

SOROVARES DE *Leptospira interrogans* E RESPECTIVAS PREVALÊNCIAS EM CAVALOS DA MICRORREGIÃO DE GOIÂNIA, GO

GUIDO FONTGALLAND COELHO LINHARES,¹ RAUL JOSÉ SILVA GIRIO,² DANIEL CORREIA LIMA LINHARES,³ LETÍCIA CALDAS MONDEIRO³ E ANA PAULA ÁZARA DE OLIVEIRA³

1. Professor – Escola de Veterinária/UFG. Goiânia, GO, Cx. Postal 131, CEP: 74001-970

2. Professor – FCAVJ/UNESP – Jaboticabal, SP.

3. Bolsista PIBIC-EV/UFG; Goiânia-GO.

RESUMO

A leptospirose eqüina é uma doença infecciosa que se manifesta, principalmente, por uveíte recorrente, abortos e outros distúrbios reprodutivos, podendo ser transmitida acidentalmente ao homem. O presente trabalho teve como objetivo identificar os sorovares do complexo *Leptospira interrogans* e estudar a sua prevalência em cavalos da microrregião de Goiânia. Para a pesquisa foram utilizadas 182 amostras de soro, colhidas conforme delineamento estatístico. As amostras foram submetidas à pesquisa de anticorpos específicos através da prova de soroaglutinação microscópica, utilizando-se antígenos vivos cultivados em meio EMJH, enriquecido com 10% de

soro de coelho, referentes aos seguintes sorovares: *australis*, *autumnalis*, *ballum*, *bataviae*, *butembo*, *canicola*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *javanica*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *whitcombi* e *wolffi*. Considerou-se amostra positiva aquela que apresentou aglutinação igual ou superior a 1/100. Dos 182 soros sanguíneos analisados, 82 (45,05%) foram reagentes a um ou mais sorovares de *Leptospira interrogans* e 100 (54,95%) foram negativos. Dentre os soros reagentes, 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*.

PALAVRAS-CHAVE: Cavalos, *leptospira interrogans*, leptospirose, soroprevalência, sorovares, teste de soroaglutinação microscópica.

ABSTRACT

Leptospira interrogans SEROVARS AND THEIR PREVALENCES IN HORSES FROM THE MICROREGION OF GOIÂNIA, STATE OF GOIÁS, BRAZIL

Equine leptospirosis is an infectious disease that is characterized mainly by recurrent uveitis, abortion and other reproductive disorders, which may be accidentally transmitted to man. This study was conducted in an attempt to identify the serovars of the *Leptospira interrogans* complex and to evaluate their prevalence in horse herds in the Microregion of Goiânia. For this purpose it was collected 182 serum samples, as determined by statistical method. The samples were submitted to the microscopic agglutination test for the detection of specific antibodies. As antigens it was used live organisms maintained in a 10% rabbit enriched EMJH media of each of the following serovars: *australis*, *autumnalis*, *ballum*, *bataviae*,

butembo, *canicola*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *javanica*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *whitcombi* and *wolffi*. The result was considered positive whenever the agglutination occurred at the minimum serum dilution of 1:100. 82 (45.05%) out of 182 serum samples reacted positively for at least one serovar of *Leptospira interrogans* and 100 samples (54.95%) were negative. Among the positive samples, 56 (68.29%) were identified as *icterohaemorrhagiae* serovar, 11 (13.41%) as *pomona*, 7 (8.53%) as *wolffi*, 5 (6.09%) as *hardjo* and 3 (3.65%) as *canicola* serovar.

KEYWORDS: Horses, leptospirosis, *leptospira interrogans*, microscopic agglutination test, seroprevalence, serovars.

INTRODUÇÃO

Leptospira é uma espiroqueta aeróbica, Gram-negativa, com estrutura helicoidal apresentando gancho em uma ou ambas 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 que ocorre como doença primária de animais domésticos e silvestres. O homem é considerado hospedeiro acidental (KRIEG & HOLT, 1984).

A leptospirose equina é uma enfermidade de cavalos, 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).

CORRÊA et al. (1957) confirmaram a ocorrência de infecções por leptospirosas em cavalos no Brasil, em estudo sorológico sobre a prevalência em animais do exército, no Estado de São Paulo. Como resultado, registraram uma taxa de 16,9% de soropositividade através da técnica de soroaglutinação microscópica, em que 35% dos animais foram positivos para o sorovar *australis*, 30% para *icterohaemorrhagiae* e *sejroe*, 20% para *canicola*, 10% para *grippityphosa* e 5% para *pomona*.

A partir deste estudo, trabalhos sucessivos têm sido desenvolvidos sobre o tema no Brasil (nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul e Pará), os quais têm reportado como mais frequentes os seguintes sorotipos: *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *wolffi*, *hardjo*, *canicola*, *australis*, *autumnalis*, *ballum*, *bataviae*, *grippityphosa*, *javanica*, *panama*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *castelloni*, *hebdomadis*, *sejroe*, *bratislava* e *butembo* (CORRÊA et al., 1957; FREITAS et al., 1960; BARBOSA, 1962; SANTA ROSA et al., 1968; SILVA et al., 1972; CORDEIRO et al., 1974; TERUYA et al., 1974; JARDIM et al., 1978; GIORGI et al., 1981; ABUCHAIM, 1991; MOLNAR et al., 2001).

No Estado de Goiás, JARDIM et al. (1978) estudaram a prevalência da enfermidade em equinos de campos, procedentes de vários municípios, e relataram uma taxa de 14,4% de cavalos positivos pela técnica de soroaglutinação microscópica, sendo que, entre os positivos, a frequência foi de 72% para o sorovar *grippityphosa*, 15% para *wolffi*, 9% para *ballum* e 4% para *australis*. Neste estudo não foram avaliados outros sorovares.

O presente trabalho trata de alguns aspectos sobre a etiologia e a epidemiologia da leptospirose equina na Microrregião de Goiânia, verificando-se sua prevalência na população-alvo e avaliando-se a ocorrência dos seguintes sorovares do complexo *Leptospira interrogans*: *australis*, *autumnalis*, *ballum*, *bataviae*, *butembo*, *canicola*, *grippityphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *javanica*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *whitcombi* e *wolffi*.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido na microrregião de Goiânia, Estado de Goiás, onde prevalecem as características fisiográficas do cerrado.

O tamanho da amostra foi definido de acordo com metodologia do CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSES (1973), atribuindo-se os valores de 95% para o grau de confiança, 10% para o erro admitido e uma prevalência esperada de 50%.

Através de um mapa, a Microrregião de Goiânia foi dividida em 95 gradantes de 100 Km², conforme LINHARES (1994). Para a colheita das amostras foram sorteados 48 quadrantes (50,5% da área total). Para cada um destes quadrantes selecionou-se uma propriedade rural de criação de cavalos no sistema extensivo ou semi-extensivo.

Foi colhido um total de 182 amostras de sangue sem anticoagulante, por punção da veia jugular, em tubos de vidro de 15 ml. Após, aproximadamente, duas horas de repouso, as amostras foram centrifugadas (3.000 rpm por 5 minutos) para a separação do soro e mantidas a -20 °C por um período máximo de dois meses, até a realização das provas sorológicas.

Os soros sanguíneos foram submetidos à pes-

quisa de aglutininas contra 16 sorovares do complexo *Leptospira interrogans*, através da prova de aglutinação microscópica, em diluições crescentes de 1:100 até 1:3200, considerando-se como resultado positivo as aglutinações iguais ou superiores a 1:100, conforme protocolo de SANTA ROSA (1970). Em casos de coaglutinação, adotou-se como critério de positividade o sorovar para o qual se obteve o maior título sorológico.

Como antígenos, empregaram-se amostras vivas, cultivadas em meio EMJH (Difco), enriquecido com 10% de soro estéril de coelho, inativado à temperatura de 56° C por 40 minutos. O meio completo foi previamente submetido aos controles de esterilidade e de crescimento, conforme SANTA ROSA (1970). Os soros sanguíneos dos equinos foram testados contra os seguintes sorovares de *Leptospira interrogans*: *australis*, *autumnalis*, *ballum*, *bataviae*, *butembo*, *canicola*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *javanica*, *panama*, *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *whitcombi* e *wolffi*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os sorovares empregados como antígenos neste estudo foram escolhidos entre aqueles apon-

tados como os mais significativos para a espécie equina no Brasil (CORRÊA et al., 1957; FREITAS et al., 1960; BARBOSA, 1962; SANTA ROSA et al., 1968; SILVA et al., 1972; CORDEIRO et al., 1974; TERUYA et al., 1974; JARDIM et al., 1978; GIORGI et al., 1981; ABUCHAIM, 1991).

Dos 182 soros examinados pelo teste de soroaglutinação microscópica, 82 (45,05%) apresentaram reações positivas, com títulos iguais ou maiores que 1:100, enquanto que 100 (54,95%) foram negativos para todos os sorovares.

A Tabela 1 apresenta os dados relativos aos resultados das provas de soroaglutinação microscópica para os diferentes sorovares avaliados neste estudo e as frequências das reações positivas entre tais sorovares. Entre os 16 sorovares pesquisados neste experimento, apenas 5 foram detectados, sendo que, 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*. Nenhuma amostra foi positiva para os sorovares *australis*, *autumnalis*, *ballum*, *bataviae*, *butembo*, *grippotyphosa*, *javanica*, *panama*, *pyrogenes*, *tarassovi* e *whitcombi*.

TABELA 1. Distribuição da frequência de resultados positivos dos exames de soroaglutinação microscópica para diferentes sorovares de *Leptospira interrogans* em amostras de soros de cavalos da microrregião de Goiânia, GO.

Sorovares	Resultados e títulos sorológicos						Total	(%)
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200		
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	3	10	10	19	12	2	56	68,29
<i>Pomona</i>	2	4	5	-	-	-	11	13,41
<i>Wolffi</i>	1	5	1	-	-	-	7	8,54
<i>Hardjo</i>	2	2	1	-	-	-	5	6,10
<i>Canicola</i>	1	2	-	-	-	-	3	3,66
<i>Australis</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Autumnalis</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Ballum</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Bataviae</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Butembo</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Grippotyphosa</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Javanica</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Panama</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Pyrogenes</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Tarassovi</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
<i>Whitcombi</i>	-	-	-	-	-	-	0	0,00
Total	9	23	17	19	12	2	82	100,00

A prevalência geral encontrada neste estudo de 45,05%, independente do sorovar, foi superior às taxas relatadas previamente pela maioria dos demais autores no país, as 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 prevalências 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 eqüinos no Rio Grande do Sul. Em um trabalho recente, MOLNAR et al. (2001) obtiveram resultados de prevalência entre 38% a 72% em diferentes municípios do Estado do Pará, portanto mais próximos aos resultados deste estudo.

As diferenças verificadas entre os resultados obtidos neste trabalho e os demais publicados na literatura podem ser compreendidas, em parte, devido ao número e tipos de sorovares empregados para a avaliação sorológica. Outros fatores que poderiam influenciar a taxa de prevalência em diferentes regiões seriam o manejo higiênico-sanitário dos rebanhos, assim como o grau e o tipo de exposição a outros animais domésticos, silvestres ou roedores sinantrópicos que, reconhecidamente, interferem na epidemiologia dessa enfermidade, conforme destacado por BEER (1999).

Os sorovares *icterohaemorrhagie* e *pomona* foram os de maiores frequências entre os soros reagentes (68,29 e 13,41%, respectivamente). Resultados publicados por BARBOSA (1962), SANTA ROSA et al. (1968), SILVA et al. (1972) e ABUCHAIM (1991) já haviam reportado a importância desses dois sorovares para cavalos. O sorovar *canicola* também foi observado com frequência nos trabalhos de tais autores. Por outro lado, a frequência encontrada para os demais sorovares foi muito divergente.

A discussão desses resultados com aqueles publicados por JARDIM et al. (1978) para o Estado de Goiás ficou comprometida, uma vez que houve grande discrepância nos sorovares empregados nos dois estudos. O *icterohaemorrhagie*, que foi o

de maior frequência no presente estudo, não foi utilizado naquele. Quanto aos demais sorovares, verificou-se que, para o *wolffi*, os resultados foram próximos (9% para o primeiro e 6,09% para este) e que para *grippotyphosa*, *ballum* e *australis*, detectados com uma frequência de 72%, 9% e 4%, respectivamente, no trabalho de JARDIM et al. (1978), não foi detectada nenhuma amostra positiva neste trabalho.

CONCLUSÕES

A leptospirose eqüina é uma enfermidade endêmica nos rebanhos de eqüinos da microrregião de Goiânia, apresentando alta taxa de prevalência.

Como agente etiológico da leptospirose eqüina na microrregião de Goiânia, estão presentes os seguintes sorovares do complexo *Leptospira interrogans*: *icterohaemorrhagie*, *pomona*, *wolffi*, *hardjo* e *canicola*.

REFERÊNCIAS

- ABUCHAIM, D.M. Presença de aglutininas antileptospira em soro de eqüinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p. 9-14, 1991.
- BARBOSA, N. Aglutininas e lisinas anti-leptospira em soros de bovinos, eqüinos e suínos em Minas Gerais. **Arquivos da Escola de Veterinária**, v. 14, p. 1-26, 1962.
- BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1999. 394p.
- CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. **Procedimentos para estudios de prevalencia de enfermidades cronicas en el ganado**. Buenos Aires: Ramos Mejia, 1973. 33 p. (Nota Técnica nº 18)
- CORDEIRO, F.; RAMOS, A.A.R.; JÚNIOR, J.A.B. Aglutininas antileptospira em soros de eqüinos de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Série. Veterinária, v. 9, n. 1, p. 45-48, 1974.

CORRÊA, M.O.; NETO, V.A.; VERONESI, R.; FABBRI, S.O.A. Leptospiroses em eqüinos: inquérito sorológico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 186-193, 1957.

DIEDERICHSEN, W.M.E.; BARBOSA, M.; MOREIRA, E.C. **Alguns aspectos da infecção por leptospiras na América do Sul, em eqüinos**. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFMG, 1980. 15p. Apostila.

FREITAS, D.C.; GOMES, C.E.S.; LACERDA, J.P.G.; LIMA, F.P. Notas sobre leptospirose eqüina. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 27, p. 93-96, 1960.

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.

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

KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. v. 1. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. 964p.

LINHARES, G.F.C. **Aspectos biológicos e epidemiológicos das babesioses de eqüídeos, com ênfase a Microrregião de Goiânia, Goiás**. 1994, 130f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do RJ.

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.

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

SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. **Revista Microbiológica**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 97-109, 1970.

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.