

INQUÉRITO SOROLÓGICO DA LEPTOSPIROSE EM EQUÍDEOS DA MICRORREGIÃO DE ITAGUAÍ NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO-RJ*

Caroline Spitz dos Santos¹⁺, Daniel da Silva Guedes Júnior², Rita de Cássia Gomes Pereira¹, Cíntia de Carvalho Almeida dos Santos³, Vanessa Castro⁴ e Vera Lúcia Teixeira de Jesus⁵

ABSTRACT. dos Santos C.S., Guedes Júnior D. da S., Pereira R. de C.G., dos Santos C. de C.A., Castro V. & de Jesus V.L.T. [**serological survey of equine leptospirosis at the Microregion of Itaguaí in the State of Rio de Janeiro**]. Inquérito sorológico da ocorrência de leptospirose em equídeos da microrregião de Itaguaí no estado do Rio de Janeiro-RJ. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(2):96-100, 2012. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR-465 km 7, Seropédica, 23890-000, RJ. Brasil. E-mail: carolinespitz@yahoo.com.br

A survey of anti-*Leptospira* spp. antibodies in animal from a horse breeding establishment located at the microregion of Itaguaí in the State of Rio de Janeiro was conducted. One hundred and thirty-nine blood samples from horses were collected and subjected to microscopic agglutination test (MAT). A total of 71.9% (100) of the samples had agglutinating antibodies against one or more serovars, with the predominance of Bratislava (29.2%), followed by Pomona (19.8%), Copenhagen (17.5%) and Hardjo prajitno (12.7%) Serovars. The reactivity rate between males (63.6%) and females (78.57%) showed no significant difference ($p = 0.11$). The group of animals younger than two years of age differed significantly from the others ($p=0.0003$). The results demonstrate that the animals of this micro-region have a high exposure to different *Leptospira* serovars.

KEY WORDS. *Leptospira* spp., serovars, equine, Itaguaí, Rio de Janeiro.

RESUMO. Um levantamento sobre a presença de anticorpos anti-*Leptospira* em equídeos de um haras localizado na microrregião de Itaguaí, estado do Rio de Janeiro foi feito. Cento e trinta e nove amostras de sangue de equídeos foram coletadas e submetidas a técnica de soroprecipitação microscópica (MAT). Das amostras avaliadas 71,9% foram reagentes ao teste. Os sorovares predominantes foram Bratislava (29,2%), Pomona (19,8%), Copenhageni (17,5%) e Hardjo prajitno (12,7%). Não houve diferença signifi-

ficativa entre sexos ($p=0,11$), sendo observados 78,5 e 63,6% de positividade para as fêmeas e machos respectivamente. De acordo com a idade, animais menores que dois anos diferiram significativamente dos demais grupos de idade ($p=0,0003$). Os resultados obtidos no presente estudo demonstram uma exposição elevada a diversos sorovares de *Leptospira* em equídeos da microrregião de Itaguaí.

PALAVRAS-CHAVE. *Leptospira* spp., sorovares, eqüinos, Itaguaí, Rio de Janeiro.

*Recebido em 22 de julho de 2011.

Aceito para publicação em 24 de fevereiro de 2012.

¹ Médica-veterinária, *M.Med.Vet.*, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. ⁺Autor para correspondência. E-mail: carolinespitz@yahoo.com.br, regp@ufrj.br - bolsistas CAPES, REUNI.

² Médico-veterinário, *Dr.Cs.Vs*, Tecnologista em Saúde Pública, Bio-Manguinhos, Fiocruz. Av. Brasil, 4.365, Manguinhos, RJ 21040-900, Brasil. Email: daniel.silva@bio.fiocruz.br

³ Curso de Graduação em Medicina Veterinária, IV, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. Email: cintiacarvalho@hotmail.com

⁴ Bióloga, *MSc*. Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução, Instituto Biológico de São Paulo, Avenida Conselheiro Rodrigues Alves, 1.252, São Paulo, SP 04014-002, Brasil. Email: castro@biologico.sp.gov.br

⁵ Médica-veterinária, *Dr.CsVs*, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Instituto de Zootecnia, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: jesus@ufrj.br

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma antropozoonose direta que acomete humanos, animais domésticos e selvagens sendo causada por diversos sorovares (svs) patogênicos dentro do gênero *Leptospira* que podem estar presentes na água, solo e reservatórios animais (Faine 2000). A doença é sazonal, com pico de incidência ocorrendo em épocas chuvosas em locais de clima quente onde a dessecação rápida poderia impedir a sobrevivência do agente (Levett 2001), onde a via de contaminação, na maior parte das vezes ocorre através de cortes e abrasões de pele ou por via conjuntiva. A infecção também pode ocorrer através do contato prolongado da pele intacta com água contaminada (Levett 2001).

Cada sorovar (sv) de *Leptospira* tende a ser mantido em um hospedeiro animal específico, ao qual é adaptado, sendo chamado de hospedeiro de manutenção, que são responsáveis por manter o agente etiológico no meio ambiente (Faine 2000). Os pequenos mamíferos são considerados hospedeiros de manutenção mais importantes, sendo responsáveis por transferir a infecção para animais de produção, cães e humanos (Levett 2001). Embora os hospedeiros de manutenção estejam adaptados a um sorovar, estes podem ser hospedeiros acidentais de outros causando a forma aguda da doença (Faine 2000).

No Brasil, estudos sobre a prevalência de aglutininas anti-*Leptospira* em equinos tem demonstrado a presença de diversos svs. Sendo encontrados com maior frequência os svs Pomona, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes e Bratislava (Favero et al. 2002, Langoni et al. 2004). Em equinos, a leptospirose pode apresentar sintomatologia variável, desde quadros de infecção assintomática até quadros mais graves. Normalmente os animais não apresentam sintomatologia, mas em alguns casos podem desenvolver alterações oculares, como: uveíte, epífora e congestão ocular (Braga et al. 2011), distúrbios reprodutivos como: placentites, aborto e natimortos (Poonacha et al. 1993) e problemas renais (Hodgin et al. 1989).

O objetivo deste estudo foi investigar a presença de anticorpos contra diversos svs de *Leptospira* em equídeos na microrregião de Itaguaí, região metropolitana do Rio de Janeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado com equídeos pertencentes a um haras localizado na microrregião de Itaguaí, área metropolitana do Rio de Janeiro. Foram coleta-

das 139 amostras de sangue destes animais, sendo três jumentos Pêga, quatro muares e 132 equinos com idade variando de nove meses a 25 anos. Do total de animais 84 eram fêmeas e 55 machos. Os animais eram criados a pasto e os mesmos recebiam concentrado farelado como parte da dieta.

O sangue foi coletado em tubos à vacuo contendo EDTA e levado ao laboratório para ser centrifugado. O plasma obtido foi alíquotado em tubos *eppendorff* e armazenado a -18 °C até o momento da análise. As amostras de plasma foram enviadas para o Laboratório de Doenças Bacterianas da Reprodução, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal do Instituto Biológico de São Paulo.

O diagnóstico sorológico para leptospirose foi realizado de acordo com recomendações técnicas da Organização Mundial de Saúde (Lilenbaum & Santos 1995). Para detecção de anticorpos contra *Leptospira*, as amostras foram submetidas à técnica de soroaglutinação microscópica (MAT) utilizando os seguintes sorovares: Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Grippotyphosa, Wolffi, Hardjo prajitno, Australis, Autumnalis, Bataviae, Bratislava, Butembo, Castellonis, Copenhageni, Cynopteri, Hebdomadis, Javanica, Panama, Patoc, Pyrogenes, Shermani, Tarassovi, Whitcombi, Sentot e Hardjo bovis. As amostras foram consideradas positivas ao teste quando reagentes em a diluição $\geq 1:100$.

A análise estatística foi conduzida utilizando o teste do Qui-quadrado ou Fisher, com $\alpha=0,05\%$ utilizando o software EpiInfo versão 3.5.1.

RESULTADOS

De 139 amostras avaliadas, 100 (71,9%) foram reagentes ao MAT, apresentando títulos entre 100 e 3200 para um ou mais svs (Tabela 1). Entre as

Tabela 1. Distribuição dos títulos de anticorpos encontrados no MAT para os sorovares de *Leptospira* em equídeos na microrregião de Itaguaí, RJ.

Sorovar	Titulação de anticorpos anti- <i>Leptospira</i>					Núm. reagentes	Frequências
	100	200	400	800	3200		
Bratislava	19	26	16	1	0	62	29,24
Pomona	18	14	5	3	2	42	19,82
Copenhageni	20	10	7	0	0	37	17,42
Hardjo prajitno	16	9	2	0	0	27	12,73
Castellonis	12	1	0	0	0	13	6,14
Pyrogenes	6	4	1	0	0	11	5,20
Canicola	4	4	1	0	0	9	4,24
Grippotyphosa	4	1	0	1	0	6	2,83
Patoc	3	1	0	0	0	4	1,90
Australis	1	0	0	0	0	1	0,48
Total	103	70	32	5	2	212	100,0%
Frequências (%)	48,6	33	15,1	2,35	0,95	100%	

amostras positivas, 33 tiveram anticorpos contra um apenas e 67 foram reagentes a dois ou mais sv's (Figura 1).

A pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* foi realizada a partir 24 sv's sendo obtida reatividade somente para 10 sv's (Figura 2). O sv Bratislava foi predominante sendo diagnosticado em 62 amostras, seguido por 42 amostras reagentes ao Pomona, 37 ao Copenhageni, 27 ao Hardjo prajitno, 13 ao Castellonis e 11 Pyrogenes. Os sv's Canicola, Grippothyphosa, e Patoc foram encontrados em menor número, estando presente em nove, seis, e quatro das 100 amostras positivas. Somente um equino teve reatividade ao sv Australis (Tabela 1).

A titulação predominante entre os 10 sorovares encontrados foi a de 1:100 (48,6%), seguida pela de 1:200 (33%) (Tabela 1).

Foi observada uma alta correlação entre soropositividade e idade ($\chi^2 = 32,56$, $p = \leq 0,001$) (Tabela 2). O grupo de animais menores que dois anos di-

feriram significativamente dos demais grupos, onde se observaram valores $\chi^2 = 12,59$, $p = 0,0003$ em relação a animais de três anos, $\chi^2 = 23$, $p = \leq 0,001$ para animais entre cinco e 10 anos e, $\chi^2 = 8,64$, $p = 0,003$ para maiores que 10 anos (Tabela 2).

Não houve diferença significativa associada ao sexo ($\chi^2 = 2,47$; $p = 0,11$), sendo observados 78,57 e 63,6% de positividade para as fêmeas e machos respectivamente.

Tabela 2. Distribuição de sororeatividade entre os grupos de idade.

Idade (anos)	Amostras		Frequência
	Número	Positivas	
≤ 2	31	11	35,50
3	20	18	90,00
4	15	10	66,60
≥ 5 < 10	35	33	94,30
≥ 10	38	28	73,70
Total	139	100	

DISCUSSÃO

Diversos estudos tem relatado a ocorrência de leptospirose no rebanho equino no Brasil. As taxas de incidência variam de acordo com a região do país, sendo encontrado índices que variam de 5,9% em Minas Gerais (Chiareli et al. 2008) a 53,8% no Rio de Janeiro (Braga et al. 2011). A incidência encontrada neste estudo (71,9%) demonstra uma exposição relativamente alta à sorovares de *Leptospira* nos animais avaliados. Contudo, deve-se levar em consideração que as amostras foram classificadas como positivas quando reagentes a uma diluição de 1:100, seguindo critério utilizado pelo laboratório onde as amostras foram analisadas. Títulos ≥ 100 ao MAT são considerados suficientes para estabelecer o diagnóstico positivo para leptospirose (Lilenbaum 1998). Entretanto, Braga et al. (2011) consideraram positivas apenas amostras com títulos ≥ 200 em estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro. O critério adotado nesta pesquisa serviria para descartar reações cruzadas nas amostras uma vez que, a leptospirose equina é considerada endêmica nessa região.

O ambiente exerce um papel fundamental na epidemiologia da leptospirose possibilitando que um mesmo animal tenha contato com diferentes sorovares apresentando assim, variação em sua titulação. A microrregião de Itaguaí possui clima quente e úmido no verão e, inverno pouco pronunciado com temperaturas médias de 24°C e precipitação anual de 1.300 mm. Com exceção de algumas áreas serranas, o relevo predominante é composto de grandes baixadas, onde



Figura 1. Distribuição de amostras reagentes a um ou mais sorovares de equídeos da microrregião de Itaguaí, RJ.

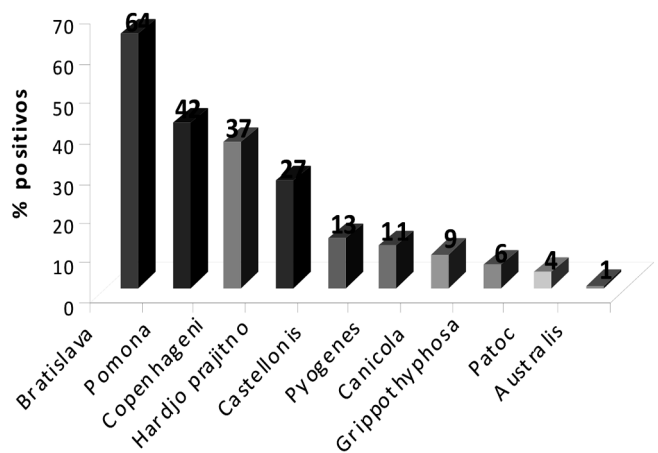


Figura 2. Percentual de equídeos reagentes entre os sorovares de *Leptospira* na microrregião de Itaguaí, RJ.

a composição do solo possibilita o seu encharcamento por longos períodos de tempo, além de o município abrigar uma grande parte do Aquífero de Piranema, com cerca de 180 Km² de extensão (Pereira, 2011). Todas essas características de relevo e clima juntamente ao contato com outras espécies domésticas e silvestres contribuem para a sobrevivência dos svS de *Leptospira* no ambiente, onde os equinos vivem e permitem que esses entrem em contato e elevem a incidência de anticorpos contra *Leptospira*. Nesta região são comuns pequenas criações de bovinos e suínos no mesmo pasto que equinos, além disso, é possível observar cães e animais silvestres como gambás (*Didelphis aurita*) e gatos-do-mato (*Leopardus tigrinus*) nos pastos onde esses animais são criados.

O sv de maior prevalência em estudos com equinos no Brasil tem sido o Icterohaemorrhagiae (Langoni et al. 2004, Braga et al. 2011), o qual está associado a roedores sinantrópicos. Este sorovar não foi encontrado em nenhuma das amostras avaliadas, este fato pode estar relacionado ao sistema de criação extensivo empregado, sendo apenas oito animais criados em baias.

O sv Bratislava foi o que obteve maior frequência neste estudo (62,0%). Ellis et al. (1983) sugeriram que a alta prevalência do Bratislava em equinos com distúrbios reprodutivos indicaria que estes animais poderiam ser hospedeiros adaptados a este sv. Pinna et al. (2010) encontraram 58,6% de soroprevalência para o sv Bratislava em éguas com problemas reprodutivos.

No presente estudo, sv Pomona foi observado em 42,0% das amostras positivas, sendo o único sorovar com títulos altos, 1:800 e 1:3200 em três e dois animais respectivamente.

O sv Pomona tem como hospedeiros de manutenção suínos e gambás, a presença de anticorpos contra este sorovar está relacionada à proximidade de gambás no local onde os animais se encontram. Este sorovar tem sido relacionado a vários casos de abortamento em equinos. Poonacha et al. (1993) detectaram anticorpos para *Leptospira* em 47 fetos abortados, destes 40 foram reativos ao sv Pomona. O mesmo foi encontrado por Donahue et al. (1991), de 14 casos de fetos abortados positivos para leptospirose, 12 foram reagentes para sv Pomona. A maioria dos animais deste estudo fez parte de um programa de reprodução assistida, assim a presença deste sorovar na população é de extrema importância para se evitar a ocorrência de problemas reprodutivos devido a sorovares de *Leptospira*.

Ratos e pequenos marsupiais, como gambás possuem papel importante na transmissão de alguns sorovares de *Leptospira*, como é o caso dos svS Copenhageni e Grippytyphosa (OIE, 2011). A participação destes dois svS neste estudo provavelmente está relacionada a um ou ambos hospedeiros de manutenção entre a criação.

O sv Hadjo prajitno tem como hospedeiro natural bovino (Figueiredo 2007). Este sorovar foi diagnosticado em 27 amostras e sua presença pode ser atribuída ao contato entre os equídeos do estudo e bovinos que por vezes são alocados no mesmo pasto.

O contato com a leptospirose normalmente se dá quando o animal ainda é jovem e a prevalência aumenta conforme o animal torna-se mais velho (Levett 2001). No presente estudo, a faixa de idade dos animais variou dos nove meses até 25 anos. Ficou evidente que animais menores que dois anos apresentaram os menores índices de positividade (11/31) com diferença significativa dos demais grupos de idade. Jung et al. (2009) não relataram diferença significativa entre positividade à leptospirose e idade, os autores atribuem esta relação pelo fato dos animais avaliados serem menores que sete anos. Neste trabalho também não se observou correlação entre sexo e a ocorrência de leptospirose, a mesma observação também não foi verificada neste estudo, onde não houve correlação entre as variáveis, sexo e reatividade ao MAT.

CONCLUSÃO

A alta incidência de animais reagentes aos svS de *Leptospira* revela a importância da elaboração de um programa de controle sanitário para os animais, seguido de exames periódicos dos mesmos.

Agradecimentos. Ao Instituto Biológico de São Paulo pela realização dos testes e a Capes pela concessão da bolsa de auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Braga J., Hamond C., Martins G., Abreu R.N. & Lilenbaum W. Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar Icterohaemorrhagiae in Rio de Janeiro, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, 31:147-150, 2011.
- Chiareli D., Moreira E.C., Gutierrez H.D.O., Rodrigues R.O., Marcelino A.P., Meneses J.C.N. & Almeida V.M.A. Frequência de aglutininas anti *Leptospira interrogans* em equídeos em Minas Gerais, 2003 a 2004. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60:1576-1579, 2008.
- Ellis W.A., O'Brien J.J., Cassells J.A. & Montgomery J. Lep-

- tospiral infection in horses in Northern Ireland: Serological and microbiological findings. *Equine Vet. J.*, 15:317-320, 1983.
- Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. *Leptospira* and Leptospirosis. 2nd ed. MedSci, Melbourne, 2000.
- Faveiro A.C.M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Ferreira F. & Ferreira Neto J.S. Sorovares de *Leptospiras* predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Cienc. Rur.*, 32:613-619, 2002.
- OFFICE INTERNACIONAL DES EPIZOOTIES. OIE, Collaborating Centre for Reference and Research on Leptospirosis. Disponível em: <<http://health.qld.gov.au/qhcss/lepto.asp>>. Acesso em 1 Ago 2011.
- Hodgin E.C., Miller D.A. & Lozano F. *Leptospira* abortion in horses. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 1:283-287, 1989.
- Langoni H., da Silva A.V., Pezerico S.B. & de Lima V.Y.J. Anti-*Leptospira* agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás, and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. *J. Venom. Anim. Tox. Trop. Dis.*, 10:207-218, 2004.
- Levett P.N. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Revs.*, 14:296-326, 2001.
- Lilenbaum W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro (1993-1996). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 35:61-63, 1998.
- Pereira J.A.R. Plano diretor agrícola municipal de Seropédica. Disponível em: <www.portalseropedica.com.br>. Acesso em: 18 Jul 2011.
- Pinna M., Martins G., Freire I. & Lilenbaum W. Seropositivity to *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associated to reproductive problems without significant biochemical or hematological alterations in horses. *Cienc. Rur.*, 10:2214-2217, 2010.
- Poonacha K.B., Donahue J.M., Giles R.C., Hongc B., Petrites-Murphy M.B., Smith B.J., Swerczek T.W., Tramontin, R.R., Tuttle P.A. Leptospirosis in equine fetuses, stillborn foals and placentas. *Vet. Pathol.*, 30:362-369, 1993.