

Denise Chiareli

**FREQÜÊNCIA DE AGLUTININAS ANTI-*Leptospira interrogans* EM
EQÜÍDEOS EM MINAS GERAIS, 2003/04**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Medicina Veterinária

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Élvio Carlos Moreira

**BELO HORIZONTE
ESCOLA DE VETERINÁRIA
2007**

C532f Chiareli, Denise, 1981-
Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em eqüídeos
em Minas Gerais, 2003/04 / Denise Chiareli. –2007.
40 p. :il.

Orientador: Élvio Carlos Moreira
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais,
Escola de Veterinária
Inclui Bibliografia

1. Eqüino – Doenças – Teses. 2. Leptospirose em animais – Teses.
3. *Leptospira* – Teses. 4. Aglutininas – Teses. I. Moreira, Élvio Carlos
II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária.
III. Título.

CDD – 636.108 96

Ao estimado Professor Élvio Carlos Moreira, mestre e amigo, que me acolheu, me ajudou nas horas mais difíceis e por todos os ensinamentos que vou levar comigo por toda minha vida e profissão. Graças a ele consegui alcançar este sonho que a cada dia vem se concretizando.

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos pais, Luiz e Vera, por serem exemplos de vida, dedicação e meu porto seguro.

Ao meu amor João Paulo, pelo amor, carinho, respeito, paciência e compreensão.

Aos meus queridos irmãos Carlos Eduardo e Luiz Gustavo por acreditarem em mim e por estarem sempre presentes mesmo nas horas mais difíceis.

Às minhas avós queridas e toda minha família, pelo apoio sempre.

Ao querido amigo Antônio Benjamin de Paula, 'Toninho', pela amizade, acolhida e por me ajudar na parte prática de minha pesquisa.

Ao amigo Geraldo, "Gêra", pela ajuda na tradução do resumo para o inglês.

Aos professores José Newton, José Ailton, Pedro Litgh por todos os ensinamentos.

Ao Professor João Paulo Amaral Haddad, pela ajuda na parte estatística deste trabalho.

Aos queridos amigos Andreza, Dani, Raquel, Mônica, Jader, Cássio, Bárbara, Elizângela, Bárbara Kellen, Eliane, Rogério e Oliver pela amizade.

Ao Instituto Mineiro de Agropecuária, por ceder o material para execução deste trabalho, em especial a Médica Veterinária Valéria Maria de Andrade.

Às Funcionárias, Nádia do DMVP, Lu, Nilda e Eliana do Colegiado da Pós-graduação que sempre me ajudaram quando necessitei.

Aos demais amigos que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho.

"A dúvida é o princípio da sabedoria".
Aristóteles

SUMÁRIO	
	RESUMO 9
	ABSTRACT 9
1 -	INTRODUÇÃO 10
2 -	LITERATURA CONSULTADA 11
3 -	MATERIAIS E MÉTODOS 13
3.1-	Localização..... 13
3.2-	Amostras de Soros Sangüíneos de Eqüídeos 17
3.3-	Prova Sorológica..... 18
3.4-	Base de Dados e Análise Estatística 19
4 -	RESULTADOS E DISCUSSÃO 19
5 -	CONCLUSÕES 39
6-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 39
LISTA DE TABELAS	
Tabela 1 -	Propriedades cadastradas, amostradas, e número de eqüídeos amostrados por estrato, em Minas Gerais, de setembro de 2003 a março de 2004 17
Tabela 2 -	Aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, Minas Gerais, setembro de 2003 a março de 2004 20
Tabela 3 -	Distribuição dos títulos positivos de soro de eqüídeos avaliados através da técnica de microaglutinação rápida em sorovariedades de <i>Leptospira interrogans</i> , Minas Gerais, 2003..... 22
Tabela 4 -	Freqüência de Aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, Minas Gerais, 2003-2004 23
Tabela 5 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Norte de Minas/Nordeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004 25
Tabela 6 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, setembro de 2003 a março de 2004 27
Tabela 7 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, na Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte, setembro de 2003 a março de 2004 28
Tabela 8 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Sul/Sudoeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004 29

Tabela 9 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Campo das Vertentes/Zona da Mata, setembro de 2003 a março de 2004.....	30
Tabela 10 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Vale do Mucuri/Jequitinhonha, setembro de 2003 a março de 2004	31
Tabela 11 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Vale do Rio Doce, setembro de 2003 a março de 2004.....	32
Tabela 12 -	Freqüência de Aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo sexo, Minas Gerais, 2003-2004	33
Tabela 13 -	Freqüência de Aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a espécie, Minas Gerais, 2003-2004	35
Tabela 14 -	Freqüência de Aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a raça, Minas Gerais, 2003-2004	36
Tabela 15 -	Freqüência de Aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a faixa etária, Minas Gerais, 2003-2004	37

LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1	Localização geográfica de Minas Gerais - Brasil	15
Figura 2	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, Minas Gerais, 2003-2004.....	25
Gráfico 1 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, Minas Gerais, setembro de 2003 a março de 2004	20
Gráfico 2 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, Minas Gerais, 2003-2004	23
Gráfico 3 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Norte de Minas/Nordeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004.....	27
Gráfico 4 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, setembro de 2003 a março de 2004.....	28
Gráfico 5 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, na Central Mineira/Oeste de Minas/Metropolitana de Belo Horizonte, setembro de 2003 a março de 2004	29

Gráfico 6 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Sul/Sudoeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004	30
Gráfico 7 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Campo das Vertentes/Zona da Mata, setembro de 2003 a março de 2004	31
Gráfico 8 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Vale do Mucuri/Jequitinhonha, setembro de 2003 a março de 2004	32
Gráfico 9 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, no Vale do Rio Doce, setembro de 2003 a março de 2004	33
Gráfico 10 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo sexo, Minas Gerais, 2003-2004	34
Gráfico 11 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a espécie, Minas Gerais, 2003-2004	35
Gráfico 12 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a raça, Minas Gerais, 2003-2004	36
Gráfico 13 -	Freqüência de aglutininas anti- <i>Leptospira interrogans</i> em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a faixa etária, Minas Gerais, 2003-2004	38

QUADRO

Quadro 1 -	Sorovarietades de <i>Leptospira sp</i> que foram utilizadas como antígenos no teste de Microaglutinação Rápida.....	18
------------	---	----

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi determinar a frequência e a distribuição espacial da infecção por *Leptospira interrogans* em eqüídeos em Minas Gerais de setembro de 2003 a março de 2004. Foram analisadas 6.475 amostras de soros sanguíneos pelo teste de microaglutinação rápida. Deste total, 381 soros foram reagentes positivos, equivalendo a 5,88%, com títulos iguais ou superiores a 1:200 para uma ou mais sorovariedades de leptospiros. As sorovariedades mais freqüentes foram hardjo (Norma), pomona, bratislava e batavie. A maior freqüência de eqüídeos reagentes ocorreu no estrato Norte de Minas/Noroeste de Minas, seguida por Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Central Mineira/Oeste de Minas/Metropolitana de Belo Horizonte e Sul/Sudoeste de Minas. A freqüência das sorovariedades variou nas diferentes regiões analisadas. As variáveis de sexo, espécies, raças e idades não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Palavras-chave: *Leptospira*, eqüídeos, freqüência, distribuição espacial.

ABSTRACT

The goal of this research is to find out the frequency and spatial distribution of infection caused by *Leptospira interrogans* in equidae in Minas Gerais from September 2003 to March 2004. It was analyzed 6475 samples of blood serum using microscopic agglutination test. From the total, 381 samples were positive reagent (5, 88%) with title equal or superior of 1:200 for one or more serovars of leptospira. The most frequent serovars were hardjo (Norma), pomona, bratislava and batavie. The higher frequency of equidae reagents happen at the North and North east portion of Minas Gerais, followed by the area of Minas Gerais called Triângulo Mineiro and Alto Paranaíba, then Central of Minas/West of Minas/Metropolitan area of Belo Horizonte and South/Southwest of Minas. The frequency of serovars changed among the regions. The variable of sex, species, breeds and age didn't show significant statistic difference.

Keywords: *Leptospira*, equidae, frequency, spatial distribution.

1 - INTRODUÇÃO

As leptospiroses são enfermidades transmissíveis entre animais vertebrados e o homem, amplamente difundidas e caracterizadas como doença febril aguda, causada por bactérias do gênero *Leptospira*. Representam importantes zoonoses que causam grandes problemas na saúde pública e prejuízo na criação de animais de produção. São doenças de distribuição geográfica cosmopolita, entretanto a sua ocorrência é favorecida pelas condições climáticas e ambientais existentes nas regiões de clima tropical e subtropical, aonde a elevada temperatura e os períodos do ano com altos índices pluviométricos, favorecem o aparecimento de surtos epidêmicos de caráter sazonal (Barcelos et al. 2003).

O gênero *Leptospira* é dividido em dois complexos. As leptospiroses não patogênicas de vida livre, designada *Leptospira biflexa*. O segundo complexo inclui microorganismos patogênicos para os animais domésticos, selvagens e também para humanos, designado *L. interrogans*. O complexo patogênico é ainda dividido em vários grupos de leptospiroses relacionadas chamadas sorogrupos. Dentro do sorogrupo estão as leptospiroses que compartilham componentes celulares, porém possuem constituintes antigênicos únicos próprios (Fainne et al., 1999).

Diversos animais vertebrados podem hospedar as leptospiroses, todavia os mamíferos domésticos são os que possuem maior significado epidemiológico. Nos ambientes urbanos os principais reservatórios são os roedores, pois abrigam as leptospiroses, as eliminam no ambiente através da urina e não apresentam sinais clínicos.

A maior parte das infecções por *Leptospira interrogans* são subclínicas, do mesmo modo, a infecção é mais comum do que a doença clínica. A principal fonte de infecção é um animal infectado que contamina o pasto, a água e os alimentos com urina

infectada, além disso, os animais contaminados podem eliminar leptospiroses por longos períodos mesmo após a cura clínica. A porta de entrada do microorganismo ocorre através da mucosa ocular, digestiva, respiratória, genital e pele, ou até mesmo quando a pele íntegra está em contato por um longo período em coleções de água contaminada.

As principais manifestações clínicas nos animais de produção estão relacionadas a problemas reprodutivos, como abortamento no final da gestação, problemas de infertilidade e nascimento de animais debilitados. No homem os sinais podem ser discretos, com aparecimento de febre, cefaléia, dores musculares, anorexia, náuseas e vômitos, e em alguns casos a doença evolui para a fase septicêmica com disfunção renal, fenômenos hemorrágicos, alterações hemodinâmicas, cardíacas, pulmonares e icterícia.

Existem alguns sinais particulares que podem ser observados de acordo com a espécie animal. Nos eqüídeos a manifestação clínica mais freqüente associada às leptospiroses é o comprometimento do globo ocular com manifestações de uma uveíte recidivante, que pode evoluir para cegueira, caso não seja introduzido o tratamento adequado (Santa Rosa et al., 1968). A leptospirose também pode ser diagnosticada como causa de aborto, parto de natimortos, doença neonatal e morte neonatal em eqüinos (Pescador et al., 2004). Raramente ocorre febre, anorexia, depressão e icterícia.

A população de eqüídeos do Brasil em 2003 era de 8.382.425 animais segundo a pesquisa pecuária municipal publicada no IBGE. Minas Gerais, de acordo com essa fonte, ocupava o segundo lugar no número efetivo de eqüídeos do país, possuindo 1.094.310 cabeças.

No Brasil, assim como em Minas Gerais, existem poucos trabalhos publicados em relação à distribuição e aos fatores de risco relacionados às leptospiroses nos eqüídeos,

deste modo torna-se importante a pesquisa da frequência dessa infecção e os aspectos epidemiológicos envolvidos na sua propagação. Um estudo detalhado desta infecção nessa população poderia contribuir para a elaboração de programas sanitários de controle tão importantes, visto que se trata de uma zoonose.

O presente estudo teve como objetivo determinar a frequência e a distribuição espacial da infecção por *Leptospira interrogans* em eqüídeos em Minas Gerais de setembro de 2003 a março de 2004.

2 - LITERATURA CONSULTADA

A primeira demonstração da infecção por leptospiroses em eqüinos foi realizada pelos pesquisadores Nieschultz e Wawo-Roentoe em 1930, citado por Barbosa (1962) os quais observaram o aparecimento freqüente de aglutininas no soro de eqüinos. Contudo somente em 1947 Lyubashenko e Novikova citados por Cordeiro et al. (1974) descreveram a doença e isolaram pela primeira vez na espécie eqüina.

Ellis et al. (1981) estudaram o papel dos bovinos na manutenção da infecção *Leptospira interrogans* sorovariedade hardjo na Irlanda do Norte e verificaram que roedores presentes no país não tinham nenhum papel na epidemiologia da infecção pelo sorogrupo Hebdomadis em bovinos. E as altas incidências de portadores renais na amostra da população de bovinos indicaram que existem sorovariedades pertencentes a esse sorogrupo que são particularmente adaptadas aos bovinos e que os mesmos agem como hospedeiros de manutenção para essas sorovariedades.

Ellis et al. (1983) através do isolamento e de achados sorológicos de eqüinos realizados na Irlanda do Norte, observaram que grande parte desses animais estavam positivos para a sorovariedade bratislava e esse fato fez com que os autores sugerissem que eqüinos poderiam ser hospedeiros de manutenção para essa sorovariedade.

Matthews et al. (1987) realizaram um estudo sorológico da infecção por leptospira e a presença de uveíte recidivante em eqüinos e pôneis no Reino Unido. Títulos positivos foram encontrados em 13 dos 138 animais (9,1%) sem anormalidades oftálmicas e em 3 dos 27 animais (11,1%) com uveíte anterior. A sorovariedade sejroe foi comum nos 3 animais soropositivos com uveíte anterior. Segundo os autores o resultado demonstra que a infecção por leptospira não é a maior causa de uveíte anterior em eqüinos no Reino Unido, mas sugere que esse microorganismo possa estar associado com alguns casos de uveíte recorrente anterior.

Donahue et al. (1995) através de uma pesquisa sobre prevalência de sorovariedades de leptospiroses envolvidas em aborto eqüino em Kentucky de 1991 a 1993, observaram através do isolamento em 45 dos 74 casos de aborto, que a sorovariedade envolvida era principalmente kennewicki (95,5%) que pertence ao sorogrupo pomona.

Barwick et al. (1998), em Nova York, pesquisaram fatores de risco relacionados a leptospiroses em eqüinos que possuíam significância no contágio aos homens e observaram que os índices ou indicadores relativos ao solo e água, como proximidades de rios e lagos entre outros, tiveram correlação com as sorovariedades icterohaemorrhagiae, canicola e grippotyphosa.

Faine et al. (1999) fizeram uma extensa revisão sobre as leptospiroses e abordaram desde aspectos microbiológicos, como estruturas e componentes antigênicos, metabolismo, nutrição e cultivo; à aspectos clínicos da doença, patogenia, diagnóstico e epidemiologia.

No Brasil, o primeiro trabalho sobre a infecção por leptospiroses foi realizado por Corrêa et al. (1957), esses autores fizeram um estudo sorológico desta doença em 118 eqüinos no estado de São Paulo, encontrando 20 (16,95%) animais reagentes com títulos iguais ou maiores que 1:200, sendo que as sorovariedades mais

encontradas foram icterohaemorrhagiae (5,08%), australis (3,39%) e sejroe (1,69%). Posteriormente vários outros autores pesquisaram leptospiroses em eqüinos seja diretamente através do isolamento do microorganismo ou indiretamente por meio da pesquisa de aglutininas anti-leptospira em soro de animais.

Barbosa (1962) realizou inquérito sorológico da infecção por leptospiroses em bovinos, suínos e eqüinos em Minas Gerais. Dos 112 soros de eqüinos examinados, 31 (27,7%) estavam positivos com títulos iguais ou maiores a 1:200, e as sorovariedades mais encontradas nessa espécie foram *L. pomona* (15,2%), seguida da *L. icterohaemorrhagiae* (8,0%).

Santa Rosa et al. (1968) pesquisaram soro de eqüinos abatidos em matadouro e eqüinos de corrida nas proximidades de São Paulo através da técnica de soroaglutinação microscópica para leptospirose. Foi considerado o título inicial de 1:200 como significativo para uma reação positiva. Dos 419 soros de eqüinos de matadouro, 37,9% tiveram reações positivas e as sorovariedades *L. pomona* e *L. canicola* foram as mais freqüentes (13,6% e 12,2%), enquanto que em animais de corrida, dos 217 soros pesquisados, 6,9% estavam positivos e a *L. pomona* (2,8%) e a *L. icterohaemorrhagiae* (2,3%) foram mais encontradas. Ainda nesse mesmo trabalho esses autores relacionaram a positividade desses animais para *L. pomona* e *L. icterohaemorrhagiae* com o sintoma oftalmia periódica.

Cordeiro et al. (1974) pesquisaram soro de 404 eqüinos de vários grupos, dentre eles, animais de sela, de corrida, e puro sangue inglês do Jockey Clube e eqüinos utilizados para a produção de soro hiperimunes, nos municípios de Belo Horizonte, Vianópolis e Barbacena. Os autores consideraram positivas reações com títulos iguais ou maiores que 1:100. Verificaram a ocorrência de 14,8% de animais reagentes, a sorovariedade *pomona* foi a mais encontrada em cavalos de sela (26,1%) e batavie em cavalos de corrida (26,9%).

Giorgi et al. (1981) realizaram um levantamento sorológico da infecção por leptospiroses em 1.653 eqüinos puro-sangue de carreira na cidade de São Paulo. Foram encontradas 75 (4,53%) reações positivas com títulos iguais ou maiores que 1:200 através da prova de aglutinação microscópica, e as sorovariedades mais freqüentes foram icterohaemorrhagiae (41,3%) e javanica (30,7%). Além disso, os autores conseguiram isolar pela primeira vez no Brasil a bactéria *Leptospira interrogans* em eqüino através de exame bacteriológico dos rins de um feto abortado. A sorovariedade foi posteriormente classificada como icterohaemorrhagiae.

Pinheiro et al. (1985) pesquisaram 1.145 amostras de soros de eqüinos e mares, no Frigorífico Xavante, procedentes de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná e São Paulo, utilizando prova de aglutinação microscópica. Foi encontrada uma freqüência de 10,5% de animais reagentes com títulos iguais ou superiores a 1:200. As sorovariedades predominantes foram *pomona*, *javanica* e *canicola*.

Abuchaim (1991) examinou soros sangüíneos de 420 eqüinos provenientes de 9 municípios do Rio Grande do Sul através da prova de aglutinação microscópica. Constatou que 37,38% dos soros apresentaram títulos iguais ou maiores que 1:100. As sorovariedades mais encontradas foram icterohaemorrhagiae e *pomona*. Além disso, observou que 55,58% dos animais testados estavam clinicamente sadios, podendo ser importante fonte de contaminação para o homem e para outros animais.

Lilenbaum et al. (1993) ao estudarem problemas reprodutivos em éguas devido à leptospirose no estado do Rio de Janeiro, notaram que apesar de nas outras espécies a leptospirose seja a causa de grandes problemas reprodutivos, nos eqüinos estes sintomas são menos freqüentes. Neste estudo foi realizado o teste em 113 soros sangüíneos de éguas com problemas reprodutivos, desses 56 (49,5%) estavam reativas. As sorovariedades mais

encontradas foram canicola (15,9%), andana e ballum (ambas com 9,7%).

Pellegrin et al. (1994) realizaram sorologia em 150 equinos provenientes 10 fazendas no Pantanal. Todas as propriedades foram consideradas positivas e 139 (92,6%) dos soros testados reagiram com títulos iguais ou maiores que 1:100 na prova da microaglutinação rápida (MAR) para detecção de aglutininas anti-leptospira. Os sorovares mais observados foram icterohaemorrhagiae e hardjo. Segundo os autores, a evidência da infecção pela *L. hardjo* nos equinos acontece por ser os bovinos os hospedeiros de manutenção e desta forma podem estar contaminando o ambiente e transmitindo a infecção para os equinos.

Lilenbaum (1998) avaliou achados sorológicos em 547 éguas de seis propriedades do Rio de Janeiro, durante o período de 1993-1996, através da técnica MAR para detecção de aglutininas anti-leptospira. Encontrou 235 reações positivas com títulos iguais ou maiores que 1:100. As soroviedades predominantes foram icterohaemorrhagiae (43,4%), bratislava (27,2%), pomona (14,4%) e hardjo (4,26%). O autor atribuiu a alta predominância de éguas positivas para a soroviedade icterohaemorrhagiae à presença de roedores, pois esses são portadores sadios da doença e são, portanto fonte de contaminação dos equinos.

Langoni et al. (2004) analisaram 1402 amostras de soros de equinos dos estados São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul através da técnica MAR para detecção de aglutininas anti-leptospira, desse total, 754 (54%) estavam positivos para um ou mais soroviedades com títulos iguais ou maiores que 1:100. As soroviedades mais encontradas foram icterohaemorrhagiae (37,01%), castellonis (16,97%), djjasiman (6,06%), copenhageni (4,49 %) e hardjo (4,35%), respectivamente.

Oliveira e Pires Neto (2004) realizaram um estudo no Rio Grande do Sul sobre o diagnóstico e a ocorrência da infecção por leptospiras em várias espécies, dentre elas

a equina. Realizaram exames sorológicos, no período de 2000 a 2002 em 992 equinos, destes 727 (73,3%) foram positivos com títulos iguais ou superiores de 1:100 e as soroviedades predominantes foram bratislava e copenhageni.

Veloso (2004) avaliou os sistemas de produção pecuária em Minas Gerais em cria, recria e engorda e ciclo completo que foram classificados de acordo com os valores encontrados na relação novilho vaca em cada município e fez associação deles aos riscos da infecção por leptospiras em bovinos. Verificou que os municípios dedicados à engorda e recria constituem-se em regiões de maior risco para as infecções pelas soroviedades hardjo (OMS), hardjo (Norma), wolffi e pomona e os dedicados à cria constituem-se de menor risco para as infecções pelos mesmos sorotipos.

Linhares et al. (2005) estudaram a prevalência das leptospiras na microrregião de Goiânia em 182 soros de equinos e encontraram 82 (45,05%) animais reagentes a uma ou mais soroviedades de *Leptospira interrogans* com títulos iguais ou superiores a 1:100. Dentre as soroviedades mais encontradas estavam icterohaemorrhagiae, pomona, wolffi e hardjo. A alta prevalência encontrada foi justificada pelos autores pelo manejo higiênico-sanitário deficiente.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Localização

Essa pesquisa foi realizada em Minas Gerais que se localiza na região sudeste do Brasil, e faz limites ao norte e nordeste com a Bahia, a leste com o Espírito Santo, a sudeste com o Rio de Janeiro, a sul e sudoeste com São Paulo, a oeste com o Mato Grosso do Sul e a noroeste com Goiás e Distrito Federal. O estado está situado entre os paralelos de 14°13'58" de latitude norte e 22°54'00" de latitude sul e os meridianos de 39°51'32" e 51°02'35" a oeste de Greenwich. Sua área corresponde a 7% do território nacional e possui 588.383,6 km² de área total.

É a unidade da federação brasileira com o maior número de municípios, 853, que se agrupam, conforme os aspectos geográficos e econômicos, em regiões distintas assim distribuídas em 66 microrregiões e 12 mesorregiões que correspondem a Norte, Noroeste de Minas, Vale do Mucuri, Vale do Jequitinhonha, Vale do Rio Doce, Central Mineira, Oeste de Minas, Metropolitana de Belo Horizonte, Sul/Sudoeste de Minas, Triângulo Mineiro/Alto do Paranaíba, Campo das Vertentes e Zona da Mata.

Esse Estado, por abranger uma grande extensão territorial, possui clima com variações que se alteram de acordo com a localização geográfica. O clima tropical de altitude se localiza em regiões mais elevadas como serras da Canastra, Espinhaço, Mantiqueira e sul do Estado e é marcado por precipitações pluviais altas. No norte do estado, o clima é tropical semi-árido que se caracteriza por temperaturas altas e por uma estação seca prolongada. No restante, prevalece o clima tropical semi-úmido que apresenta temperaturas mais amenas e verões chuvosos.

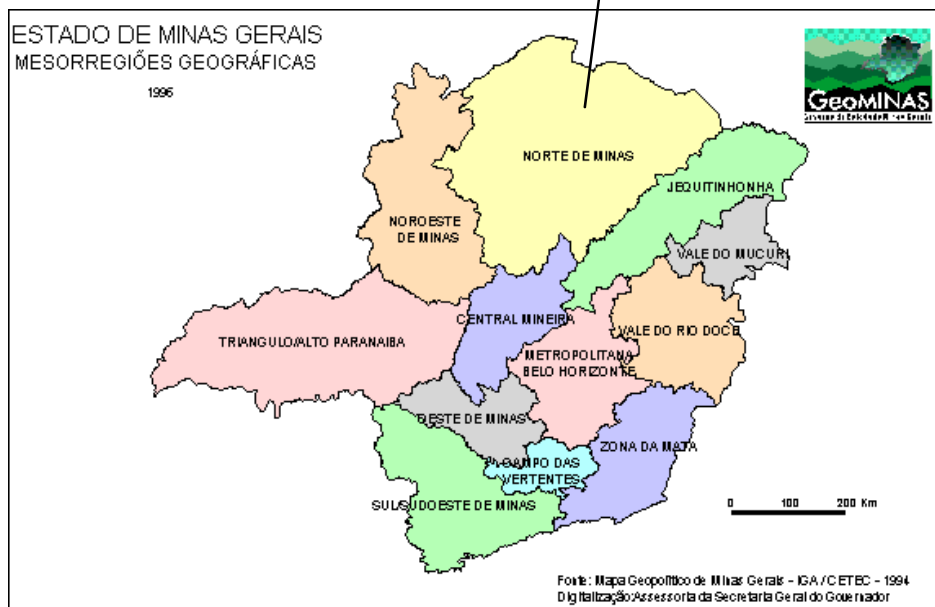


Figura 1 – Localização geográfica de Minas Gerais – Brasil.

3.2 - Amostras de Soros Sangüíneos de Eqüídeos

Os soros examinados no Laboratório de Zoonoses do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) foram cedidos gentilmente pela veterinária do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), Valéria Maria de Andrade Almeida, e foram utilizados na sua dissertação de mestrado, "Prevalência da anemia infecciosa eqüina, no rebanho de animais de serviço, em Minas Gerais.", apresentada à UFMG.

Para representar a distribuição espacial da infecção por *Leptospira interrogans* nos eqüídeos, as 12 mesorregiões de Minas Gerais foram agrupadas em 7 regiões ou estratos que correspondem: 1- Norte de Minas/Noroeste de Minas, 2- Vale do Mucuri/Jequitinhonha, 3- Vale do Rio Doce, 4- Central Mineira/Oeste de Minas/Metropolitana de Belo Horizonte, 5- Sul/Sudoeste de Minas, 6- Triângulo Mineiro/ Alto Paranaíba e 7- Campos das Vertentes/Zona da Mata.

O número de propriedades amostradas pelo IMA foi determinado de maneira aleatória, permitindo que os municípios com maior número de propriedades tivessem proporcionalmente peso maior. Para cada um dos estratos de amostragem utilizou-se uma lista de produtores rurais ordenados por município que foram amostrados de maneira aleatória e sistemática e, desta maneira, todos 853 municípios de Minas Gerais foram amostrados. O IMA possuía um total de 298.916 propriedades cadastradas, dessas, 1940 foram amostradas de forma aleatória e estão representadas na Tabela 1.

Os eqüídeos amostrados tinham a idade mínima acima de seis meses de modo que não houvesse a possibilidade de interferência dos anticorpos colostrais. A escolha dos animais que tiveram o soro coletado, em cada propriedade, foi realizada por amostragem aleatória. O número total de amostras analisadas foi de 6540 soros, que foram coletadas no período de setembro de 2003 a março de 2004. Esses soros foram oriundos de propriedades que possuíam em grande maioria eqüídeos de serviço com baixo valor zootécnico e sem raça definida.

Tabela 1 – Propriedades cadastradas, amostradas, e número de eqüídeos por estrato, em Minas Gerais, de setembro de 2003 a março de 2004.

Estrato	Propriedade Cadastrada	Propriedade Amostrada	Eqüídeo Amostrado
Campo das Vertentes/Zona da Mata	47.991	290	704
Central Mineira/Oeste de Minas/Metropolitana de Belo Horizonte	57.796	293	914
Norte de Minas/Noroeste de Minas	51.858	308	1.077
Sul/Sudoeste de Minas	54.522	278	786
Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba	39.822	232	706
Vale do Mucuri/Jequitinhonha	22.109	287	1.436
Vale do Rio Doce	24.818	252	917
Total	298.916	1.940	6.540

Fonte: IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária)

3.3 - Prova Sorológica

Os exames sorológicos foram realizados com a técnica de Microaglutinação Rápida (MAR), descrita por Ryu (1970), e recomendada pela Organização Mundial de Sanidade Animal (antiga OIE) como prova de escolha para o diagnóstico das leptospiroses. As amostras de *Leptospira sp* utilizadas para realização deste teste foram obtidas do antigo Centro Pan-americano de Zoonoses da Organização Pan-americana da Saúde e uma delas, *L. interrogans* sorovariedade hardjo (Norma), foi isolada por Moreira (1994) em bovinos em Minas Gerais e, a tipificação final, foi feita no Royal Tropical Institute em Amsterdã, Holanda. As culturas foram mantidas em meio de Ellinghausen e McCulloug (1965) e incubadas a 28°C por 7 dias. As culturas eram sempre examinadas antes dos testes para verificar se havia crescimento correspondente a aproximadamente 10⁹ bactérias por ml de meio de cultura. As sorovariedades de *Leptospira sp* que foram utilizadas como antígenos no teste de Microaglutinação Rápida estão registradas no Quadro 1.

As amostras de soro dos eqüídeos foram diluídas em tubos de ensaio 7x120mm com uma solução de PBS (0,02M Na₂HPO₄; 0,15M NaCl pH 7,2) adotando o seguinte procedimento: coletou-se 0,2 ml de soro para 0,8 ml de PBS obtendo-se 1 ml de volume e a diluição de 1:5; em outro tubo de ensaio coletou-se 0,2 ml da diluição anterior para 1,8 ml de PBS obtendo-se o volume de

Quadro 1 - Sorovariedades de *Leptospira sp* utilizadas como antígenos no teste de Microaglutinação Rápida.

Sorogrupo	Sorovariedade	Amostra de Referência
AUSTRALIS	bratislava	Jez bratislava
BALLUM	ballum	Mus 127
BATAVIAE	batavie	Swart
CANICOLA	canicola	Hond Utrech
ICTEROHAEMORRHAGIAE	copenhageni	M20
ICTEROHAEMORRHAGIAE	icterohaemorrhagiae	RGA
POMONA	pomona	Pomona
SEJROE	hardjo	Hardjoprajitino (Norma)

2 ml e a diluição de 1:50; transferiu-se essa última para uma cubeta de depósito e com pipetador de oito canais, pipetou-se 25 µl e transferiu-se para uma microplaca de poliestireno horizontalmente; adicionou-se 25 µl de cada uma das sorovariedades nas fileiras verticais, obtendo-se um volume final de 50 µl; incubou-se a placa por 60 min a 27°C.

As leituras foram realizadas nas placas de poliestireno, com microscópio Axiolab®, equipado com condensador seco de campo escuro, e objetiva de longa distância (LD) Epiplan 10 x 0,20, oculares Epi 10x/20 e EP-L 10x/20. O critério utilizado para a leitura do grau de aglutinação foi dado em cruzes:

- A reação de quatro cruzes (4+) ocorreu quando 100% das leptospirosas estiveram aglutinadas no campo;
- Três cruzes (3+) quando cerca de 75% das leptospirosas no campo estiveram aglutinadas;
- Duas cruzes (2+) quando cerca de 50% das leptospirosas estiveram aglutinadas;
- Uma cruz (1+) quando cerca de 25% das leptospirosas estiveram aglutinadas no campo.

Os animais foram considerados positivos se ocorresse no mínimo 50% de aglutinação (2+). As reações consideradas positivas foram diluídas e só considerou-se positivas os soros que tiverem o título igual ou acima de 1:200.

3.4 - Base de Dados e Análise Estatística

A base de dados, assim como a construção de tabelas e gráficos foram realizados através das planilhas eletrônicas do programa Microsoft Excel versão 2003. Na base de dados, cada amostra de soro sangüíneo possuía o município de origem, o estrato ou mesorregião, data de coleta, idade, raça, sexo, espécie, as sorovariedades utilizadas na bateria de antígenos, resultado das reações de microaglutinação e os títulos das reações. Para elaboração do cartograma, foi utilizado o programa TerraView e a edição no Microsoft Paint versão 5.1.

Os resultados das freqüências encontradas entre as variáveis estudadas (espécie, raça, idade, sexo) foram analisados através do teste qui-quadrado descrito por Sampaio (1998), com auxílio do programa Epi info versão 6.04d. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$ para rejeitar a hipótese de nulidade que afirma não haver associação entre os fatores de risco.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram fornecidos pelo IMA 6.540 soros de eqüídeos, desses, 6.475 foram examinados, devido ao acontecimento de perdas que ocorreram durante o armazenamento, como o extravasamento do soro por abertura do frasco durante o congelamento. Desse total, 381 soros apresentaram reações positivas, com títulos iguais ou superiores a 1:200 para uma ou mais sorovariedades de leptospiros, equivalendo à freqüência de 5,88% dos eqüídeos positivos. A freqüência encontrada nesse estudo pode ser considerada baixa confrontando com os levantamentos sorológicos realizados em Minas Gerais por Barbosa (1962) e Cordeiro et al. (1974) nas proximidades de Belo Horizonte, que encontraram percentuais bem maiores 27,7% e 14,85%, respectivamente. Provavelmente isto ocorreu devido ao fato de que nessas pesquisas, os locais e as condições de criação dos animais eram propensos para disseminação da infecção, além disso, por

estarem em proximidades a áreas urbanas, poderiam ter contato direto com roedores que são hospedeiros de manutenção de algumas sorovariedades de leptospiros como, icterohaemorrhagiae, copenhageni, batavie e ballum, como descrito por Faine et al. (1999).

Nos inquéritos sorológicos realizados em outros estados, grande parte dos trabalhos, Abuchaim (1991), Lilienbaum et al. (1993), Lilienbaum (1998), Langoni et al. (2004), Oliveira et al. (2004) e Linhares et al. (2005), tiveram altos percentuais de animais positivos. Estes achados poderiam refletir o manejo higiênico-sanitário deficiente, pois a principal fonte de transmissão é a urina que contamina o pasto, a água e os alimentos, além disso, outros fatores estão associados à manutenção desta doença no meio ambiente, como a aquisição de animais infectados, de espécies diferentes criados em áreas comuns, acesso a fontes de água contaminadas, como riachos, rios, alagamentos, a presença dos hospedeiros de manutenção que poderiam ser animais domésticos, silvestres ou roedores sinantrópicos (Barwick et al. 1998). Esse fato é discutido por Pellegrin et al. (1994) quando observaram em sua pesquisa que 93% dos eqüinos do Pantanal foram reagentes à infecção por leptospira. Esses autores atribuíram essa alta freqüência ao fato de que as pastagens nessa região permaneciam inundadas durante seis meses do ano, condição favorável à manutenção e disseminação das leptospiros.

As sorovariedades de *Leptospira interrogans* encontradas em soros sangüíneos de eqüídeos mais freqüentes foram hardjo (Norma) (3,03%), pomona (1,24%), bratislava (0,66%), seguidas da batavie (0,53%), canicola (0,42%), icterohaemorrhagiae (0,42%), ballum (0,06%) e copenhageni (0,02%). (Tabela 2 e Gráfico 1). Não era esperado que a hardjo (Norma) fosse a mais freqüente das sorovariedades pesquisadas em eqüídeos, uma vez que essa sorovariedade possui os bovinos como hospedeiros de manutenção

(Ellis et al. 1981), sendo mais bem adaptada a essa espécie. Os eqüídeos nesse caso seriam os hospedeiros acidentais para tal sorovariedade. Entretanto esses animais, na maior parte das propriedades em Minas Gerais são criados no mesmo habitat dividindo pastagens e bebedouros com bovinos, mantendo contato direto ou indireto com essa espécie, fato que justificaria esse

resultado. Pellegrin et al. (1994) também encontraram alta freqüência de animais positivos para hardjo e em sua investigação confirmaram que a infecção acontece por ser os bovinos os hospedeiros de manutenção desta sorovariedade e desta forma contaminar o ambiente e transmitir a infecção para os eqüinos.

Tabela 2 – Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sangüíneos de eqüídeos, Minas Gerais, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
hardjo (Norma)	6279	196	3,03
pomona	6395	80	1,24
bratislava	6432	43	0,66
batavie	6441	34	0,53
canicola	6448	27	0,42
icterohaemorrhagiae	6448	27	0,42
ballum	6471	4	0,06
copenhageni	6474	1	0,02

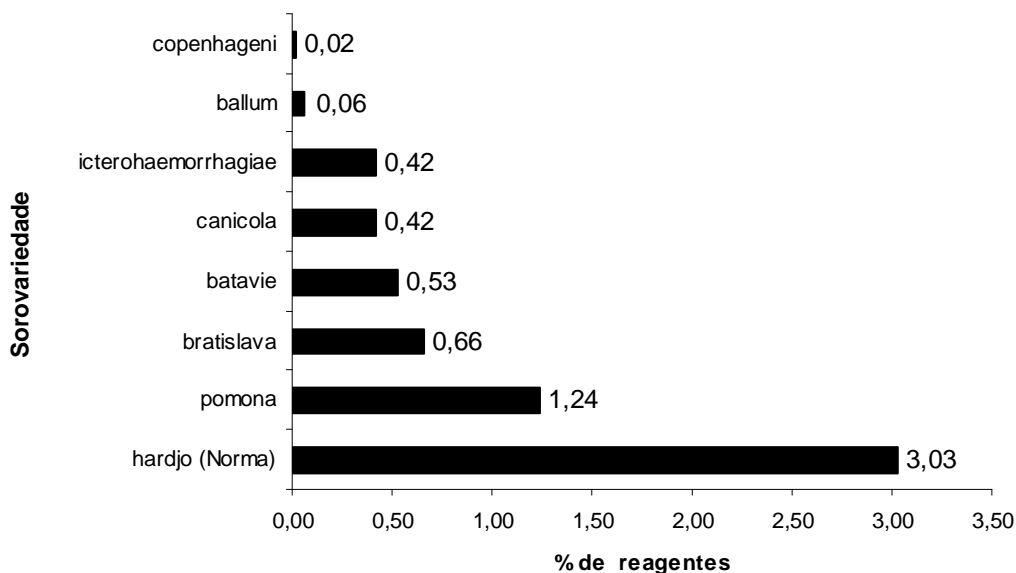


Gráfico 1 - Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sangüíneos de eqüídeos, Minas Gerais, setembro de 2003 a março de 2004.

Títulos positivos para sorovariedade pomona já foram relatados no Brasil por muitos autores, Barbosa (1962) em Minas Gerais, Santa Rosa et al. (1968) em São Paulo, Cordeiro et al. (1974) em Minas Gerais, Pinheiro et al. (1985) em eqüídeos procedentes dos Estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná e São Paulo, Abuchaim (1991) no Rio Grande do Sul, Lilenbaum (1998) no Rio de Janeiro, Linhares et al. (2005) em Goiás. Santa Rosa et al. (1968) correlacionaram à positividade dos eqüinos para essa sorovariedade e a presença de oftalmia periódica que evoluía para cegueira e observaram ainda, que em quase 50% dos casos a enfermidade envolvia os dois olhos dos animais. Também foi correlacionada sua positividade com casos de aborto eqüino nos Estados Unidos, onde Donahue et al. (1995) isolaram sorovariedade kennewicki do sorogrupo pomona em 43 casos e em uma amostra foi identificada a pomona. Os bovinos e suínos são hospedeiros mais adaptados a pomona, os eqüinos, neste caso, são hospedeiros acidentais desta sorovariedade e isso explica a patogenicidade elevada para essa espécie (Lilenbaum, 1998, Langoni et al., 2004).

Segundo Matthews et al. (1987) a infecção por leptospira não é a maior causa etiológica de oftalmia periódica nos eqüinos do Reino Unido, entretanto há evidências que indicam que algumas sorovariedades específicas podem estar envolvidas em alguns casos de oftalmia. Nesse estudo a *L. sejroe* é que estava causando a doença nos eqüinos pesquisados. No Brasil Santa Rosa et al. (1968) encontraram as sorovariedades icterohaemorrhagiae e pomona envolvidas com o sintoma de oftalmia.

Os eqüinos já foram sugeridos por Ellis et al. (1983), em um estudo realizado na Irlanda do Norte, como os hospedeiros de manutenção da bratislava. Há necessidade de aprofundar as pesquisas sobre esta sorovariedade no Brasil, que necessita ser isolada para esclarecer se realmente os elevados percentuais detectados nos inquéritos soro-epidemiológico expressam sua presença no criatório nacional, como relatado por Lilenbaum (1998) que

encontrou 27,23% de eqüinos positivos no Rio de Janeiro e de acordo com Oliveira et al. (2004) é a mais freqüente no Rio Grande do Sul, pois 20,51% de eqüinos foram reagentes para bratislava.

A *Leptospira bataviae* encontrada no inquérito sorológico de Cordeiro et al. (1974), com alta freqüência em cavalos de corrida (26,9%) em Minas Gerais, apareceu com freqüência baixa, idêntica a hardjo, no Sul/Sudoeste de Minas na presente pesquisa (Tabela 8 e Gráfico 6). Os reservatórios para essa sorovariedade variam de acordo com as situações ecológicas presentes nos locais e podem ser diferentes espécies de roedores, entre eles o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) (Faine et al., 1999).

A sorovariedade icterohaemorrhagiae foi isolada por Giorgi et al. (1981), pela primeira vez no Brasil a partir de um feto eqüino abortado. Embora ela tenha sido encontrada em muitos estudos entre as mais prevalentes no país, como nos trabalhos de Corrêa et al. (1957), Abuchaim (1991), Pellegrin et al. (1994), Lilenbaum (1998), Langoni et al. (2004) e Linhares et al. (2005), nesta investigação isso não ocorreu, exceto no Vale do Mucuri/Jequitinhonha onde foi a terceira mais freqüente, mesmo assim com 0,77% de reagentes. (Tabela 10 e Gráfico 8).

Analisando a distribuição dos títulos positivos em soros de eqüídeos em Minas Gerais, conforme dados contidos na Tabela 3, a existência de altas porcentagens em titulações maiores ou iguais 1:25.600 para as sorovariedades hardjo (norma), pomona, bratislava, bataviae, canicola e icterohaemorrhagiae sugerem que elas estão presentes em Minas Gerais. Além disso, os altos títulos encontrados, principalmente aqueles iguais ou maiores 1:400, evidenciam que houve contato recente com essas leptospiras e que poderiam, em alguns casos, evoluir para uma doença grave.

Se na presente pesquisa fossem considerados positivos soros com reações iguais ou maiores que 1:100, como é visto

nos trabalhos de Barbosa (1962), Cordeiro et al. (1974), Abuchaim (1991), Pellegrin et al. (1994), Lilenbaum (1998), Langoni et al. (2004), Oliveira e Pires Neto (2004) e Linhares et al. (2005), o número de animais positivos aumentaria de 381 para 593, e a frequência seria de 9,16% de eqüídeos positivos em Minas Gerais. As sorovariedades mais freqüentes seriam as mesmas: hardjo com 310 reações positivas, pomona com 106 e bratislava com 66. Apesar de Barbosa (1962) afirmar que o

título de 1:100 mostrou-se suficiente para indicar a existência de infecções presentes ou remotas, considerar estas reações positivas leva um aumento do número de reações inespecíficas, que são comuns na prova de Microaglutinação Rápida. As sorovariedades possuem características antigênicas semelhantes, e, por isso, é importante considerar reações com títulos iguais ou superiores a 1:200, pois com esta titulação as reações cruzadas diminuem significativamente.

Tabela 3 – Distribuição dos títulos positivos de soro de eqüídeos avaliados através da técnica de microaglutinação rápida em sorovariedades de *Leptospira interrogans*, Minas Gerais, 2003.

Sorovariedade	Título															
	1:200		1:400		1:800		1:1600		1:3200		1:6400		1:12800		≥1:25600	
	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P	%	P
hardjo	27,6	54	13,8	27	14,8	29	6,1	12	6,6	13	1,5	3	3,1	6	26,5	52
pomona	28,8	23	16,3	13	26,3	21	3,7	3	3,7	3	5,0	4	3,7	3	12,5	10
bratislava	32,5	14	14,0	6	9,2	4	2,3	1	-	0	7,0	3	-	0	35,0	15
bataviae	44,1	15	8,8	3	20,6	7	2,9	1	-	0	-	0	-	0	23,6	8
canicola	14,8	4	18,5	5	14,8	4	25,9	7	3,7	1	7,4	2	3,7	1	11,2	3
ictero	55,6	15	18,5	5	11,1	3	3,7	1	-	0	-	0	3,7	1	7,4	2
ballum	50,0	2	25,0	1	-	0	-	0	25,0	1	-	0	-	0	-	0
copenhageni	100,0	1	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0

P = positivo

A frequência de aglutininas anti- *Leptospira interrogans* em eqüídeos de acordo com estratos de Minas Gerais, mostrou que o estrato Norte de Minas/Nordeste de Minas teve a maior frequência encontrada (8,07%), em seguida ficaram Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba (7,16%), Central Mineira/Oeste de Minas/Metropolitana de Belo Horizonte (6,60%) e Sul/Sudoeste de Minas (6,04%). O estrato com menor porcentagem de animais positivos foi Vale do Rio Doce com 4,39% (Tabela 4, Gráfico 2 e Figura 2).

O Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Norte/Noroeste de Minas, Central

Mineira/Oeste de Minas/Metropolitana de Belo Horizonte e Sul/Sudoeste de Minas são regiões que apresentam elevado efetivo bovino, são semelhantes em relação ao perfil de produção agropecuária, com propriedades empresariais e tecnologicamente atualizadas (Veloso, 2004). Possui bom acesso a assistência veterinária e por isso teriam grandes chances de instituir programas sanitários para prevenção e controle. Nessas regiões torna-se importante uma atenção aos eqüídeos, já que eles podem estar contribuindo para manutenção da sorovariedade hardjo no ambiente.

Tabela 4 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, por estrato, Minas Gerais, 2003-2004.

Estrato	Amostra	Resultado		Frequência %	Intervalo de Confiança
		Negativo	Positivo		
Norte de Minas/Noroeste de Minas	1066	980	86	8,07	6,5 - 9,9
Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba	698	648	50	7,16	5,4 - 9,3
Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte	909	849	60	6,60	5,1 - 8,4
Sul/Sudoeste de Minas	778	731	47	6,04	4,5 - 7,9
Campo das Vertentes/Zona da Mata	701	666	35	4,99	3,5 - 6,9
Vale do Mucuri/Jequitinhonha	1424	1360	64	4,49	3,5 - 5,7
Vale do Rio Doce	899	860	39	4,34	3,1 - 5,9
Total	6475	6094	381	5,88	5,3 - 6,5

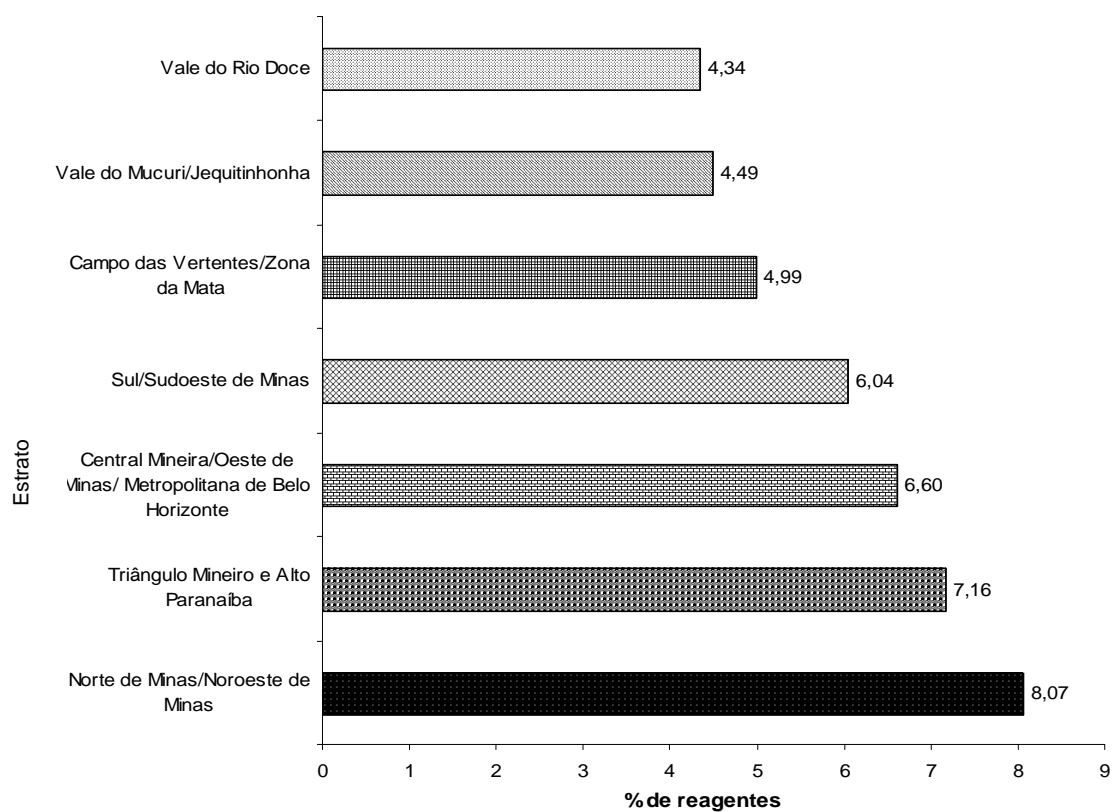


Gráfico 2 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, por estrato, Minas Gerais, 2003-2004.

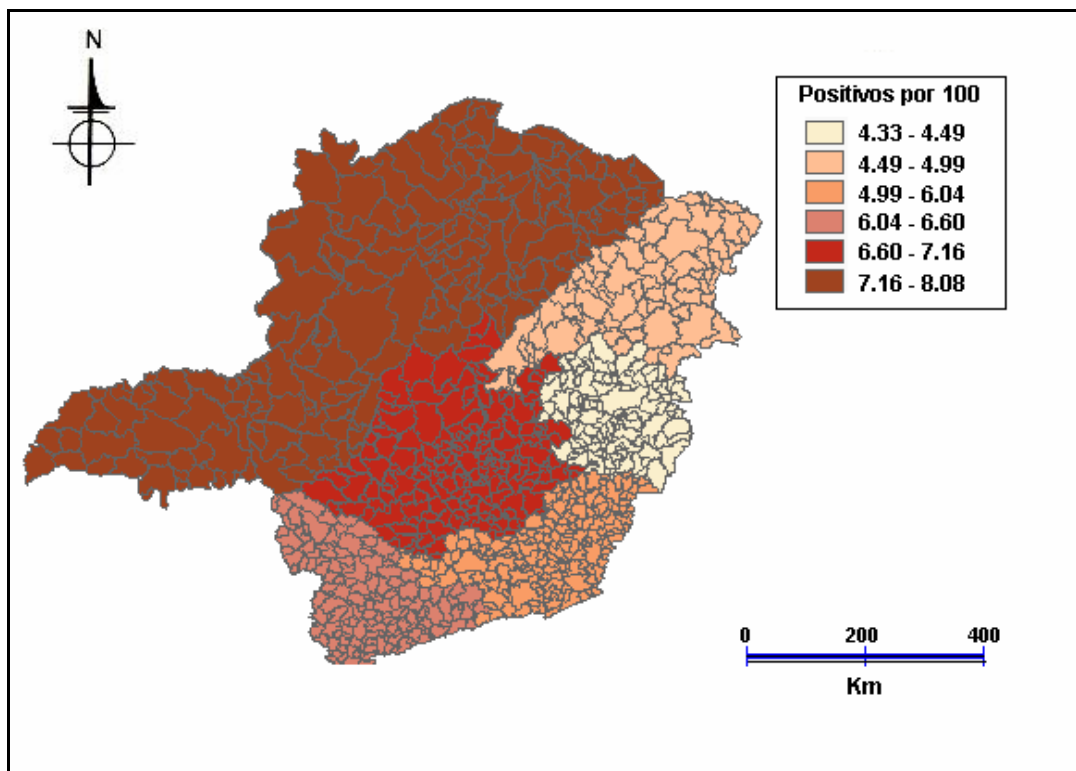


Figura 2 – Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, Minas Gerais, 2003-2004.

No Norte de Minas/Noroeste de Minas, as sorovariedades predominantes foram hardjo (Norma) (4,78%), pomona (1,88%) e canicola (0,47%). Chama atenção que 51

das 88 amostras de soros positivos eram aglutininas anti-hardjo, correspondendo a 59,3% das amostras positivas. Não houve reações para as sorovariedade ballum.

Tabela 5 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Norte de Minas/Nordeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
hardjo (Norma)	1015	51	4,78
pomona	1046	20	1,88
canicola	1061	5	0,47
batavie	1062	4	0,38
icterohaemorrhagiae	1062	4	0,38
bratislava	1063	3	0,28
copenhageni	1065	1	0,09
ballum	1066	0	0,00

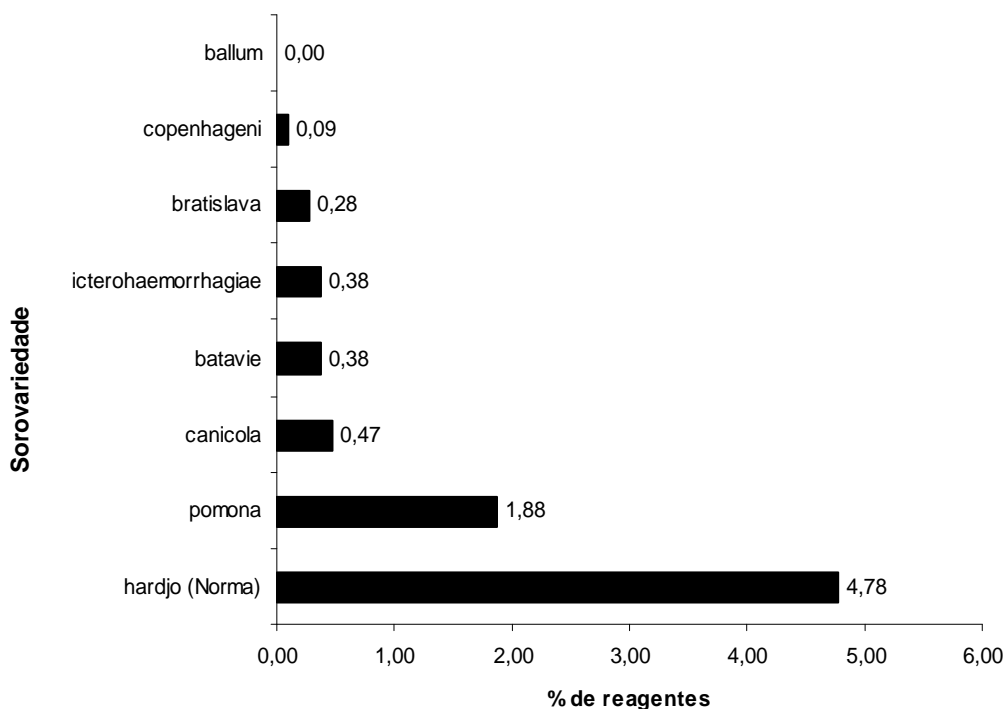


Gráfico 3 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Norte de Minas/Nordeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004.

No Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba houve predomínio das reações para as sorovariedades hardjo (Norma) (3,58%), pomona (1,72%) e bratislava (1,43%). Não

houve reações positivas para icterohaemorrhagiae, ballum e copenhageni (Tabela 6 e Gráfico 4)

Tabela 6 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
hardjo (Norma)	673	25	3,58
bratislava	686	12	1,72
pomona	688	10	1,43
batavie	695	3	0,43
canicola	695	3	0,43
icterohaemorrhagiae	698	0	0,00
ballum	698	0	0,00
copenhageni	698	0	0,00

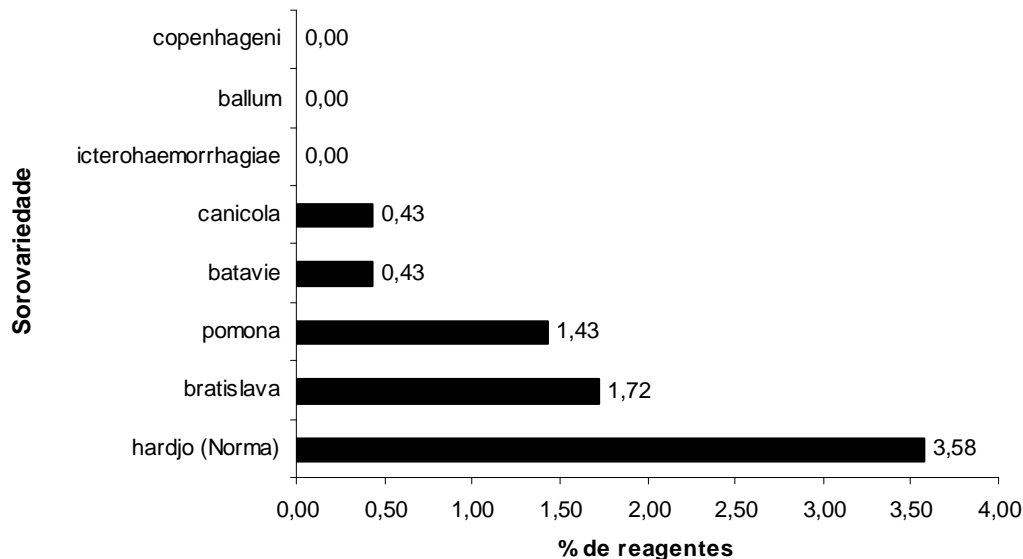


Gráfico 4 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, setembro de 2003 a março de 2004.

Na Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte predominaram amostras positivas para as sorovariedades hardjo (Norma) (4,29%), pomona (0,88%) e bataviae (0,77%). As

aglutininas anti-hardjo foram as mais freqüentes com 53,42% dos 73 soros positivos. Não houve reações para ballum e copenhageni (Tabela 7 e Gráfico 5).

Tabela 7 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, na Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
hardjo (Norma)	870	39	4,29
pomona	901	8	0,88
batavie	902	7	0,77
bratislava	902	7	0,77
icterohaemorrhagiae	903	6	0,66
canicola	905	4	0,44
ballum	907	2	0,22
copenhageni	909	0	0,00

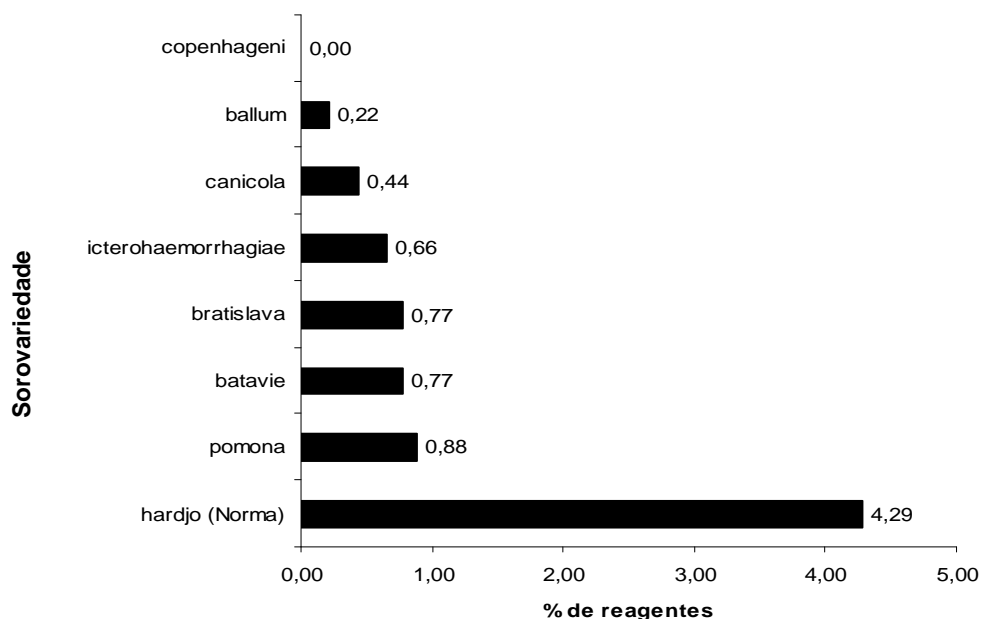


Gráfico 5 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, na Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte, setembro de 2003 a março de 2004.

Sul/Sudoeste de Minas apresentaram bataviae (1,54%), hardjo (1,54) e bratislava (1,29%) como as mais freqüentes nos soros testados (Tabela 8 e Gráfico 6). Não houve reação para sorovariedade copenhageni. Essa foi a única região que a hardjo não apresentou a maior freqüência de reações positivas. Possivelmente isso ocorreu por

essa região ser tradicionalmente leiteira e compatível com áreas de cria. No estudo de Veloso (2004) ficou comprovado que, no sistema de cria, os bovinos têm menores riscos de contrair infecções pela hardjo e, provavelmente, os eqüídeos dessa região também teriam menores chances de se infectar por essa sorovariedade.

Tabela 8 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Sul/Sudoeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
batavie	766	12	1,54
hardjo (Norma)	766	12	1,54
bratislava	768	10	1,29
canicola	770	8	1,03
icterohaemorrhagiae	774	4	0,51
pomona	776	2	0,26
ballum	777	1	0,13
copenhageni	778	0	0,00

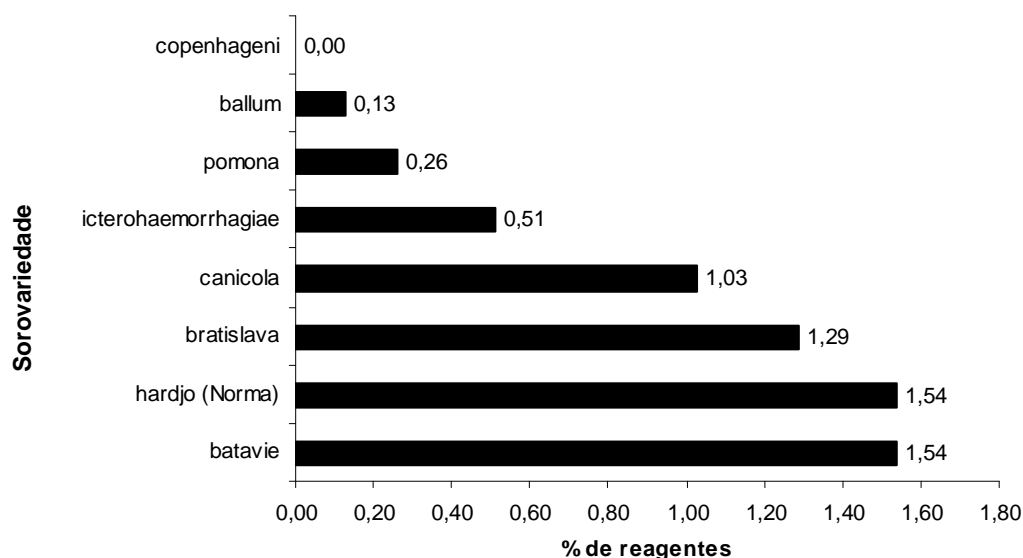


Gráfico 6 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Sul/Sudoeste de Minas, setembro de 2003 a março de 2004.

No Campo das Vertentes/Zona da Mata as porcentagens maiores foram para hardjo (Norma) (2,43%), pomona (1,13%) e

bratislava (0,71%). Não houve reações para as sorovariedades icterohaemorrhagiae e copenhageni. (Tabela 9 e Gráfico 7).

Tabela 9 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Campo das Vertentes/Zona da Mata, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
hardjo (Norma)	684	17	2,43
pomona	693	8	1,13
bratislava	696	5	0,71
batavie	697	4	0,57
canicola	700	1	0,14
ballum	700	1	0,14
icterohaemorrhagiae	701	0	0,00
copenhageni	701	0	0,00

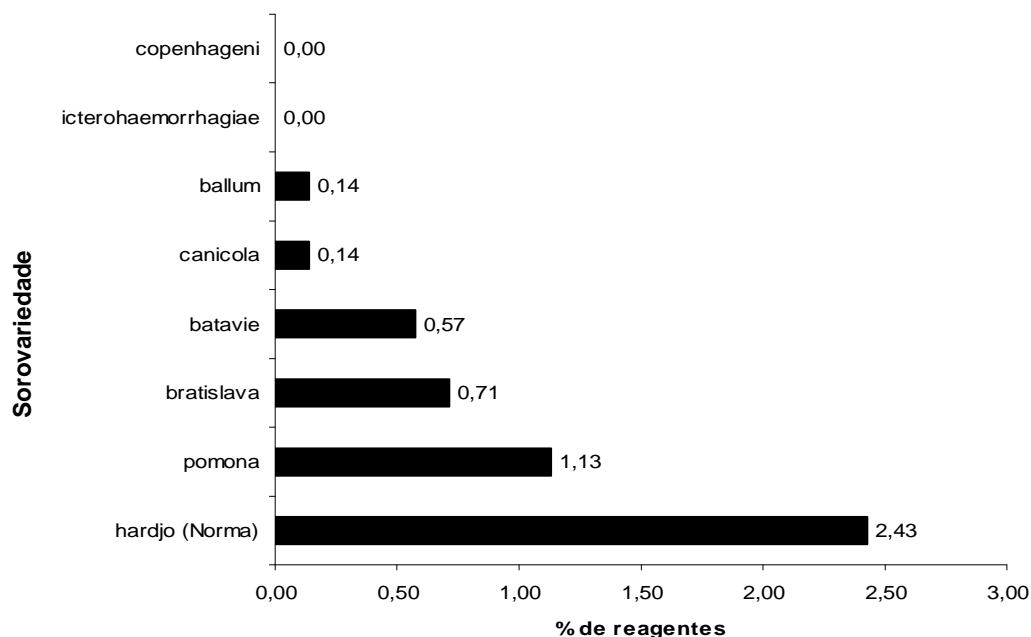


Gráfico 7 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Campo das Vertentes/Zona da Mata, setembro de 2003 a março de 2004.

No Vale do Mucuri/Jequitinhonha houve predominio de reações positivas para as sorovariedade hardjo (Norma) (2,04%), pomona (1,83%) e icterohaemorrhagiae

(0,77%). Não houve reações positivas para bataviae, ballum e copenhageni (Tabela 10 e Gráfico 8).

Tabela 10 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Vale do Mucuri/Jequitinhonha, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
hardjo (Norma)	1395	29	2,04
pomona	1398	26	1,83
icterohaemorrhagiae	1413	11	0,77
bratislava	1422	2	0,14
canicola	1422	2	0,14
batavie	1424	0	0,00
ballum	1424	0	0,00
copenhageni	1424	0	0,00

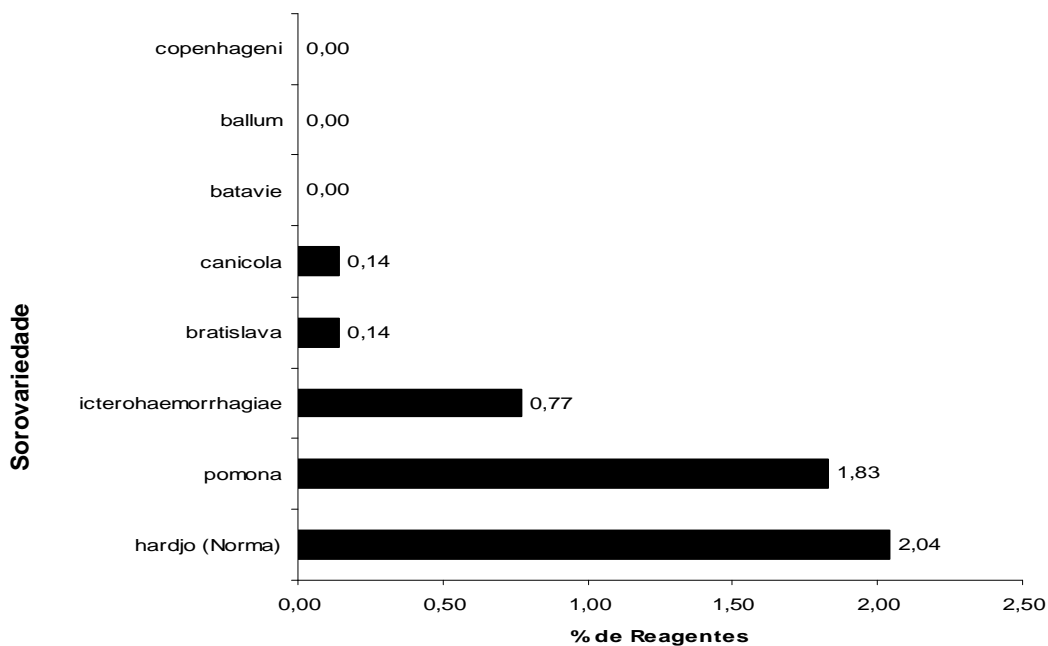


Gráfico 8 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Vale do Mucuri/Jequitinhonha, setembro de 2003 a março de 2004.

No Vale do Rio Doce predominaram amostras positivas para as sorovariedades hardjo (Norma) (2,56%), pomona (0,67%) e batavie (0,44%). Aglutininas anti-hardjo

representaram 53,49% do total de reações positivas. Ballum e copenhageni não reagiram. (Tabela 11 e Gráfico 9)

Tabela 11 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Vale do Rio Doce, setembro de 2003 a março de 2004.

Sorovariedade	Amostra		
	Negativa	Positiva	% Positiva
hardjo (Norma)	876	23	2,56
pomona	893	6	0,67
batavie	895	4	0,44
bratislava	895	4	0,44
canicola	895	4	0,44
icterohaemorrhagiae	897	2	0,22
ballum	899	0	0,00
copenhageni	899	0	0,00

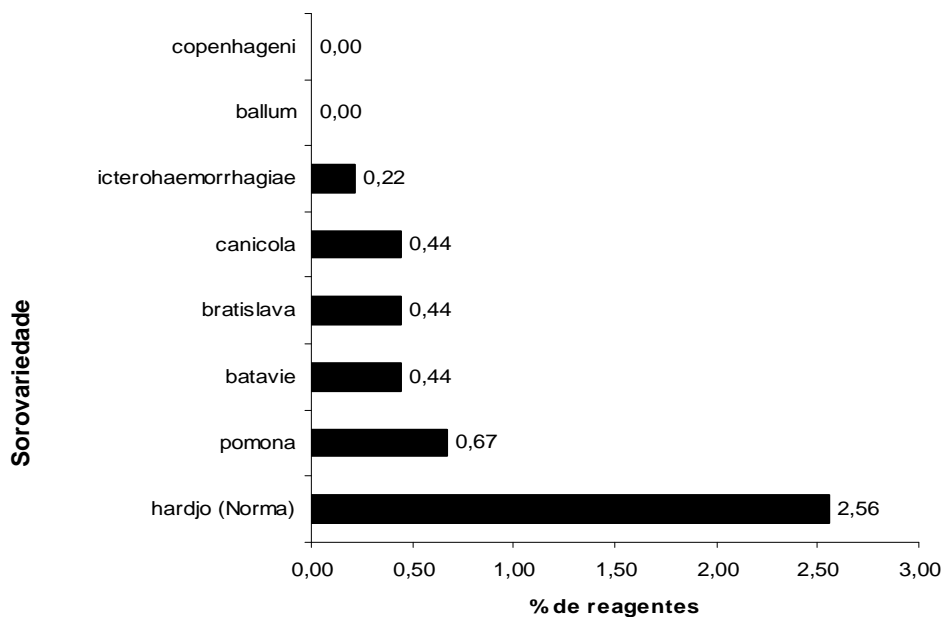


Gráfico 9 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, no Vale do Rio Doce, setembro de 2003 a março de 2004.

Na Tabela 12 e Gráfico 10 apresentam as frequências de eqüídeos positivos de acordo com sexo agrupados por estratos em Minas Gerais. Segundo o cálculo do χ^2 não houve associação significativa para machos e fêmeas ($\chi^2 = 0,01$; $P=0,92$). Este resultado coincide com encontrado por Pellegrin et al. (1994), que não encontraram

associação estatística entre sexo e difere dos resultados obtidos por Langoni et al. (2004), no qual as fêmeas tinham maiores riscos de adquirir a infecção por leptospiros que os machos que esses autores dizem estar determinado pela diferença de manejo sem explicitar em qual aspecto.

Tabela 12 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, por estrato, segundo sexo, Minas Gerais, 2003-2004.

Estrato	Macho			Fêmea		
	Amostra	Positiva	%	Amostra	Positiva	%
Norte de Minas/Noroeste de Minas	728	60	8,24	338	26	7,69
Sul/Sudoeste de Minas	457	32	7,00	321	15	4,67
Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba	453	28	6,18	245	22	8,98
Campo das Vertentes/Zona da Mata	392	24	6,12	309	11	3,56
Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte	600	32	5,33	309	28	9,06
Vale do Mucuri/Jequitinhonha	928	43	4,63	496	21	4,23
Vale do Rio Doce	564	25	4,43	335	14	4,18
Total	4122	244	5,92	2353	137	5,82

$\chi^2 = 0,01$; $P=0,92$

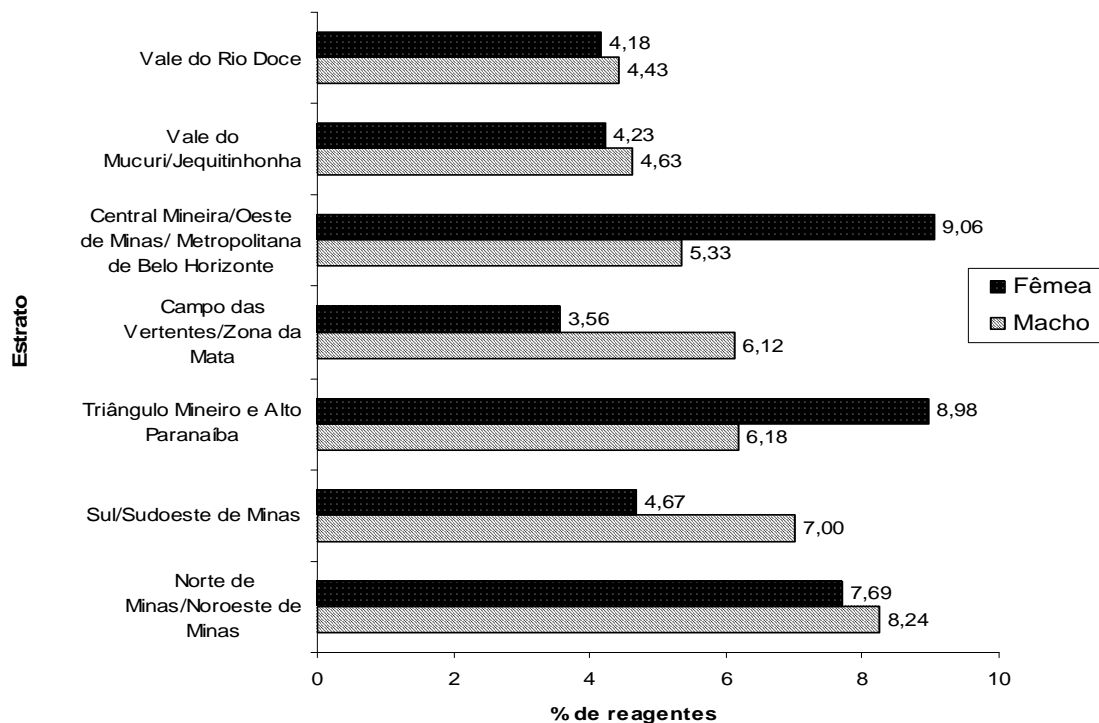


Gráfico 10 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, por estrato, segundo sexo, Minas Gerais, 2003-2004.

Na Tabela 13 e Gráfico 11 estão representadas as frequências de eqüídeos positivos estratificadas por estratos de acordo com as espécies. Segundo a análise estatística realizada em relação aos eqüinos, asininos e muares, não houve associação estatisticamente significativa ($\chi^2= 5,11$; $P=0,09$). Observando os dados presentes na tabela, nota-se que houve uma baixa porcentagem de animais positivos entre os asininos examinados e isso pode ser explicado pela pouca participação dessa espécie na amostra.

A literatura científica registra poucos trabalhos sobre as características clínicas das leptospiroses nos asininos e muares. Pode-se supor que essa doença não é muito freqüente e relevante para essas espécies no Brasil. Entretanto o monitoramento sorológico periódico dos plantéis deve ser rotina, ao lado de inquéritos soro-epidemiológico para detecção precoce de infecções por leptospira.

Tabela 13 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a espécie, Minas Gerais, 2003-2004.

Estrato	Espécie								
	Eqüino			Muar			Asinino		
	Amostra	Pos	%	Amostra	Pos	%	Amostra	Pos	%
Norte de Minas/Noroeste de Minas	917	71	7,74	137	15	10,95	12	0	0,00
Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba	678	49	7,23	19	1	5,26	1	0	0,00
Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte	795	50	6,29	110	10	9,09	4	0	0,00
Sul/Sudoeste de Minas	674	43	6,38	100	4	4,00	4	0	0,00
Campo das Vertentes/Zona da Mata	598	28	4,68	96	7	7,29	7	0	0,00
Vale do Mucuri/Jequitinhonha	1022	45	4,40	328	18	5,49	74	1	1,35
Vale do Rio Doce	634	30	4,73	256	9	3,52	9	0	0,00
Total	5318	316	5,94	1046	64	6,12	111	1	0,90

Pos = positivo
 $\chi^2 = 5,11$; $P=0,09$

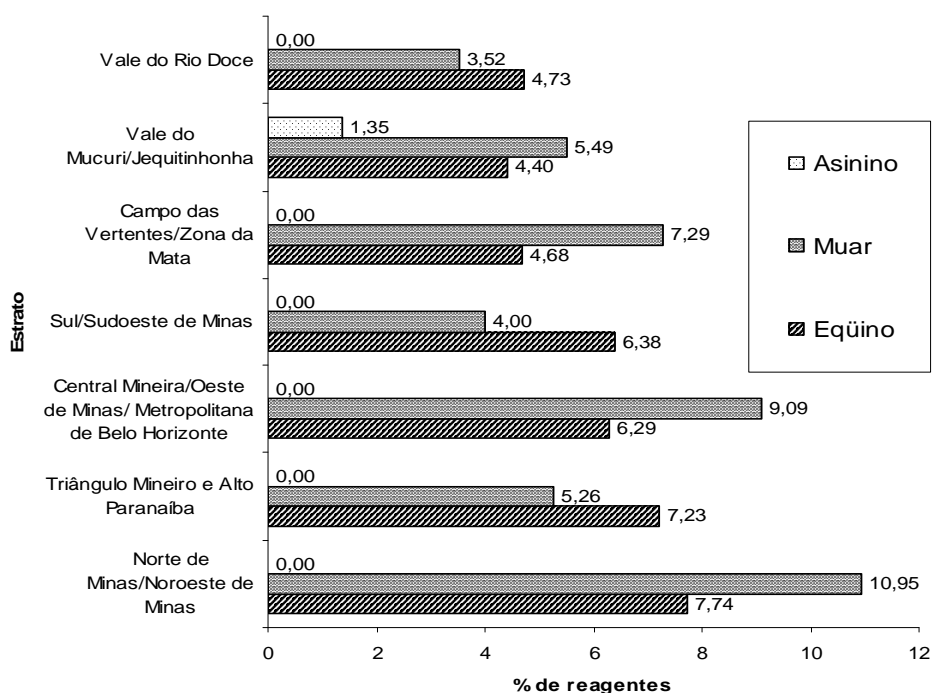


Gráfico 11 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a espécie, Minas Gerais, 2003-2004.

As freqüências de eqüídeos positivos em relação à raça, estratificado por estratos, estão representadas na Tabela 14 e no Gráfico 12. Não houve associação estatística significativa entre animais sem raça definida e animais com raça definida

($\chi^2 = 0,37$; $P=0,54$). Este resultado difere dos achados de Langoni et al. (2004), no qual os eqüinos sem raça definida tinham maiores risco de adquirir a infecção por leptospiros daqueles com raça definida.

Tabela 14 - Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a raça, Minas Gerais, 2003-2004.

Estrato	SRD			Raça Definida		
	Amostra	Positivo	%	Amostra	Positivo	%
Norte de Minas/Noroeste de Minas	1019	80	7,85	47	6	12,77
Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba	669	45	6,73	29	5	17,24
Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte	796	55	6,91	113	5	4,42
Sul/Sudoeste de Minas	704	44	6,25	74	3	4,05
Campo das Vertentes/Zona da Mata	620	30	4,84	81	5	6,17
Vale do Mucuri/Jequitinhonha	1392	61	4,38	32	3	9,38
Vale do Rio Doce	840	37	4,40	59	2	3,39
Total	6040	352	5,83	435	29	6,67

$\chi^2 = 0,37$; $P=0,54$

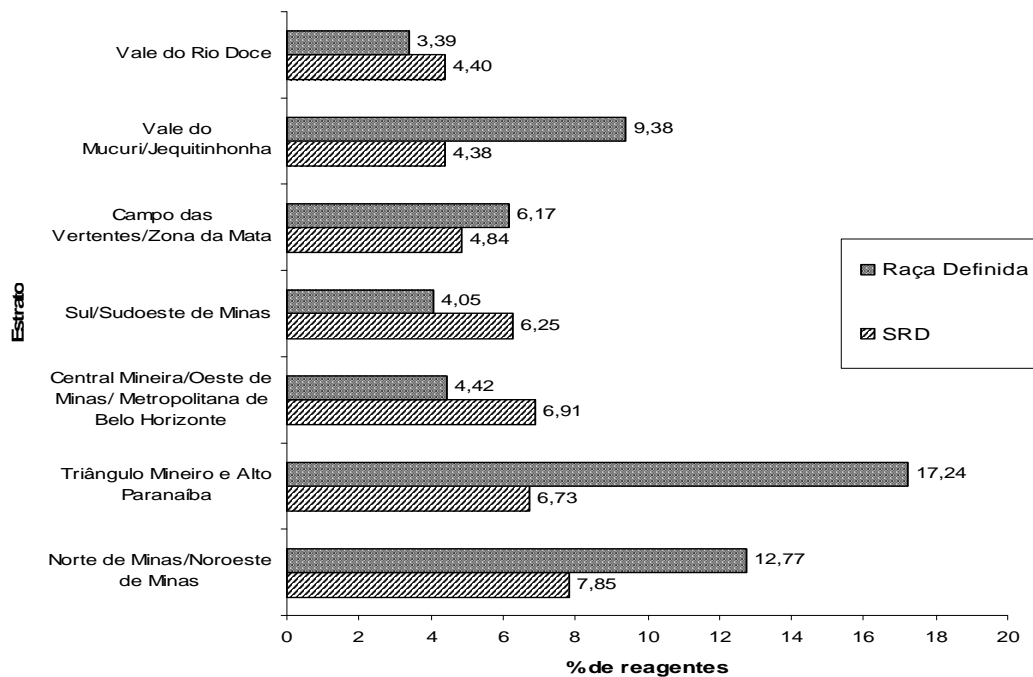


Gráfico 12 - Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a raça, Minas Gerais, 2003-2004.

Na Tabela 15 e Gráfico 13 estão registradas as freqüências de eqüídeos positivos em relação à idade e por estratos. Não foi encontrada associação estatística significativa entre as idades 6 a 12 meses, 13 a 24 meses, 25 a 60 meses, 61 a 120

meses e acima de 120 meses. Este dado coincide com os achados de Pellegrin et al. (1994), que não encontraram diferença significativa por idade e difere dos resultados de Langoni et al. (2004), que mostraram tendência de aumento das reações positivas nos animais mais velhos.

Tabela 15 - Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sangüíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a faixa etária, Minas Gerais, 2003-2004.

Estrato	Faixa Etária (meses)														
	6 a 12			13 a 24			25 a 60			61 a 120			acima de 120		
	A	P	%	A	P	%	A	P	%	A	P	%	A	P	%
Norte de Minas/ Noroeste de Minas	23	4	17,39	66	7	10,61	320	27	8,44	496	38	7,66	161	10	6,21
Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba	15	0	0,00	22	2	9,09	199	12	6,03	322	27	8,39	140	9	6,43
Central Mineira/Oeste de Minas/ Metropolitana de Belo Horizonte	42	3	7,14	45	1	2,22	252	18	7,14	407	31	7,62	163	7	4,29
Sul/Sudoeste de Minas	13	1	7,69	25	1	4,00	180	9	5,00	347	26	7,49	213	10	4,69
Campo das Vertentes/ Zona da Mata	20	2	10,00	29	4	13,79	167	6	3,59	335	15	4,48	150	8	5,33
Vale do Mucuri/ Jequitinhonha	40	1	2,50	80	1	1,25	345	10	2,90	683	41	6,00	276	11	3,99
Vale do Rio Doce	15	0	0,00	53	2	3,77	199	14	7,04	462	16	3,46	170	7	4,12
Total	168	11	6,55	320	18	5,63	1662	96	5,78	3052	194	6,36	1273	62	4,87

A = amostra; P = positivo
 $\chi^2 = 3,80$; P = 0,43

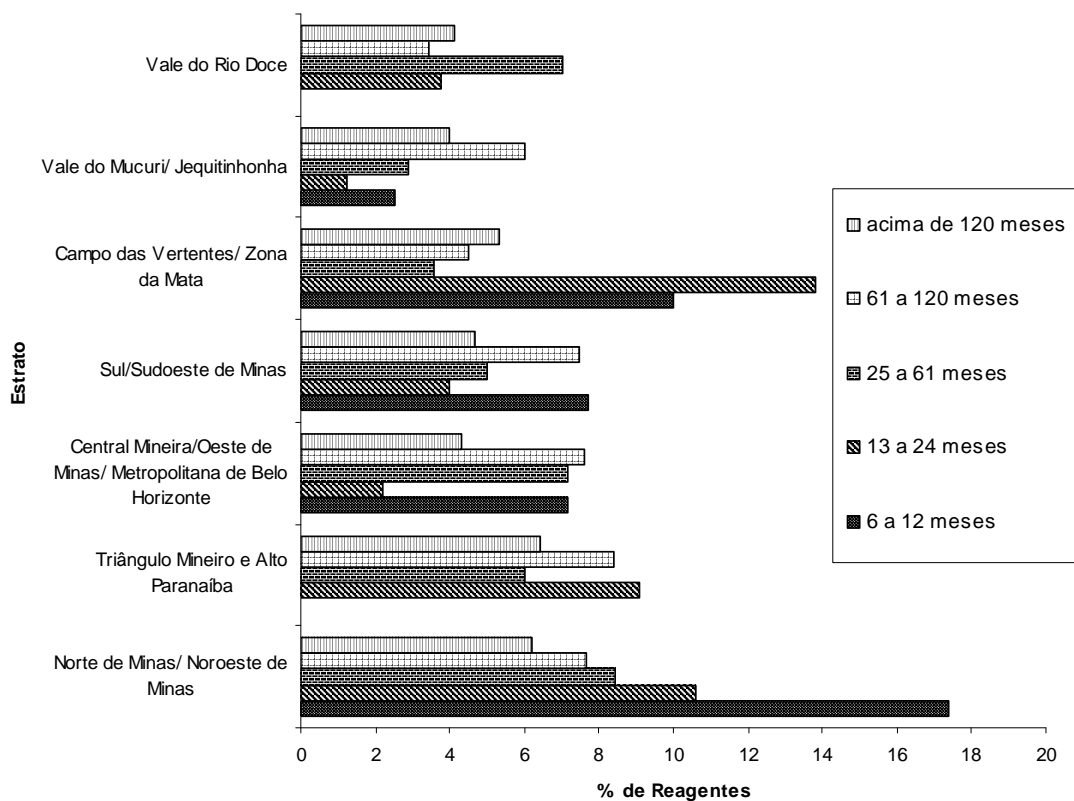


Gráfico 13 - Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos, por estrato, segundo a faixa etária, Minas Gerais, 2003-2004.

Os resultados obtidos na presente pesquisa revelam a necessidade de continuar realizando estudos epidemiológicos sobre as leptospiroses nos eqüídeos pela sua importância econômica e de saúde pública. Os eqüídeos são reservatórios e a estreita

relação com o homem pode representar um fator de risco para essa zoonose. Entretanto, a frequência de eqüídeos reagentes em toda Minas Gerais pode ser considerada baixa e essa situação favorável deve ser mantida e pode ser melhorada.

5 - CONCLUSÕES

- A infecção por *L. interrogans* em eqüídeos está distribuída em todas as regiões de Minas Gerais.
- A hardjo (Norma), pomona, bratislava e canicola foram as sorovariedades que apresentaram maiores freqüências de eqüídeos reagentes e com ampla distribuição espacial em Minas Gerais.
- A raça, espécie, idade e sexo dos eqüídeos, não são fatores que interferem na infecção por *L. interrogans*.
- Existe diferença significativa na freqüência de infecção pelas sorovariedades de *L. interrogans* de acordo com as diversas regiões de Minas Gerais.
- Títulos elevados para as sorovariedades hardjo (norma), pomona, bratislava, bataviae, canicola e icterohaemorrhagiae sugerem que elas estão presentes em Minas Gerais e que seria necessário o isolamento para confirmação.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUCHAIM D.M. Presença de aglutininas antileptospira em soro de eqüinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, n.19, p.9-14, 1991.
- BARBOSA M. Aglutininas e lisinas antileptospira em soros de bovinos, eqüinos e suínos em Minas Gerais. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, v. 14, p.1-26, 1962.
- BARCELOS C.; LAMMERHIRT C.B.; ALMEIDA M.A.B.; et al. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. *Cad. Saúde Pública*, v. 19, n.5, p. 1283-1292, 2003.
- BARWICK R.S.; MOHAMMED H.O.; MCDONOUGH P.L.; et al. Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance. *Prev Vet Med.*, v.36, n.2, p.153-165, 1998.
- CENSO Agropecuário 1996. Efetivo/rebanho, Brasil, MG. [s.l.]: IBGE, [2003]. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua>>. Acesso em: 10 agosto de 2005.
- CORDEIRO, P.; RAMOS A.A.; BATISTA JÚNIOR J.A. Aglutininas antileptospira em soro equino em Minas Gerais. *Rev. Agropecu. Bras.*, v. 9, n.7, p.45-48, 1974.
- CORRÊA, M.O.A.; AMATO NETO V.; VERONESI R.; et al. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.15, n. único, p.186-193, 1957.
- DONAHUE J.M.; SMITH B.J.; POONACHA K.B.; et al. Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991-1993 foaling seasons. *J. Vet. Diagn. Invest.* v.7, n.1, p. 87-91, 1995.
- ELLIS W.A.; O'BRIEN J.J.; CASSELLS J.A.; et al. Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: serological and microbiological findings. *Equine Vet. J.* v.15, n.4, p.317-320, 1983.
- ELLIS, W.A.; O'BRIEN, J.J.; CASSELLS, J. Role of cattle in the maintenance of *Leptospira interrogans* serotype hardjo infection in North Ireland. *Vet. Rec.* v.108, n.26, p.555-557, 1981.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; et al. *Leptospira and Leptospiroses*. 2 ed. Austrália: MediSci, 1999. 272p.
- GIORGI, W.; TERUYA, J.M.; MACRUZ, R.; et al. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. *Arq. Inst. Biol.*, v.47, n.2, p.47-53, 1981.

- LANGONI, H.; DA SILVA, A.V.; PEZERICO, S.B.; et al. Anti-leptospirose agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás, and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. *J. Venem. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* v.10, n.3, p.207-208, 2004.
- LILENBAUM 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, p.61-63, 1998.
- LILENBAUM, W.; BARBOSA, A.V.; CAVALCANTI, M.E.H.; et al. Problemas reprodutivos em éguas por leptospirose no estado do Rio de Janeiro, Brasil. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10., Belo Horizonte, 1993. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993. p.195.
- LINHARES, G.F.C.; GIRIO, R.J.S.; LINHARES, D.C.L. et al. Sorovariedades de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da Microrregião de Goiânia, GO. *Cienc. Anim. Bras.*, v.6, n.4, p.255-259, 2005.
- MATTHEWS, A.G.; WAITKINS, S.A.; PALMER, M.F. Serological study of leptospiral infections and endogenous uveitis among horses and ponies in the United Kingdom. *Equine Vet. J.*, v.19, n.2, p.125-128, 1987.
- MOREIRA, E.C. *Avaliação de métodos para erradicação de leptospiroses em bovinos.* 1994. 94f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.
- OLIVEIRA, S.J.; PIRES NETO, J.A.S. Aspectos etiológicos e diagnóstico nas leptospiroses. *Rev. CFMV*, v.10, n.33, p.36-46, 2004.
- PELLEGRIN, A.O.; SILVA, R.A.M.S.; RIBEIRO, S.C. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em eqüinos do Pantanal Mato-Grossense, sub-região da Nhecolândia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., Olinda, 1994. *Anais...* Olinda: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1994. p. 190.
- PROCEDIMIENTOS para estudios de prevalencia por muestreo. Buenos Aires: Centro Panamericano de Zoonosis, 1979. 35p. (Nota Técnica n.18, ver.1)
- PESCADOR, C.A.; CORBELLINI, L.G.; LORETTI, A.L. et al. Aborto eqüino por *Leptospira sp.* *Cienc. Rural*, v.4, n.1, p. 271-274, 2004
- PINHEIRO, H.H.; SILVEIRA, W.; OLIVEIRA, V.C. Pesquisa de aglutininas antileptospira em soros de eqüinos abatidos no Frigorífico Xavante – Araguari, MG. *A Hora Veterinária*, v.5, n.27, p.42-43, 1985.
- RYU, E. Rapid microscopic agglutination test for *Leptospira* without nonspecific reaction. *Bull. Off. Int. Epizoot.*, v.73, n.1, p.49-58, 1970.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal.* Belo Horizonte: FEPMVZ, 1998. 221p.
- SANTA ROSA, C.A.; CASTRO A.F.P.D.; CAMPEDELLI FILHO O.; et al. Leptospirose em eqüinos. *Arq. Inst. Biol.*, v. 35, n.2, p. 61-65, 1968.
- VELOSO, I.F. *Tipos de exploração pecuária e infecção por Leptospira interrogans em Minas Gerais, 1998-2002.* 2004. 87f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.