

Prevalência de Anticorpos para *Leptospira* Spp. em Equinos não Vacinados na Região Norte do Estado do Paraná

Prevalence of Antibodies for *Leptospira* Spp. in Non-Vaccinated Horses In the North of the State of Paraná

Priscila Simões Viotto

José Henrique Cavicchioli*

Júlio César de Freitas**

Luiz César da Silva*

Luiz Álvaro Leuzzi Júnior*

Werner Okano*

Aline Tramontini Zanluchi*

Fabiola Cristine de A. R. Grecco*

* Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

** Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Resumo

A leptospirose equina é uma zoonose que se manifesta por distúrbios reprodutivos como o aborto. Foi estudada a prevalência de anticorpos para leptospirose em equinos na Região Norte do Paraná por meio da Soroaglutinação Microscópica utilizando-se 22 sorovares. Títulos iguais ou superiores a 1/100 foram considerados positivos. Dos 102 soros sanguíneos testados, 70 (68,6%) reagiram a um ou mais sorovares enquanto 32 (31,4%) foram negativos. O sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi o sorovar mais provável em 37 (52,8%) dos animais positivos, seguidos por *Pyrogenes* 07 (10,0%), *Autumnalis* 03 (4,3%), *Cynopteri* 02 (2,8%), *Hardjo* 01 (1,4%) e *Hebdomadis* 1 (1,4%).

Palavras-chave: Equino. *Leptospira* spp. Leptospirose e sorovares.

Abstract

*Equine leptospirosis is a zoonosis that produces reproductive disorders such as abortion. The prevalence of antibodies for leptospirosis was studied in equine in the North of Paraná State (Brazil) by microscopic serum agglutination using 22 serovars. Titles of antibodies equal or higher than 1: 100 were considered positive. One hundred and two serum samples were tested, 70 (68.6%) were positive for one or more serovars, whereas 32 (31.4%) were negative. The *L. serovar Icterohaemorrhagiae* was the most probable serovar in 37 (52.8%) animals, followed by *Pyrogenes* 7 (10.0%), *Autumnalis* 3 (4.3%), *Cynopteri* 2 (2.8%), *Hardjo* 1 (1.4%) and *Hebdomadis* 1 (1.4%).*

Key-words: Equine. *Leptospira* spp. Leptospirosis and serovares.

1 Introdução

As zoonoses são importantes para a saúde humana e animal e a sua prevenção e controle é preocupação da saúde pública. Para montarmos estratégias efetivas para combater zoonoses precisamos reconhecer, estudar e entender os fatores de risco que promovem a introdução, perpetuação e transmissão destas doenças (SCHWABE, 1984).

A Leptospirose é uma zoonose grave causada pela infecção por *Leptospira interrogans* que ocorre em humanos e animais em todo o mundo (FAINE, 1999).

As leptospirosas são espiroquetas com morfologia e fisiologia bastante uniformes. Contudo, os aspectos ligados a sorologia e epidemiologia são complexos. Os animais domésticos mais acometidos são cães, bovinos, suínos e eqüinos (LEVETT, 2001).

Aparentemente, todos os filhotes de mamíferos e marsupiais são susceptíveis a Leptospirose antes e depois do nascimento, desde que eles não sejam protegidos pelas imunoglobulinas específicas maternas passivamente transferidas pela placenta e pelo colostro (FAINE, 1999). E, de acordo com Levett (2001), as leptospirosas são classificadas pela composição antigênica em 23 sorogrupos e mais de 200 sorotipos (sorovares).

Geralmente cada sorovar é enzoótico a um ou mais

hospedeiros na vida selvagem, o qual é responsável pela sobrevivência e transmissão do agente, tornando os animais selvagens portadores a longo prazo. Qualquer mamífero pode ser infectado por qualquer sorovar e o sorovar pode se adaptar e infectar uma ou mais espécies animais em cada região em particular (BARLOUGH, 1988).

Primeiramente, os reservatórios são os mamíferos da vida selvagem, particularmente os roedores e animais portadores e infectados cronicamente (BARLOUGH, 1988; FAINE, 1999).

A transmissão ocorre pelo contato de mucosas ou pele com água, fômites ou alimentos contaminados com urina. Outras fontes de contaminações são o leite de vacas infectadas de forma aguda e excreções genitais de bovinos e suínos de ambos os sexos (LEVETT, 2001).

Por meio dos rins, a leptospira é excretada na urina e contamina o solo, as águas subterrâneas, os rios e lagos. As infecções de animais e humanos ocorrem por meio da inoculação direta da urina ou indireta da água contaminada (FAINE, 1999). O primeiro relato da ocorrência de Leptospirose em eqüinos foi publicado na Rússia em 1947 (LEES; GALE, 1994).

A leptospirose no eqüino é uma doença de importância considerável em países onde cavalos ainda são usados como uma fonte principal de trabalho e transporte. O aumento da criação de cavalos também tem crescido

em importância devido a demanda para uso no lazer e esportes (MYERS, 1976).

Existem evidências que equinos expostos a *Leptospira interrogans* são fontes de infecção para os humanos. Os equinos podem adquirir a leptospirose da urina de roedores, cães, porcos, bovinos ou outros animais domésticos e excretar a leptospira viável na urina durante 14 semanas. Essa eliminação prolongada da leptospira permite que estes animais tenham o papel de reservatório para a transmissão dessa enfermidade a outros animais ou ao homem (ELLIS *et al.*, 1983; MYERS, 1976).

Éguas prenhes também podem ter leptospirose localizada no útero, placenta e, subsequentemente, no feto, resultando em morte do feto. Os abortos equinos são mais associados com a infecção por *Leptospira Pomona*. O cavalo provavelmente é um hospedeiro acidental. A *Leptospira Bratislava* pode existir no equino sem causar doença e o mesmo provavelmente é o hospedeiro de manutenção para o organismo (FAINE, 1999). Na espécie equina, os sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentemente encontrados são Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Australis, Pyrogenes, Tarassovi, Butembo, Ballum e Autumnalis (SWART; CALVERT; MENEY, 1982).

Nos equinos, os sinais clínicos mais visíveis da leptospirose são: febre moderada acompanhada de anorexia. Nos casos mais graves, expansão da conjuntiva, aparecimento de petéquias nas mucosas, hemoglobinúria, anemia, icterícia, depressão e fraqueza durando de 5 a 18 dias. Neonatos infectados no útero podem apresentar severos sinais clínicos e virem a óbito. De 2 a 8 meses depois do início da infecção, alguns equinos (45%) podem desenvolver oftalmia periódica, inflamação da íris, uveíte e cegueira noturna (FAINE, 1999).

No tratamento desta patologia pode-se fazer o uso da estreptomicina, tetraciclina, a combinação de estreptomicina com ampicilina ou altas doses de penicilina G (benzil penicilina). (FAINE, 1999; HIRSH; ZEE, 2003).

A prevenção da mesma pode ser feita por meio da vacinação semestral ou anual (HIRSH; ZEE, 2003). As vacinas devem consequentemente conter os mesmos sorovares presentes nas populações a serem imunizadas, daí a importância da realização de levantamentos sorológicos com o intuito de se conhecer a prevalência dos sorovares em determinadas espécies animais e região (LEVETT, 2001).

Diante do exposto o objetivo do presente estudo é identificar a soroprevalência para *Leptospira* spp. em equinos não vacinados da Região Norte do Estado do Paraná.

2 Material e Métodos

Foram colhidas amostras sanguíneas de 102 equinos, machos e fêmeas, adultos, durante os meses de Janeiro

e Fevereiro de 2007, em 4 propriedades rurais diferentes da Região Norte do Estado do Paraná.

Nenhum desses animais tinha histórico de vacinação para leptospirose, bem como não apresentavam sinais clínicos compatíveis com a leptospirose. As amostras foram colhidas em tubos *vacutainer*[™] sem anticoagulante por punção da veia jugular. As amostras foram mantidas por 24 horas em repouso, em temperatura ambiente, para a extração de soro sanguíneo.

Após a extração do soro, as amostras foram mantidas em recipientes estéreis e armazenadas a -20°C até a realização do teste de soroprecipitação microscópica (MAT), no laboratório de Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina - UEL.

Todos os soros foram testados para os 22 sorovares existentes: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Fortbragg, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynoptery, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenha-geni, Icterohaemorrhagiae, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani, Tarassovi e Sentot. Os antígenos utilizados para o MAT são culturas mantidas entre 5 e 10 dias a 28°C em meio de Ellighausen (EMJH) enriquecido com soro de coelho.

Os soros que apresentaram a aglutinação igual ou maior na diluição de 1:100 foram considerados positivos. A análise dos resultados considerou como o sorovar mais provável aquele que apresentou o título mais alto (FAINE, 1999).

3 Resultados e Discussão

A tabela 01 descreve a distribuição dos resultados obtidos no exame de soroprecipitação microscópica para diferentes sorovares de *Leptospira* spp. em equinos situados em 4 propriedades do Município de Arapongas, Região Norte do Estado do Paraná. 2007.

A tabela 02 apresenta a relação dos sorovares para *Leptospira* spp. mais prováveis encontrados em equinos não vacinados na Região Norte do Estado do Paraná pela prova da soroprecipitação microscópica. Arapongas, 2007.

Dos 102 equinos avaliados, 70 (68,6%) foram considerados positivos enquanto 32 (31,4%) foram considerados negativos. Os considerados positivos apresentaram títulos entre 100 e 400 para um ou mais sorovares (tabela 1).

Entre os animais que apresentaram as reações positivas, 34 apresentaram anticorpos para um sorovar e 36 apresentaram anticorpos para 2 ou mais sorovares, onde em 49 reações foi possível caracterizar o sorovar mais provável (tabela 2).

O sorovar Icterohaemorrhagiae foi o sorovar mais provável em 35 (71,4%) dos 49 animais onde foi possível determinar o sorovar mais provável, seguidos por Pyrogenes em 07 (14,3%), Autumnalis em 03 (6,1%), Cynoptery em 02 (4,0%), Hardjo em 01 (2,1%) e Hebdomadis em 1 (2,1%) (tabela 2).

Tabela 01. Resultados – Soroaglutinação Microscópia

Propriedade	N° Animais	Reagentes	Sorovar	Títulos
A	27	08	Icterohaemorrhagiae	100
		04	Icterohaemorrhagiae	200
		13	Pyrogenes	100
		06	Autumnalis	100
		01	Autumnalis	400
		05	Hardjo	100
		02	Hebdomadis	100
		03	Copenhageni	100
B	25	09	Icterohaemorrhagiae	100
		05	Icterohaemorrhagiae	200
		04	Icterohaemorrhagiae	400
		02	Pyrogenes	100
		06	Autumnalis	100
		01	Hardjo	100
		03	Hebdomadis	100
		04	Copenhageni	100
		01	Copenhageni	200
		01	Cynopteri	200
		01	Cynopteri	400
C	25	09	Icterohaemorrhagiae	100
		03	Icterohaemorrhagiae	200
		03	Pyrogenes	100
		03	Autumnalis	100
		02	Hardjo	200
		01	Hebdomadis	100
		05	Copenhageni	100
D	25	01	Icterohaemorrhagiae	100
		04	Icterohaemorrhagiae	200
		01	Icterohaemorrhagiae	400
		05	Pyrogenes	100
		04	Autumnalis	100
		03	Hardjo	100
		02	Hebdomadis	100
		02	Copenhageni	100
		01	Cynopteri	100
TOTAL	100			100 / 400

Tabela 2. Relação dos sorovares para *Leptospira* spp

Sorovar	N° de Animais	%
Icterohaemorrhagiae	35	71,4
Pyrogenes	7	14,3
Autumnalis	3	6,1
Cynopteri	2	4
Hardjo	1	2,1
Hebdomadis	1	2,1
TOTAL	49	100

Os títulos obtidos pelo sorovar Icterohaemorrhagiae foram de 100 a 400, Pyrogenes 100, Autumnalis 100 a 400, Copenhageni 100 a 200, Hardjo 100, Hebdomadis 100 e Cynopteri de 100 a 400 (tabela 1).

A prevalência encontrada neste estudo foi de 68,6%. Este resultado indica uma grande ocorrência da bactéria nos animais testados pois de acordo com Linhares *et al.* (2005), em sua revisão foram encontrados resultados positivos que variavam de 4,53% a 37,9% no Estado de São Paulo, 9,6% em equinos procedentes de Minas Gerais, São Paulo e Paraná; 14,4% para Goiás, aproximadamente 27% para Minas Gerais, de 37,58% para equinos no Rio Grande do Sul, e 38% a 72% em diferentes municípios do Estado do Pará. Os trabalhos acima demonstram diferenças na prevalência dos sorovares encontrados em cada uma das regiões estudadas, isto é uma evidência da diversidade epidemiológica da leptospirose dentro das espécies e das regiões.

De acordo com Swart; Calvert e Menev (1982) na espécie eqüina, os sorovares de *Leptospira* spp. mais freqüentemente encontrados são Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Australis, Pyrogenes, Tarassovi, Butembo, Ballum e Autumnalis.

Lees e Gale (1994) no Canadá, obtiveram o sorovar Autumnalis como o mais encontrado nos equinos e de acordo com Ellis *et al.* (1983) o bovino foi o responsável pela transmissão desse sorovar ao eqüino resultado não obtidos em nosso trabalho.

De acordo com Lester e Lefebvre (2003), os sorovares Pomona, Bratislava e Grippotyphosa são os mais encontrados em eqüinos mas anticorpos para estes sorovares não foram encontrados em nenhuma amostra dos animais neste trabalho.

Na região de Londrina, de acordo com Hashimoto *et al.* (2007), em um estudo envolvendo soros de 320 cavalos testados, 214 (66,68%) foram considerados positivos e este resultado é semelhantes ao obtidos em nesse trabalho.

Pires Neto; Hesse e Oliveira (2005), Lilienbaum (1998) e Fávero; Pinheiro e Vasconcelos (2002) Hashimoto *et al.* (2007) apontam o sorovar Icterohaemorrhagiae como sendo de maior freqüência em eqüinos; seguidos por Pyrogenes, Autumnalis, Cynopteri, Hardjo e Hebdomadis. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, o sorovar Icterohaemorrhagiae também foi o sorovar mais provável.

4 Conclusão

A leptospirose é uma zoonose endêmica em equinos nas quatro propriedades estudadas da Região Norte do Estado do Paraná. Foram encontrados anticorpos para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Autumnalis, Cynopteri, Hardjo e Hebdomadis.

Referências

BARLOUGH, J. E. Leptospirosis. In: BOOTHE, D. M.; LEES, G. E. *Manual of small animal infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1988. p. 143 – 151.

ELLIS, W.A. et al. Leptospiral infection in horses in

Northern Ireland: serological and microbiological findings. *Equine Veterinary Journal*, v. 15, n. 4, out. 1983, p.317 – 320.

FAINE, S. *Leptospira and leptospirosis*. Australia: MediSci, 1999.

FÁVERO, A. C. M; PINHEIRO, S. R; VASCON-CELLOS, S. A; Sorovares de leptospiroses predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães em diversos estados brasileiros. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 613-19, 2002.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y. C. Leptospiroses. In: LEFEBVRE, R. B. *Microbiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 174-177.

HASHIMOTO, V. Y. et al. Ocorrência de anticorpos against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v.49, n. 5, p. 327-330, 2007.

LEES, V.W.; GALE, S.P. Titers to *leptospira* species in horses in Alberta. *Canadian Veterinary Journal*, v.35, n.10, p. 636 - 640, oct. 1994.

LESTER, J.W; LEFEBVRE, R.B. Detection of leptospira interrogans. *Methods in Molecular Biology*, n. 216, p. 193-200, 2003

LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, n.2, p.296-326, abr. 2001.

LILLENBAUM, W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brazil (1993-1996). *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v. 35, n. 2, 1998. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-9596199800200002&script=sci>>. Acesso em: 20 set. 2008.

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 – 258, dez. 2005.

MYERS, D.M. Serological studies and isolations of serotype hardjo and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. *Journal of Clinical Microbiology*, v.3. p.548 - 555, 1976.

PIRES NETO, J. A. S.; HESSE, F.; OLIVEIRA, M. A. M. Leptospirose eqüina: aspectos clínicos, tratamento, prevenção e levantamento sorológico. *Revista Veterinária em Foco*, São Paulo. v. 2, n.2, p.172 – 173, 2005.

SCHWABE, C. W. Zoonoses. *Veterinary medicine and human health*. 3.ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984.

SWART, K.S.; CALVERT, K.; MENEV, C. The prevalence of antibodies to serovars of *Leptospira interrogans* in horses. *Australian Veterinary Journal*, p.25 - 27, 1982.

Priscila Simões Viotto

Médica Veterinária Autônoma.

e-mail: <viotto@londrina.net>

José Henrique Cavicchioli

Mestrado Ciência Animal. Docente de Clínica Médica de Equinos da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <zequinha@sercomtel.com.br>

Júlio César de Freitas

Doutorado em Microbiologia - Instituto Liebig Universitat - Alemanha. Docente do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Londrina - (UEL).

e-mail: <freitasj@uel.br >

Luiz César da Silva*

Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada as Zoonoses – Universidade de São Paulo (USP). Docente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Norte do Paraná - UNOPAR.

e-mail: <luizcesarsilva@hotmail.com>

Luiz Álvaro Leuzzi Júnior

Mestrado em Sanidade Animal - Universidade Estadual de Londrina - UEL. Docente do cursos de Medicina Veterinária da Universidade Norte do Paraná - UNOPAR.

e-mail: <aleuzzi@hotmail.com>

Werner Okano

Doutorado em Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho (UNESP). Coordenador do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <vetwerner@gmail.com>

Aline Tramontini Zanluchi

Mestrado em Ciência Animal - Universidade Estadual de Londrina (UEL). Docente da Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <aline.zanluchi@unopar.br>

Fabiola Cristine de Almeida Rego Grecco

Doutorado em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá (UEM). Docente do Curso de Medicina Veterinária - Universidade Norte do Paraná (UNOPAR).

e-mail: <fabiola_rego@yahoo.com.br>

*** Endereço para correspondência:**

Rua Ernesto Campaner, 340. Jardim Sta. Monica. CEP. 86600-000 – Rolândia, Paraná, Brasil.
