de imunofluorescência indireta. Da mesma forma, as duas últimas funcionam melhor na fase aguda da doença. As reações de microaglutinação seja a que emprega antígeno formolado, seja a que utiliza cultura de leptospirosas vivas, são capazes de revelar

anticorpos específicos presentes em qualquer situação, mesmo no caso de doença anterior (BRASIL,1995b).

Também, a prova de ELISA e outros testes imunoenzimáticos têm sido empregados para a pesquisa de anticorpos contra leptospira. No entanto, é recomendado que sejam efetuados maiores estudos, visando ao esclarecimento de divergências significativas, encontradas em relação à prova de microaglutinação (BRASIL,1995).

A reação de macroaglutinação é considerada gênero-específica e deve ser interpretada como prova de triagem. Os antígenos empregados nesta prova constam de suspensões concentradas de leptospiros inativadas pelo formol e podem ser adquiridos no comércio especializado. Geralmente, são estáveis por cerca de um ano, quando conservados sob refrigeração (4°C). Essa prova fornece resultados imediatos, é de fácil execução e dispensa o uso de microscópio de campo escuro, indispensável para as provas de microaglutinação. Devido a sua inespecificidade em nível de sorovar, essa reação poderá mostrar resultados positivos mais precocemente que a de microaglutinação. Por outro lado, no caso de anticorpos residuais, a tendência é mostrar-se negativa (BRASIL,1995).

O teste sorológico considerado padrão é o de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Utilizando esta técnica, anticorpos IgM e IgG reagem com antígeno vivo (suspensão de sorovares de *Leptospira* spp.) e formam aglutinações visíveis através do microscópio de campo escuro (GUIMARÃES, 1982/1983; GÍRIO et al., 1990). A sensibilidade do SAM nem sempre é satisfatória, uma vez que os anticorpos só aparecem em níveis detectáveis 15 dias após o início dos sintomas.

Entretanto, é considerado um teste que apresenta boa especificidade, embora ocorram reações-cruzadas entre sorovares, especialmente dentro de um mesmo sorogrupo, e haja a possibilidade de detecção de baixos títulos vacinais, mesmo que decrescentes (FAINE et al., 1999; OIE, 2008).

2.7- Tratamento:

Nos equinos o tratamento curativo pode ser realizado associando-se 10.000 UI/kg de penicilina benzatina e 5 mg/kg de estreptomicina pela via intramuscular, e, concomitantemente, 10 mg/kg/dia de terramicina dissolvida na água de bebida durante 10 a 15 dias. Outro tratamento eficiente consiste na aplicação em dose única de

25mg/kg de estreptomicina, podendo-se fracioná-la em intervalos de 48 horas (THOMASSIAN, 2005).

2.8- Profilaxia:

Profilaticamente deve-se evitar contaminação de água e alimentos a serem consumidos pelos cavalos, principalmente com a urina dos animais transmissores da doença. Combater exaustivamente, os ratos nos depósitos de rações. Sob o ponto de vista de saúde pública, por se tratar de zoonose, as pessoas que tiverem contato com animais enfermos devem ser orientadas pelo médico veterinário a procurarem o serviço de saúde pública mais próximo, para as providências médicas que se fizerem necessárias (THOMASSIAN, 2005).

De acordo com Menges (1959), nas propriedades, devem ser isolados os animais doentes e fornecer água e alimentos limpos em equipamentos móveis sem contaminação com urina. Animais, antes de serem introduzidos nos plantéis, devem ser mantidos sob quarentena. Também, sempre que possível, deve ser evitada a aglomeração de indivíduos, o desmatamento e ocupação de áreas habitadas por animais silvestres. A educação em saúde e a realização de testes sorológicos regulares também são importantes, assim como a higiene dos locais em que os grupos de risco atuam (HOMEM et al., 2001; RIET-CORREA et al., 2001; LEVETT, 2001).

Além dessas medidas profiláticas, a vacinação é uma das medidas mais importantes relacionadas ao controle da leptospirose nos rebanhos, pois pode proporcionar imunidade humoral aos animais de forma que estejam protegidos contra a manifestação dos sinais clínicos da enfermidade, impedindo a transmissão entre eles e os seres humanos. As vacinas disponíveis atualmente no mercado brasileiro, em sua maioria, se caracterizam por serem de culturas de *Leptospira* spp. inativadas ou acrescidas de adjuvantes, sendo compostas pelos sorovares com maior prevalência nos estudos efetuados na região (ARDUÍNO et al., 2009).

Segundo o fabricante de uma vacina para leptospirose, a vacinação é pouco difundida, porém muito recomendada, pela alta incidência “oculta” da doença. Segundo o protocolo vacinal desse mesmo fabricante deve-se aplicar 2 mL por via intramuscular, em animais a partir de 4 meses de idade. Em primovacinação, reforço 30 dias após a primeira dose e revacinar semestralmente (VENCOFARMA, 2010).

As *Leptospiras* evoluíram e criaram maneiras de escapar da resposta imune de defesa. As *Leptospiras* patogênicas são capazes de translocar através da monocamada celular, a uma taxa significativamente maior do que as *Leptospiras* não patogênicas (BAROCCHI, et al., 2002). A translocação rápida de *Leptospiras* patogênicas entre células de mamíferos permite que as bactérias rapidamente atinjam a corrente sanguínea e se disseminem em vários órgãos (BAROCCHI, et al., 2002). *Leptospiras* virulentas podem rapidamente entrar em fibroblastos de rim e induzir uma morte celular programada (MERIEN et al., 1997).

Assim, é um desafio para os imunologistas desenvolver uma vacina efetiva e segura para leptospirose (GORDON, 2002). Atualmente, estudos a nível molecular e celular sobre vacinas para leptospirose têm sido focados na motilidade bacteriana (LI, et al., 2000; CHARON e GOLDSTEIN, 2002), lipopolissacarídeo (LPS) (ERRIDGE, et al., 2004; BULACH, et al., 2000), lipoproteínas (SEIXAS, et al., 2007; KOIZUMI e WATANABE, 2003), as proteínas de membrana externa (OMPs) (HAAKE, et al., 2000), e potenciais fatores de virulência (CHARON e GOLDSTEIN, 2002).

No entanto, ainda é a falta de conhecimento sobre os tipos de vacinas contra a leptospirose e mecanismos de ação, que é o grande entrave para os cientistas em desenvolver uma vacina adequada que promova segurança e eficiência no combate a esta enfermidade (ZHIJUN et al., 2007).

3- REFERÊNCIAS

- 1-ADLER , B.; MOCTEZUMA, A. P. *Lepptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p.287-296, 2010.
- 2-AMATREDJO, A.; CAMPBELL, R. S. F. Bovine Leptospirosis. **Veterinary Bulletin**, v.43, p.875-891, 1975
- 3-ASHFORD DA, KAISER RM, SPIEGEL RA, PERKINS BA, WEYANT RS, BRAGG SL, et al. Asymptomatic infection and risk factors for leptospirosis in Nicaragua. **Am J Trop Med Hyg** 2000; 63:249–54. [PubMed: 11421372]
- 4-BARBOSA, M. Aglutininas e lisinas antileptospira em soros de bovinos, eqüinos e suínos Minas Gerais. **Arquivo Escola de Veterinária UFMG**, v. 14, n. 1, p.1 – 26, 1957.
- 5-BAROCCHI MA, KO AI, REIS MG, MCDONALD KL, RILEY LW: Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintracellular pathogen. **Infect Immun** 2002, 70:6926-6932.

6-BARTHI, A. R.; NALLY, J. E.; RICARDI, J. N.; MATTHIAS, M. A.; DIAZ, M. M.; LOVETT, M. A.; LEVETT, P. N.; GILMAN, R. H.; WILLIG, M. R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J. M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**. V.3 p.757-771, 2003.

7-BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1999. 322p.

8-BERNARD WV, BOLIN C, RIDDLE T, DURANDO M, SMITH BJ, TRAMONTIN RR: Leptospiral abortion and leptospiruria in horses from the same farm. *J Am Vet Med Assoc* 1993a, **202**:1285-6.

9-BERNARD WV, WILLIAMS D, TUTTLE PA, PIERCE S: Hematuria and leptospiruria in a foal. *J Am Vet Med Assoc* 1993b, 203:276-8.

10-BHARTI AR, NALLY JE, RICARDI JN, MATTHIAS MA, DIAZ MM, LOVETT MA, ET AL. Leptospirosis:A zoonotic disease of global importance. **Lancet Infect Dis** 2003; 3:757–71. [PubMed: 14652202].

11-BOLIN C: Leptospirosis. In *Emerging Diseases of Animals* Edited by: Brown C, Bolin C. ASM Press, American Society for Microbiology, Washington DC; 2000:185-200.

12-BRANDES K, WOLLANKE B, NIEDERMAIER G, BREM S, GERHARDS H: Recurrent uveitis in horses: vitreal examinations with ultrastructural detection of leptospire. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2007, 54:270-5.

13-BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias: guia de bolso/** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 5ª Ed., Brasília : Ministério da Saúde,2005 320p.

14-BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais. **Programa Nacional de Leptospirose Manual de Leptospirose**. 2ª Ed. Ver. – Brasília : Fundação Nacional de Saúde, 1995 98p.

15-BULACH DM, KALAMBAHETI T, DE LA PENA-MOCTEZUMA A, ADLER B: Lipopolysaccharide biosynthesis in *Leptospira*. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2000, 2:375-380.

16-BUNNELL JE, HICE CL, WATTS DM, MONTRUEIL V, TESH RB, VINETZ JM. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. **Am J Trop Med Hyg** 2000;63:255–8. [PubMed: 11421373].

17-CARVALHO NETA, A.; LAFETÁ, B. B.; MARCELINO, A. P. Leptospirose bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br>. Acesso em 10 de maio de 2008.

18-CHARON NW, GOLDSTEIN SF: Genetics of motility and chemotaxis of a fascinating group of bacteria: the spirochetes. *Annu Rev Genet* 2002, **36**:47-73.

19-CORDEIRO, F.R.; RAMOS, A.A.; BATISTA JUNIOR, J. A. Aglutininas anti-leptospiras em soros de eqüinos de Minas Gerais. **Pesquisas Agropecuária Brasileira. Série Veterinária**, v.9, p.45- 48, 1974.

20-CORRÊA, M.O.A.; AMATO NETO, V.; VERONESI, R.; FABBRI, O.S. Leptospiroses em eqüinos: inquérito sorológico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 15, n. único, p. 186-193, 1955.

21-DIVERS TJ, BYARS TD, SHIN SJ: Renal dysfunction associated with infection of *Leptospira interrogans* in a horse. *J Am Vet Med Assoc* 1992, 201:1391-2.

22-DONAHUE, M. Equine leptospirosis. **Equine Disease quarterly**, Kentucky, v.3, n. 4, p. 4-5, 1995.

23-DONAHUE JM, SMITH BJ, REDMON KJ, DONAHUE JK: Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. *J Vet Diagn Invest* 1991, 3:148-51.

24-ELLIS WA, O'BRIEN JJ, CASSELLS JA, MONTGOMERY J: Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: serological and microbiological findings. *Equine Vet J* 1983a, **15**:317-20.

25-ELLIS WA, O'BRIEN JJ, CASSELLS JA, MONTGOMERY J: Leptospiral infection in aborted equine foetuses. *Equine Vet J* 1983b, **15**:321-4.

26-ELLIS, W. A. Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. **Preventive Veterinary Medicine**, n.2, p.411-421, 1984.

27-ERRIDGE C, PRIDMORE A, ELEY A, STEWART J, POXTON IR: Lipopolysaccharides of *Bacteroides fragilis*, *Chlamydia trachomatis* and *Pseudomonas aeruginosa* signal via toll-like receptor 2. *J Med Microbiol* 2004, 53:735-740.

28-FABER NA, CRAWFORD M, LEFEBVRE RB, BUYUKMIHCI NC, MADIGAN JE, WILLITS NH: Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. *J Clin Microbiol* 2000, 38:2731-3.

29-FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira* and leptospirosis. 2. ed. Melbourne, Austrália: **Medicine Science**, 1999. 272p.

30-FREITAS,D.C.; GOMES, C.E.S.; LIMA, F.P.; LACERDA, J.P.G. Notas sobre leptospirose eqüina. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 27, n. 14, p. 93-96, 1960.

31-GERREIRO, H.; CRODA, J.; FLANNERY, B.; MAZEL, M.; MATSUNAGA, J.; GALVAO, R.M.; LEVETT, P.N.; KO, A.I.; HAAKE, D.A. Leptospiral proetins reconized during the humoral immune response to leptospirosis in humans. **Infection and Immunity**, v.69, p.4958-4968, 2001.

32-GÍRIO, R. J. S.; SILVA, R.. A. P.; FRANCESCHINI, P.H.; SCHALCH, U.M.; SCHALCH, F. J. Estudo da possível influência da leptospirose sobre determinadas características reprodutivas em fêmeas bovinas leiteiras. **Ciência Veterinária**, v.4, n.1, 1990.

33-GÍRIO, R. J. S.; MATHIAS, L. A. Ocorrência da leptospirose em rebanhos bovinos produtores de leite tipo B na região Norte do estado de São Paulo. **Ciência Veterinária**, v.3, n.1, p.3-5. 1989.

34-GORDON PJ: Control of leptospirosis by vaccination. **Vet Rec** 2002, 150:420.

35-HAAKE DA, CHAO G, ZUERNER RL, BARNETT JK, BARNETT D, MAZEL M, MATSUNAGA J, LEVETT PN, BOLIN CA: The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection. **Infect Immun** 2000, 68:2276-2285.

36- B. HAFEZ, E.S.E. HAFEZ. **Reprodução Animal**. Barueri, SP, Manole, p.173, 2004.

37-HATHAWAY SC, LITTLE TW, FINCH SM, STEVENS AE: Leptospiral infection in horses in England: a serological study. **Vet Rec** 1981, 108:396-398.

38-HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAES, Z. M.; VASCONCELOS, S. A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S.; Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.2, p.173-180, 2001.

39- IBGE, **Produção da Pecuária Municipal**, v.38, 2010.

40-JOHNSON MA, SMITH H, JOSEPH P, GILMAN RH, BAUTISTA CT, CAMPOS KJ, et al. Environmental exposure and leptospirosis, Peru. **Emerg Infect Dis** 2004;10:1016–22. [PubMed: 15207052]

41-JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6. ed. São Paulo: Editora Manole, 2000. 141p.

- 42-KO AI, GALVAO RM, RIBEIRO DC, JOHNSON WD JR, RILEY LW. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. **Salvador Leptospirosis Study Group**. *Lancet* 1999;354:820–5. [PubMed: 10485724].
- 43-KOIZUMI N, WATANABE H: Molecular cloning and characterization of a novel leptospiral lipoprotein with OmpA domain. *FEMS Microbiol Lett* 2003, 226:215-219.
- 44-KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. v. 1. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. 964p.
- 45-LANGSTON C. E.; HEUTER K. J. Leptospirosis, a reemerging zoonotic disease. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, n.33, p.791-807, 2003.
- 46-LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.
- 47-LI C, MOTALEB A, SAL M, GOLDSTEIN SF, CHARON NW: Spirochete periplasmic flagella and motility. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2000, 2:345-354.
- 48-LILENBAUM, W. Leptospirosis on animal reproduction. **Braz. J. Vet. Res. Anim Sci.**, v. 35, n. 2, p. 61-63, 1998.
- 49-LINHARES, G. F. C. et al. Sorovares de *Leptospira Interrogans* e Respectivas Prevalências em Cavalos da Microrregião de Goiânia, Go. **Ciência Animal Brasileira** v. 6, n. 4, p. 255-259, out./dez. 2005.
- 50-LUBASHENKO SV, NOVIKOVA LS. Symptoms, diagnosis, prophylaxis and therapy of equine leptospirosis (title trans.). **Veterinariya** 1947a; 24: 7.
- 51-LUBASHENKO SV, NOVIKOVA LS. Leptospirosis in horses (title trans.). **Veterinariya** 1947b; 24: 1 1.
- 52-MATTHIAS MA, DIAZ MM, CAMPOS KJ, CALDERON M, WILLIG MR, PACHECO V, et al. Diversity of bat-associated *Leptospira* in the Peruvian Amazon inferred by Bayesian phylogenetic analysis of 16S ribosomal DNA sequences. **Am J Trop Med Hyg.** 2005.
- 53-MERIEN F, BARANTON G, PEROLAT P: Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. *Infect Immun* 1997, 65:729-738.
- 54-OIE: **Leptospirosis**. In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Volume 1*. 5th edition. OIE Biological Standards Commission and adopted by the International Committee of the OIE. Office International des epizooties. Paris, France; 2004:316-27.

55-OIE. Organization International of Epizooties. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.3.1. Bovine Brucellosis. 2008. Disponível em: http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_INDEX.HTM. Acesso: 10 de maio de 2010.

56-PINHEIRO, H.H.; SILVEIRA, W.; OLIVEIRA, V.C. Pesquisas de aglutininas anti-leptospiras em soros eqüinos abatidos no frigorífico Xavante – Araguari, MG. **A Hora Veterinária**, v. 5, n. 27, p. 42-44, 1985.

57-PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. **Microbes and Infection**, v.2, p.1265-1276, 2000.

58-RIET-CORREA, F.; LEMOS, R. A. A. **Leptospirose**. In: RIET-CORREA, F. et al. Doenças de ruminantes e eqüinos. 2.ed., São Paulo: Varela, v.1, p.275-284, 2001.

59-ROBERTS SJ, YORK CJ, ROBINSON JW. An outbreak of leptospirosis in horses on a small farm. **J Am Vet Med Assoc** 1952; 121:237-242.

60-SANTA ROSA, C.A.; CASTRO, A.F.P.; CAMPEDELLI FILHO, O.; MELO, D. Leptospirose em eqüinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 61-65, 1968.

61-SEGURA E, GANOZA C, CAMPOS K, RICARDI JN, TORRES S, SILVA H, et al. Clinical Spectrum of Pulmonary Involvement in Leptospirosis in an Endemic Region, with Quantification of Leptospiral Burden. **Clin Infect Dis** 2005;40:343–51. [PubMed: 15668855]

62-SEHGAL SC, MURHEKAR MV, SUGUNAN AP. Outbreak of leptospirosis with pulmonary involvement in north Andaman. **Indian J Med Res** 1995;102:9–12. [PubMed: 7558211]

63-SEHGAL SC, VIJAYACHARI P, MURHEKAR MV, SUGUNAN AP, SHARMA S, SINGH SS. Leptospiral infection among primitive tribes of Andaman and Nicobar Islands. **Epidemiol Infect** 1999;122:423–8. [PubMed: 10459645]

64-SEHGAL SC, VIJAYACHARI P, SMYTHE LD, NORRIS M, SYMONDS M, DOHNT M, ET AL. Lai-like leptospira from the Andaman Islands. **Indian J Med Res** 2000;112:135–9. [PubMed: 11244583].

65-SEIXAS FK, FERNANDES CH, HARTWIG DD, CONCEICAO FR, ALEIXO JA, DELLAGOSTIN OA: Evaluation of different ways of presenting LipL32 to the immune system with the aim of developing a recombinant vaccine against leptospirosis. **Can J Microbiol** 2007, 53:472-479.

66-TEODORO, P.H. Caracterização biológica das proteínas LIPL32 e HlyX de *Leptospira interrogans* sorovar *Copenhageni*. Tese (Doutorado Interunidades em Biotecnologia). Universidade de São Paulo, Butantan. São Paulo, 2009.

67-THOMASSIAN, A. **Enfermidades dos cavalos**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 478p.

68-TREVEJO RT, RIGAU-PEREZ JG, ASHFORD DA, MCCLURE EM, JARQUIN-GONZALEZ C, AMADOR JJ, et al. Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage-Nicaragua, 1995. **J Infect Dis** 1995;178:1457-63. [PubMed: 9780268]

69-TUNG, J.Y.; YANG, CW; CHOU, SW; LIN, CC; SUN, YJ. Calcium binds to LipL32, a lipoprotein from pathogenic *Leptospira*, and modulates fibronectin binding. The journal of biological chemistry. Papers in Press. 2009. Fonte: <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.M109.006320>. Acesso em 10 de maio de 2010.

70-VAN DEN INGH TS, HARTMAN EG, BERCOVICH Z: Clinical *Leptospira interrogans* serogroup *Australis* serovar *lora* infection in a stud farm in The Netherlands. **Vet Q** 1989, 11:175-82.

71-VENCOFARMA. Protocolos Vacinais. Disponível em: http://www.vencofarma.com.br/bra/produtos_det.php?cod=34 Acesso em 13 de maio de 2010.

72-VINETZ JM, GLASS GE, FLEXNER CE, MUELLER P, KASLOW DC. Sporadic urban leptospirosis. **Ann Intern Med** 1996;125:794-8. [PubMed: 8928985].

73-YANG, C.W., WU, M. S., PAN, M.J., HSSIEH, W.J., VANDEWALLE, A., HUANG, C.C. The leptospira outer membrane protein LipL32 induces tubulointerstitial nephritis-mediated gene expression in mouse proximal tubule cells. **Journal of the American Society of Nephrology**, v.13, p.2037-2045, 2002.

74-YANG, C. W.; HUNG, C. C.; WU, M. S.; TIAN, Y. C.; CHANG, C. T.; PAN, M. J.; VANDEWALLE, A. Toll-like receptor 2 mediates early inflammation by leptospiral outer membrane proteins in proximal tubule cells. **Kidney International**, v.69, p.815-822. 2006.

75-ZHIJUN WANG, LI JIN AND ALICJA WÊGRZYN. Leptospirosis vaccines. Published: 11 December 2007 **Microbial Cell Factories** 2007, 6:39.

CAPÍTULO 1

4. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em equinos na região da Zona da Mata do Estado de Pernambuco

**OCORRÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-*LEPTOSPIRA* EM EQUINOS NA
REGIÃO DA ZONA DA MATA DO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Occurrence anti-*Leptospira* agglutinins in horses in the region of the forest area of the state of Pernambuco

SOUZA, N.M*; AZEVEDO, M.V.; SILVA J.C.R.; LEMOS, M.A.O.; HARROP, M.H.V.; LIMA, P. F.

RESUMO

Objetivou-se realizar uma pesquisa para verificar a ocorrência de aglutininas anti-*leptospira* em equinos na região da Zona da Mata do Estado de Pernambuco; identificar áreas de maior ocorrência da leptospirose; identificar os sorovares que ocorrem com maior frequência nas áreas estudadas; relacionar os sinais clínicos com a presença de aglutininas no soro sanguíneo dos equinos; relacionar a presença de roedores com a presença de animais soropositivos. Foi coletado sangue de 328 equinos com idade acima dos seis meses. Após centrifugação do sangue, o soro foi analisado no LANAGRO/PE. Das 328 amostras analisadas 84 (25,6%) animais foram reagentes. Dentre as regiões estudadas Aldeia se destacou por apresentar o maior percentual de animais reagentes, com 32,31%. Dentre os 27 sorovares examinados, 10 foram mais prevalentes, em ordem de maior ocorrência, Icterohaemorrhagiae 49%, Shermani 22%, Panama 13%, Copenhageni 8%, Batavie 2%, Hardjo 2%, Australis 1%, Pyrogenes 1%, Cynopteri 1% e Canicola 1%. Em relação à presença de roedores sugere-se que foi importante no aparecimento da afecção haja vista que foi relatada sua presença em todas as propriedades visitadas. Esse estudo não foi significativo para relacionar os sinais clínicos com o aparecimento de aglutininas do soro dos equinos estudados.

Termos de Indexação: Leptospirose, equinos, Pernambuco.

ABSTRACT

This study was aimed to research *Leptospira* spp agglutinins in horses in the region of the forest area the state of Pernambuco; identifying highest incidence areas of leptospirosis; identifying the serovars that occur more often in the studied areas; listing the clinical signs with the agglutinins presence in the equines blood serum; relating the presence of rodents and seropositive animals. Blood was collected from 328 equines over the age of 6 months. After the material centrifugation the serum was analyzed by LANAGRO/PE through the microscopic agglutination test. Of the 328 analyzed

samples 84 animals were reagents in the microscopic agglutination test for leptospirosis. Among which studied counties Aldeia stood out to present the highest reacting animals percentage, with 32.31% (65). Among the 27 surveyed serovars in the microscopic agglutination test for Leptospirosis diagnosis, 10 were found in the reagents animals, which were, in order of highest occurrence, Icterohaemorrhagiae (58), Sherman (26), Panama (15), Copenhagen (10), Batavia (3), Hardjo (2), Australis (1), Pyrogenes (1), Cynopteri (1) e Canicola (1). The presence of rodents was important in the disease onset considering that was reported his presence in all the visited property. This study was not significant to relate the clinical signs with the agglutinins appearance in the studied equines serum.

Index Terms: Leptospirosis, equines, Pernambuco.

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma enfermidade transmissível entre animais e o homem, amplamente difundida e caracterizada como doença febril aguda. Representa uma importante zoonose que causa problemas na saúde pública e prejuízo na criação de animais de produção (CHIARELI, 2008).

A maioria das infecções por leptospira é subclínica, e a principal fonte de infecção é um mamífero infectado, que contamina o pasto, a água e os alimentos via urina. Os animais infectados podem eliminar leptospiras por longo período, mesmo após a cura clínica (CHIARELI, 2008).

A ocorrência de animais reagentes depende do tratamento dispensado aos equinos, relacionando-se à higiene e às condições do meio ambiente, bem como à idade, densidade populacional, exposição a animais domésticos, roedores, animais silvestres e ao solo contaminado (CORDEIRO et al., 1974).

Consequentemente, a incidência de cada sorovar de leptospira varia conforme as características regionais (CORRÊA et al., 1955; PLANK e DEAN, 2000). Desta forma o equino pode ser acometido por uma infecção ativa, detectada somente por meio dos testes de soroaglutinação.

No Brasil poucos estudos foram realizados com equinos encontrando-se apenas estudos em São Paulo com títulos percentuais de 4,53% a 37,9%, 9,6% em cavalos

procedentes de Minas Gerais, São Paulo e Paraná; 14,4% em Goiás; 27% em Minas Gerais, 37,58% para equinos no Rio Grande do Sul (CHIARELI, 2008).

Estudos recentes demonstram uma frequência de animais reagentes na Bahia 23%, em Minas Gerais 5,9% e em Goiás 45,05%. Molnar et al. (2001) obtiveram resultados de prevalência entre 38% a 72% em diferentes municípios do Estado do Pará.

Tendo em vista a importância econômica da leptospirose não só para a saúde pública, mas também para a saúde dos plantéis de equinos e a falta de estudos no Estado de Pernambuco, o que justifica a realização desta pesquisa, objetivou-se realizar uma pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* spp em equinos pertencentes à Zona da Mata do Estado de Pernambuco; identificar os sorovares que ocorrem com maior frequência na área estudada; relacionar os sinais clínicos com a presença de aglutininas no soro sanguíneo dos equinos; relacionar a presença de roedores com a presença de animais soropositivos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

No período de agosto a dezembro de 2010 foram colhidas 328 amostras sanguíneas de equinos com idade acima dos seis meses, de ambos os sexos, qualquer raça e tipo de trabalho, provenientes dos municípios listados da região da Zona da Mata do Estado de Pernambuco.

Amostras

As amostras sanguíneas foram colhidas por meio da venopunção da veia jugular previamente higienizada com uma solução de álcool a 70% e algodão. A venopunção foi realizada com o auxílio de agulhas estéreis 40x12 e o sangue foi depositado em tubos de ensaio estéreis e posteriormente armazenados em caixas isotérmicas e transportados ao Laboratório de Grandes Animais do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Os soros foram obtidos por centrifugação a 900G/10 minutos, pipetados, identificados em tubos de polipropileno e congelados a -20°C até seu processamento. O teste de soroprecipitação microscópica foi realizado no Laboratório Nacional Agropecuário de Pernambuco (LANAGRO – PE).

Sorologia

As amostras de soro foram submetidas ao teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) no qual o soro suspeito é testado com uma bateria de antígenos vivos, para detectar anticorpos específicos anti-*Leptospira*.

Os sorovares representativos de 23 sorogrupos de *Leptospira* sp foram cultivados em meio líquido *Ellinghausen, McCullough, Johnson, Harris* (EMJH), de acordo com a Fundação Nacional de Saúde (BRASIL, 1995). Inicialmente realizou-se triagem para 27 sorovares de *Leptospira* spp. Para todas as amostras que apresentaram aglutinação na diluição 1:100, a titulação foi realizada posteriormente em diluições crescentes até 1:1600. Foi considerado como sorovar infectante, o antígeno com maior título sorológico.

Análise Estatística

Os resultados soropositivos foram calculados por frequência (%) com o respectivo intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e a comparação das frequências entre sexo, idade, raça e tipo de atividade foi feita por meio do teste do qui-quadrado (χ^2) com o auxílio do programa EpiInfo 6.0.

RESULTADOS

Das 328 amostras examinadas constatou-se que 84 (25,6%) animais foram reagentes no teste de soro aglutinação microscópica para leptospirose. Dentre as regiões estudadas Aldeia se destacou por apresentar o maior percentual de animais reagentes, com 32,31% (65), em seguida Pombos com 28,2% (22), Palmares com 23,81% (5), Bonanza com 22,36% (17), Paudalho com 22% (11) e por fim Escada com 14,3% (4).

As demais variáveis seguem descritas na tabela 1.

Variáveis	Equinos	
	Soropositivo (%) [IC 95%]	Total de amostras
Sexo		
Fêmea	58 (17,7%) [13,7 – 22,2%]	328
Macho	26 (7,9%) [5,2 – 11,3%]	328
Idade		
Potros	12 (15,4%) [8,2 – 25,3%]	78
Jovens	20 (25%) [16 – 36%]	80
Adultos	42 (31,1%) [23,4 – 39,6%]	135
Senis	10 (28,6%) [14,6 – 46,3%]	35

Raça		
Quarto de Milha	30 (26,3%) [18,5 – 35,4%]	114
Mangalarga Marchador	49 (24,7%) [19 – 31,3%]	198
Campolina	3 (60%) [14,6 – 94,7%]	5
Mestiço	2 (18,2%) [2,3 – 51,8%]	11
Tipo de Atividade		
Exposição	24 (42,85%) [29,7 – 56,8%]	56
Vaquejada	6 (30%) [12 – 54,3%]	20
Reprodução	39 (23,78%) [17,5 – 31%]	164
Trabalho	6 (20%) [7,7 – 38,5%]	30
Passeio	4 (18,18%) [5,18 – 40%]	22
Outros	5 (13,88%) [4,66 – 29,5%]	36

¹ $\chi^2 = 13,12$; $p = 0,0003$. ² $\chi^2 = 6,60$; $p = 0,08$. ³ $\chi^2 = 3,53$; $p = 0,31$. ⁴ $\chi^2 = 12,96$; $p = 0,023$.

Tabela 01: Distribuição da prevalência de animais soropositivos para Leptospirose na Zona da Mata do Estado de Pernambuco, de acordo com o sexo, idade, raça e tipo de atividade.

A análise dos resultados em relação as variáveis dos equinos considerando sexo, idade, raça e tipo de atividade evidenciou diferença significativa em relação ao sexo e não houve diferença estatística para as demais variáveis, como mostra na tabela 1.

Dentre os 27 sorovares pesquisados no teste de soroaglutinação microscópica para diagnóstico da leptospirose, 10 foram encontrados nos animais reagentes, os quais foram, em ordem de maior ocorrência, Icterohaemorrhagiae 49%, Shermani 22%, Panama 13%, Copenhageni 8%, Batavie 2%, Hardjo 2%, Australis 1%, Pyrogenes 1%, Cynopteri 1% e Canicola 1%.

Nota-se que em todos os municípios o sorovar Icterohaemorrhagiae foi o que ocorreu com maior ocorrência, com exceção do município de Paudalho, no qual o sorovar mais prevalente foi o Panama. No município de Pombos os sorovares que mais ocorram foram: Icterohaemorrhagiae (dezoito), Shermani (sete), Panama (dois), Copenhageni, Hardjo, Cynopteri e Canicola (um). Em Bonanza o Icterohaemorrhagiae foi o mais prevalente com 17, em seguida Shermani e Copenhageni com seis e Panama com duas. No município de Palmares o sorovar Icterohaemorrhagiae aparece quatro vezes e o Panama dois. Em Escada, observou-se a presença do Icterohaemorrhagiae

(seis), Batavie (um) e o Panama (um). Em Paudalho o sorovar *Panama* ocorre quatro vezes seguido do *Icterohaemorrhagiae* (três), Shermani e Batavie (dois), e Hardjo e Australis (um).

DISCUSSÃO

A frequência geral encontrada nesse estudo foi de 328 amostras 84 (25,62%) animais foram reagentes ao teste de soroglutinação microscópica para diagnóstico da Leptospirose. Segundo outros estudos realizados em diferentes regiões do Brasil esse achado está próximo aos valores encontrados por esses pesquisadores os quais variaram entre 4,53% (GIORGI et al., 1981) e 37,9% (SANTA ROSA et al., 1968), ambas no Estado de São Paulo. Entre estes dois limites, encontram-se registros de ocorrência de 8,82% (TERUYA et al., 1974) para cavalos de São Paulo; 9,6% (SILVA et al., 1972) entre cavalos procedentes de Minas Gerais, São Paulo e Paraná; 14,4% (JARDIM et al., 1978) para Goiás; 16,9% (CORRÊA et al., 1957) também para São Paulo; aproximadamente 27% para Minas Gerais (BARBOSA, 1962; CORDEIRO et al., 1974) e 37,58% para equinos no Rio Grande do Sul.

Estudos recentes demonstraram uma frequência de animais reagentes na Bahia 23% (GOMES et al, 2007), em Minas Gerais 5,9% (CHIARELI et al, 2008) e em Goiás 45,05% (LINHARES et al, 2005). MOLNAR et al. (2001) obtiveram resultados de ocorrência entre 38% a 72% em diferentes municípios do Estado do Pará.

A frequência de soros positivos, descrita neste estudo foi inferior à descrita no estado do Pará (MOLNAR et al, 2001) porém os soros utilizados eram provenientes de animais com suspeita clínica de leptospirose, diferindo desse estudo, que realizou-se um levantamento epidemiológico realizado em populações aparentemente sadias.

Na zona da mata do Estado de Pernambuco o sorovar mais prevalente frequência foi o *Icterohaemorrhagiae* com 49%, seguido do Shermani com 22%, depois o Panama com 13%, Copenhageni 8%, Batavie e Hardjo 2%, e Pyrogenes, Cynopteri, Australis e Canicola 1%.

Em estudo realizado por Gomes et al, (2007), na Bahia, 42% das amostras apresentaram reação positiva para o sorovar *Icterohaemorrhagiae* 24% das reações foram positivas para o sorovar Pyrogenes 17% ao sorovar Wolffi, 7% das amostras foram reativas o sorovar Castellonis assim como o sorovar Autumnalis, o sorovar

Hardjo apresentou 3%. Seus dados corroboram os achados desse estudo porém, difere porque não houve a presença do sorovar Wolffi, Castellonis e Autumnalis.

Segundo Linhares (2005), no Estado de Goiás, dos 82 soros positivos, 56 (68,29%) foram positivos para o sorovar Icterohaemorrhagiae, 11 (13,41%) para pomona, 7 (8,53%) para wolffi, 5 (6,09%) para hardjo e 3 (3,65%) para tipo canicola, corroborando mais uma vez os achados do nosso estudo, deferindo na presença de sorovares como o Wolffi e Hardjo.

Quanto ao sexo Baverud (2009) em seu estudo observou que éguas e cavalos castrados apresentaram maior soropositividade em relação aos garanhões. No nosso estudo verificamos também que as éguas apresentaram maior soropositividade com 17,7% em comparação aos machos 7,9%, apresentando diferença significativa. Provavelmente isso pode estar relacionado ao manejo desses animais que favorecem uma menor exposição ao ambiente e contato com outros cavalos, haja vista que os garanhões foram mantidos, geralmente, embaiados.

Baverud, et al (2009) realizaram uma relação entre a presença de roedores e a ocorrência dos sorovares encontrados esse trabalho (Bratislava e Icterohaemorrhagiae) e observou que não houve correlação entre a exposição a roedores e soroprevalência para *Leptospira* spp e em modelos multivariados roedores foram removidos para ambos os sorovares estudados. Entretanto no nosso trabalho em todas as propriedades visitadas todas as pessoas consultadas (tratadores, proprietários e treinadores) relataram a alta ocorrência de roedores, justificando o nosso achado de maior ocorrência para o sorovar Icterohaemorrhagiae (49%), visto que o mesmo se encontra no seu hospedeiro de manutenção que é o rato, o qual é reservatório da leptospirose.

Em nosso estudo não se verificou variações sazonais da ocorrência da leptospirose por que todas as amostras foram coletadas em um único período, verão de 2010, porém pode-se justificar a alta ocorrência do sorovar Icterohaemorrhagiae na qual pequenos roedores que vivem em estado selvagem geralmente invadem estábulos e casas no final do verão e no outono, que pode dar uma maior incidência de infecção durante o período, corroborando os achados de Baverud et al, (2009).

Em nosso estudo verificou-se, em ordem decrescente, o tipo de atividade que os animais soropositivos desempenhavam: 42,85% exposição, 30% vaquejada, 23,78% reprodução, 20% trabalho, 18,18% passeio, 13,88% outros. Esses achados podem ser

justificados pelo fato de que cavalos de exposição e de vaquejada, são cavalos que frequentemente estão viajando, estão em contato com outros cavalos de diversos outros estados e países, compartilhando a mesma água de beber e de tomar banho nas exposições e competições, aumentando o risco de exposição as leptospiros. Além disso, o elevado número de viagens aumentam o grau de estresse possibilitando o aparecimento de úlceras gástricas que favorecem a penetração da bactéria via gástrica.

CONCLUSÃO

Com a realização desse estudo foi possível concluir que a infecção por *Leptospira* spp na espécie equina ocorreu de forma endêmica nas áreas estudadas, haja vista que das 328 amostras analisadas 84 (25,62%) foram positivas ao teste.

Dentre as regiões estudadas Aldeia se destacou por apresentar um maior percentual de animais reagentes com 22%.

A variação de sorovares encontrados nos diferentes municípios confirma o fato da leptospirose ser uma doença de etiologia predominantemente ambiental, ou seja, o meio ambiente, fatores climáticos e temperatura são fatores importantes no aparecimento ou não da doença. A presença de roedores foi importante no aparecimento da afecção haja vista que foi relatada sua presença em todas as propriedades visitadas. Esse estudo não foi significativo para relacionar os sinais clínicos com o aparecimento de aglutininas do soro dos equinos estudados.

A partir desse trabalho pode-se traçar um perfil soro epidemiológico da leptospirose em equinos na Zona da Mata do Estado de Pernambuco, que pode ser útil para realização de tratamento e da prevenção desta enfermidade, todavia, ainda é preciso estudos mais aprofundados para determinarmos o porque da ocorrência de determinados sorovares em algumas regiões estudadas.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, as fazendas que nos permitiram coletar amostras de seus animais, ao Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO) que possibilitou o processamento dessas amostras e a todos que contribuíram para a realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, M. Aglutininas e lisinas antileptospira em soros de bovinos, eqüinos e suínos Minas Gerais. **Arquivo Escola de Veterinária UFMG**, v. 14, n. 1, p.1 – 26, 1962.
- BÅVERUD, V. A GUNNARSSON, E OLSSON ENGVAL, P FRANZÉN AND A EGENVAL. *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, 2009, 51:15
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais. **Programa Nacional de Leptospirose Manual de Leptospirose**. 2ª Ed. Ver. – Brasília : Fundação Nacional de Saúde, 1995 98p.
- CORDEIRO, F.R.; RAMOS, A.A.; BATISTA JUNIOR, J. A. Aglutininas anti-leptospiras em soros de eqüinos de Minas Gerais. **Pesquisas Agropecuária Brasileira. Série Veterinária**, v.9, p.45- 48, 1974.
- CORRÊA, M.O.; NETO, V.A.; VERONESI, R.;FABBRI, S.OA. Leptospiroses em eqüinos: inquérito sorológico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 186-193, 1957.
- CORRÊA, M.O.A.; AMATO NETO, V.;VERONESI, R.; FABBRI, O.S. Leptospiroses em eqüinos: inquérito sorológico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 15, n. único, p. 186-193, 1955.
- D. CHIARELI; E.C.MOREIRA; H.O.D. GUTIÉRREZ; R.O. RODRIGUES; A.P. MARCELINO; J.N.C. MENESES; V.M.A. ALMEIDA. Frequencia de Aglutininas anti *Leptospira interrogans* em eqüídeos em Minas Gerais 2003 a 2004. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, n.6, p. 1576-1579, 2008.
- GOMES, A.H.B.; OLIVEIRA, F.C.S.; CAVALCANTI, L.A.; CONCEIÇÃO, I.R.; SANTOS, G.R.; RAMALHO, E.J.; VIEGAS, S.A.R.A. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de eqüinos no estado da Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod An. v.8, n.3 p.144-151, 2007.**
- GIORGI, W.; TERUYA, J.M.; MACRUZ, R.; GENOVEZ, M.E.; SILVA, A.S.; BORGIO, F. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **O Biológico**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 47-53, 1981.

JARDIM, E.C.; SILVA, R.L.; ALMEIDA, M.N.R.; FICHTNER, S.S.; CANDIDA, M.F. Aglutininas antileptospira em eqüinos no Estado de Goiás. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária da UFG**, v. 8, n. 1, p. 142-149, 1978.

LINHARES, G. F. C. et al. Sorovares de *Leptospira Interrogans* e Respectivas Prevalências em Cavalos da Microrregião de Goiânia, Go. *Ciência Animal Brasileira* v. 6, n. 4, p. 255-259, out./dez. 2005.

MOLNAR, E.; DIAS, H. L. T.; MOLNAR, L. Estudo comparativo entre o teste da soroaglutinação microscópica (SAM) e o imunoenensaio ligado à enzima (ELISA) para o diagnóstico da leptospirose eqüina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 151-155, 2001.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. **Microbes and Infection**, v.2, p.1265-1276, 2000.

SANTA ROSA, C.A.; CASTRO, A.F.P.; CAMPEDELLI FILHO, O.; MELO, D. Leptospirose em eqüinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 61-65, 1968.

SILVA, A.S.; CASTRO, A.F.P.; GIORGI, W.; SANTA ROSA, C.A. Pesquisa de aglutininas antileptospira em soros de eqüinos. **Revista de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 2, n. 8, p. 196-205, 1972.

TERUYA, J. M.; SILVA, A. S.; CASTRO, A. F. P.; GIORGI, W. Soroaglutinações para leptospirose realizadas no Instituto Biológico durante o ano de 1973. **O Biológico**, São Paulo, v. 40, n. 8, p. 228- 232, 1974.

CAPÍTULO 2

5. Presença de aglutininas anti *Leptospira* spp em equinos no Arquipélago de Fernando de Noronha

**PRESENÇA DE AGLUTININAS ANTI *LEPTOSPIRA* SPP EM EQUINOS NO
ARQUIPÉLAGO DE FERNANDO DE NORONHA**

Presence of *Leptospira* spp agglutinins in horses in the archipelago of Fernando de
Noronha

N. M. Souza^{1*}, M. V. Azevedo¹, J. C. R. Silva², M. A. O. Lemos², C.D.F., LIMA
FILHO³; M.F.V. Marvulo²; M.H.V. Harrop P. F. Lima²

^{1,2} Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

³ Médico Veterinário da Ilha de Fernando de Noronha

52171-030 – Recife - PE

RESUMO: Objetivou-se com esse trabalho verificar a presença de aglutininas anti *Leptospira* spp em equinos pertencentes a ilha de Fernando de Noronha Estado de Pernambuco; identificar os sorovares que ocorrem com maior frequência na área estudada; relacionar os sinais clínicos com a presença de aglutininas no soro sanguíneo dos equinos. Coletou-se sangue de 16 equinos machos com idade variando entre 5 a 16 anos. Após centrifugação do sangue, o soro foi analisado no LANAGRO/PE por meio do teste de soro aglutinação microscópica. Das 16 amostras analisadas (62,5%) 10 foram consideradas reagentes. Considerando os sorovares mais prevalentes 62,5% (10/16) das amostras foram soropositivas para o sorovar Icterohaemorrhagiae, 37,5% (06/16) foram soropositivas para o sorovar Copenhageni. Com base nos resultados, confirma-se a alta susceptibilidade dos equinos aos sorovares de *Leptospira interrogans* atestando-se um risco iminente de perdas econômicas significativas, demonstrando o potencial zoonótico da enfermidade.

Palavras-chave: *Leptospira* sp., cavalos, epidemiologia, ilha.

ABSTRACT

The objective of this work was to verify the presence of agglutinins against *Leptospira* spp in horses belonging to the island of Fernando de Noronha State of Pernambuco; serotype occurring more frequently in the areas studied, the clinical signs relate to the presence of agglutinins in the serum blood of horses. Blood was collected from male horses aged 5-16 years. After centrifugation of the serum material was analyzed by LANAGRO / PE by microscopic agglutination test. Of the 16 samples analyzed 10 were

found to be reactive and six were considered non-reactive. 62.5% of samples were positive for serovar Icterohaemorrhagiae, 37.5% were positive for serovar Copenhageni. Based on the results, confirms the high susceptibility of horses to *Leptospira interrogans* attesting to an imminent risk of economic losses quite significant, adding to the severity of a public health problem.

Keywords: *Leptospira* sp., horses, epidemiology, island.

INTRODUÇÃO

A leptospirose está incluída na lista do Código Sanitário para Animais Terrestres da Organização Internacional de Epizootias por ter propagação internacional, ser emergente, apresentar potencial zoonótico e difusão significativa nas populações humanas (OIE, 2008).

Devido à patogenicidade da leptospirose e ao comprometimento de alguns sorovares de *Leptospira* spp. é possível observar injúrias ao sistema reprodutor dos animais domésticos, especialmente equinos, elevando os prejuízos econômicos na pecuária brasileira (CARVALHO NETA et al, 2008).

Em humanos a leptospirose é pouco diagnosticada devido à falta de suspeita clínica e aos entraves no diagnóstico laboratorial. Frequentemente, há falta de familiaridade dos médicos clínicos gerais com a ampla apresentação clínica da leptospirose haja vista que a infecção por leptospira é geralmente assintomática (ASHFORD et al.,2000).

A avaliação ambiental é fundamental para determinar os riscos da leptospirose. Um melhor entendimento dos fatores epidemiológicos é necessário para melhor determinar diretrizes de saúde pública visando bloquear a cadeia de transmissão da leptospirose. Sabe-se que reservatórios naturais da leptospirose podem ser de animais domésticos, ratos e camundongos peridomiciliados, animais de companhia, especialmente cães, e os potencialmente selvagens, tais como marsupiais e uma grande variedade de roedores (BUNNELL et al., 2000).

Ecologicamente, a existência e a dispersão da doença são mais favorecidas nas regiões tropicais e subtropicais que nas temperadas (FAINE, 1999), devido à persistência e multiplicação das bactérias em ambientes alagados, podendo sobreviver

por até 180 dias, dependendo das condições de temperatura (28° a 30°), pH (7,2 a 7,4), salinidade e poluição (BRASIL, 1995).

A leptospirose equina é uma enfermidade causada por diferentes sorovares de *Leptospira interrogans*, que normalmente se manifesta por uveíte recorrente, abortos ou outros distúrbios reprodutivos. Evolui geralmente como doença aguda ou crônica, individual ou de grupo de animais, sendo que a maioria das infecções apresenta caráter inaparente (BEER, 1999). A infecção geralmente resulta de transmissão direta por meio da urina contaminada ou líquido da placenta, ou indiretamente, a partir de um ambiente contaminado (BOLIN, 2000).

O Arquipélago de Fernando de Noronha foi declarado patrimônio natural da humanidade pela UNESCO e possui um Parque Nacional Marinho e uma Área de Proteção Ambiental. Apresenta uma variada biodiversidade e diversos problemas de ação antrópica, entre eles a introdução de espécies exóticas invasoras, tais como roedores sinantrópicos e silvestres, aves como a garça-vaqueira e o pardal, lagarto-teju, sapo-boi, perereca, além de animais domésticos. Estas espécies exóticas invasoras introduzidas em uma ilha, frequentemente podem ser fontes de infecção ou reservatórios de patógenos.

Tendo em vista a importância econômica da leptospirose para a saúde pública, para a saúde dos plantéis de equinos e, além disso, trazer dados sobre o comportamento desta enfermidade em um ecossistema particular insular, objetiva-se com esse trabalho verificar a presença de aglutininas anti *Leptospira* spp em equinos pertencentes a ilha de Fernando de Noronha Estado de Pernambuco; identificar os sorovares que ocorrem com maior frequência na área estudada; relacionar os sinais clínicos com a presença de aglutininas no soro sanguíneo dos equinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram colhidas 16 amostras de soro sanguíneo de equinos machos com idade variando de 5 a 16 anos, de passeio, provenientes da Ilha de Fernando de Noronha, Estado de Pernambuco.

Amostras

As amostras sanguíneas foram colhidas através de venopunção da veia jugular previamente higienizada com uma solução de álcool a 70% e algodão. A venopunção foi realizada com o auxílio de agulhas estéreis 40x12 e o sangue depositado em tubos de ensaio estéreis e armazenados em caixas isotérmicas e transportados ao Laboratório de Grandes Animais do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os soros foram obtidos por centrifugação a 900G/ 10 minutos, pipetados, identificados em tubos de polipropileno e congelados a -20°C, posteriormente foi processado no Laboratório Nacional Agropecuário de Pernambuco (LANAGRO – PE).

Sorologia

As amostras de soro foram submetidas ao teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) no qual o soro suspeito é testado com uma bateria de antígenos vivos, para detectar anticorpos específicos anti-*Leptospira*.

Os sorovares representativos de 23 sorogrupos de *Leptospira* sp foram cultivados em meio líquido *Ellinghausen, McCullough, Johnson, Harris* (EMJH), de acordo com a Fundação Nacional de Saúde (BRASIL, 1995). Inicialmente realizou-se triagem para 27 sorovares de *Leptospira* spp. Para todas as amostras que apresentaram aglutinação na diluição 1:100, a titulação foi realizada posteriormente em diluições crescentes até 1:1600. Foi considerado como sorovar infectante, o antígeno com maior título sorológico.

RESULTADOS

Das 16 amostras analisadas 10 (62,5%) foram consideradas reagentes para aglutininas anti-*Leptospira* spp. A tabela 1 apresenta os sorovares prevalentes, bem como, a titulação em que foram encontrados.

Tabela 01: Presença de aglutininas anti *Leptospira* spp em soro de equinos, pelo teste de soroaglutinação microscópica (SAM) segundo o sorovar reagente e título, Fernando de Noronha - PE

Sorovares	Título			Total	Total (%)
	1:100	1:200	1:400		
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	06	03	01	10	62,50
<i>Copenhageni</i>	03	02	01	06	37,50
TOTAL	09	05	02	16	100,00

Foram pesquisadas aglutininas anti leptospiras pela prova de soro-aglutinação microscópica. Das 16 amostras de soro dos equinos testados 10 (62,5%) foram reagentes.

Na tabela 1 observa-se que ocorreram nove reações para a titulação 100, cinco para a titulação 200 e duas para a titulação 400, totalizando 16 reações positivas, demonstrando que em algumas amostras houve reação para mais de um sorovar.

Ainda nessa tabela observa-se que 62,5% das amostras foram positivas para o sorovar *Icterohaemorrhagiae*, com titulação de 100 em seis, 200 em três e 400 em uma amostra. Para o sorovar *Copenhageni* foram positivas 37,5% das amostras, com titulação de 100 para três, 200 em duas, e 400 em uma amostra.

Para os demais sorovares não foi encontrada nenhuma titulação.

DISCUSSÃO

Neste trabalho, verificou-se a presença de aglutininas anti-leptospiras em soro de 16 equinos, tendo 10 amostras positivas e com o sorovar mais prevalente *Icterohaemorrhagiae* com 62,5%. confirmando-se os achados de Lilenbaum (1998), no estado do Rio de Janeiro, em amostras coletadas de éguas com problemas reprodutivos, no qual verificou-se alta predominância de *Icterohaemorrhagiae* em 43,40% das amostras positivas. Apesar de confirmar a alta frequência deste sorovar difere pelo fato dos animais estudados neste trabalho não apresentarem sinal clínico.

Estudos realizados em Minas Gerais diferem do encontrado, pois relatam uma frequência Hardjo (Norma) (3,0%) e Pomona (1,2%), seguidas de Bratislava (0,66%),

Batavie (0,53%), Canicola (0,42%), Icterohaemorrhagiae (0,42%), Ballum (0,06%) e Copenhageni (0,02%).

Santa Rosa et al. (1968) em São Paulo também verificaram Pomona 13,6% e o Canicola 12,2%, com total de soropositividade de 37,9% em cavalos destinados para o abate.

O trabalho desenvolvido difere dos resultados citados por Pinheiro et al. (1985) que encontrou prevalência dos sorovares de Pomona 24,19%, Javanica 18,54%, Canicola 17,74%.

CONCLUSÃO

A ocorrência de aglutininas antileptospira no soro de equinos deste experimento confirmou a alta susceptibilidade dos equinos aos sorovares de *Leptospira interrogans* e que mesmo sem apresentar a sintomatologia clínica os resultados indicam que esses animais já tiveram contato com o agente e que podem desenvolver a doença sendo um risco iminente de perdas econômicas bastantes significativas, somando-se à gravidade de um problema de Saúde Pública.

Corroborando com outros estudos, esse estudo confirma a variabilidade da ocorrência da leptospirose em diferentes regiões do Brasil. Talvez pelo fato de Fernando de Noronha ser um ecossistema particular tenha havido essa frequência maior do sorovar Icterohaemorrhagiae na espécie equina enfatizando a necessidade de maiores estudos nessa região.

Os autores agradecem a Administração do Distrito Estadual de Fernando de Noronha, ao Instituto Brasileiro para Medicina da Conservação (Tríade), a Fundação O Boticário, a Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e ao Laboratório Nacional Agropecuário (LANAGRO-PE) pela realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

ASHFORD DA, KAISER RM, SPIEGEL RA, PERKINS BA, WEYANT RS, BRAGG SL, et al. Asymptomatic infection and risk factors for leptospirosis in Nicaragua. **Am J Trop Med Hyg** 2000;63:249–54. [PubMed: 11421372]

BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1999. 322p.

BOLIN C: **Leptospirosis**. In *Emerging Diseases of Animals* Edited by: Brown C, Bolin C. ASM Press, American Society for Microbiology, Washington DC; 2000:185-200.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais. **Programa Nacional de Leptospirose Manual de Leptospirose**. 2ª Ed. Ver. – Brasília : Fundação Nacional de Saúde, 1995 98p.

BUNNELL JE, HICE CL, WATTS DM, MONTRUEIL V, TESH RB, VINETZ JM. **Detection of pathogenic *Leptospira* spp. infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region**. Am J Trop Med Hyg 2000;63:255–8. [PubMed: 11421373].

CARVALHO NETA, A.; LAFETÁ, B. B.; MARCELINO, A. P. Leptospirose bovina: epidemiologia, diagnóstico e controle. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br>. Acesso em 10 de maio de 2008.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.;PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2. ed. Melbourne, Austrália: Medicine Science, 1999. 272p.

OIE. Organization International of Epizooties. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.3.1. Bovine Brucellosis. 2008. Disponível em: http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_INDEX.HTM. Acesso: 10 de maio de 2010.

PINHEIRO, H.H.; SILVEIRA, W.;OLIVEIRA, V.C. Pesquisas de aglutininas anti-leptospiras em soros eqüinos abatidos no frigorífico Xavante – Araguari, MG. **A Hora Veterinária**, v. 5,n. 27, p. 42-44, 1985.

SANTA ROSA, C.A.; CASTRO, A.F.P.; CAMPEDELLI FILHO, O.; MELO, D.Leptospirose em eqüinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 61-65, 1968