

DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE NA ESPÉCIE EQUINA NA ZONA SUL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

STARK, Cledir B.^{1*}; HETGES, Andréa; JORGE, Sérgio; RECUERO, Ana L.C.;
BROD, Claudiomar Soares; FERNANDES, Cláudia P.H.

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose que acomete animais domésticos, silvestres e o homem e a transmissão ocorre através da água contaminada por *Leptospiras* (Faine et al, 1999). Animais que vivem em áreas urbanas, cujas condições sanitárias e de infra-estrutura são precárias, junto a lixões, esgotos a céu aberto, depósitos de materiais descartados, proximidade com outras espécies animais, se constituem particularmente em população de risco (Barwick et al, 1997).

Na espécie eqüina a enfermidade foi descrita com apresentação subclínica, resultando em abortos, nascimentos de animais prematuros e debilitados. Os sintomas freqüentemente descritos são a febre, a icterícia, nefrite e complicações oculares (Hong et al, 1993). A oftalmia se instala após a fase de latência da doença, podendo ser detectada pela presença de leptospiras nas lesões oculares e alta concentração de anticorpos no humor aquoso (Acha e Szyfres). Os sorovares descritos como prevalentes em amostras de soro eqüino, detectados no teste de aglutinação microscópica são o *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Wolffi*, *Hardjo*, *Canicola*, *Ballum*, *Butembo*, *Bataviae*, *Pyrogenes*, *Javanica*, *Tarassovi*, *Panamá*, *Castellonis*, *Sejroe*, *Hebdomadis*, *Grippotyphosa* (Hong et al, 1993, Linhares et al, 2005, Molnar et al, 2001, Swart et al, 1982).

O presente estudo foi realizado para identificar os sorovares prevalentes nas amostras de soro eqüino reagentes no teste de aglutinação microscópica (MAT), recebidas para diagnóstico de leptospirose no Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública, departamento de Medicina Veterinária Preventiva, da UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de soro

Foram utilizadas amostras de soro de 71 eqüinos recebidas no laboratório do Centro de Controle de Zoonoses da UFPEL (CCZ UFPEL) para diagnóstico de leptospirose, no período de 18 de junho de 2006 a 18 de junho de 2007. As amostras de sangue total foram submetidas à centrifugação a 3.000 rpm por 5 min, recolhido o soro sobrenadante, identificadas e congeladas a -20°C até o momento do uso. Destas, 20 amostras foram submetidas à pesquisa direta de espiroquetas no soro, conforme solicitado pelo Médico Veterinário.

Teste de Aglutinação Microscópica (MAT)

Foi utilizada a técnica de aglutinação microscópica (MAT) para a pesquisa de aglutininas anti *Leptospira* nas amostras de soros (Faine et al., 1999). O título de triagem utilizado foi de 100.

¹-Centro de Controle de Zoonoses – Faculdade de Veterinária/UFPeI

Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900- email.cledirstark@hotmail.com

Os antígenos utilizados foram 50 (Tabela 1), cultivados em meio EMJH enriquecido. Nos casos de coaglutinação, o sorovar que apresentou maior título foi considerado como prevalente. O diagnóstico foi realizado no Laboratório

de Zoonoses e Saúde Pública, departamento de Medicina Veterinária Preventiva, da UFPEL, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

Tabela 1 - Sorovares de *Leptospira* utilizados na MAT

Sorogrupo	Sorovar	Amostra	Espécie genômica
Australis	<i>Australis</i>	Ballico	<i>L. Interrogans</i>
Australis	<i>Bratislava</i>	Jez Bratislava	<i>L. Interrogans</i>
Autumnalis	<i>Autumnalis</i>	Akiyami A	<i>L. Interrogans</i>
Autumnalis	<i>Rachmat</i>	Rachmat	<i>L. Interrogans</i>
Bataviae	<i>Bataviae</i>	Van Tienem	<i>L. Interrogans</i>
Bataviae	<i>Bataviae</i>	Swart	<i>L. Interrogans</i>
Canicola	<i>Canicola</i>	Hond Utrecht IV	<i>L. Interrogans</i>
Hebdomadis	<i>Hebdomadis</i>	Hebdomadis	<i>L. Interrogans</i>
Icterohaemorrhagiae	<i>Copenhageni</i>	M 20	<i>L. Interrogans</i>
Icterohaemorrhagiae	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	RGA	<i>L. Interrogans</i>
Icterohaemorrhagiae	<i>Copenhageni</i>	Winjberg	<i>L. Interrogans</i>
Icterohaemorrhagiae	<i>Lai</i>	Lai	<i>L. Interrogans</i>
Pomona	<i>Pomona</i>	Pomona	<i>L. Interrogans</i>
Pomona	<i>Proechimys</i>	1161 U	<i>L. Interrogans</i>
Pyrogenes	<i>Pyrogenes</i>	Salinem	<i>L. Interrogans</i>
Sejroe	<i>Saxkoebing</i>	Mus 24	<i>L. Interrogans</i>
Sejroe	<i>Wolffi</i>	3705	<i>L. Interrogans</i>
Sejroe	<i>Hardjo</i>	Hardjoprajitno	<i>L. Interrogans</i>
Sejroe	<i>Sejroe</i>	M 84	<i>L. Interrogans</i>
Sejroe	<i>Hardjo</i>	Lely 607	<i>L. Interrogans</i>
Djasiman	<i>Sentot</i>	Sentot 90 C	<i>L. Interrogans</i>
Djasiman	<i>Djasiman</i>	Djasiman	<i>L. Interrogans</i>
Ballum	<i>Castellonis</i>	Castellon	<i>L. Borgpetersenii</i>
Ballum	<i>Ballum</i>	Mus 127	<i>L. Borgpetersenii</i>
Celledoni	<i>Withcombi</i>	Withcombi	<i>L. Borgpetersenii</i>
Javanica	<i>Javanica</i>	Veldrat Batavia 46	<i>L. Borgpetersenii</i>
Javanica	<i>Poi</i>	Poi	<i>L. Borgpetersenii</i>
Mini	<i>Mini</i>	Sari	<i>L. Borgpetersenii</i>
Tarassovi	<i>Tarassovi</i>	Prelepelitsin	<i>L. Borgpetersenii</i>
Autumnalis	<i>Butembo</i>	Butembo	<i>L. Kirshneri</i>
Cynopteri	<i>Cynopteri</i>	3522C	<i>L. Kirshneri</i>
Grippotyphosa	<i>Grippotyphosa</i>	Moskva IV	<i>L. Kirshneri</i>
Grippotyphosa	<i>Grippotyphosa</i>	Duyster	<i>L. Kirshneri</i>
Louisiana	<i>Louisiana</i>	LSU 1945	<i>L. Noguchii</i>
Panamá	<i>Panamá</i>	CZ 214 K	<i>L. Noguchii</i>
Shermani	<i>Shermani</i>	1342 K	<i>L. Santarosai</i>
Celledoni	<i>Celledoni</i>	Celledoni	<i>L. Weillii</i>
Semaranga	<i>Semaranga</i>	Veldrat Semarang 173	<i>L. Meyeri</i>
Grippotyphosa	<i>Grippotyphosa</i>	Mandemakers	Desconhecida
Icterohaemorrhagiae	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Kantorovic	Desconhecida
Icterohaemorrhagiae	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	Verdum	Desconhecida
Doberdo	<i>Rufino</i>	RPE	Desconhecida
Garcia	<i>Garcia</i>	Garcia	Desconhecida
Australis	CCZ 27	CCZ 27	<i>L. Interrogans</i>
Australis	CCZ 49	CCZ 49	<i>L. Interrogans</i>
Canicola	CCZ 89	CCZ 89	<i>L. Interrogans</i>
Canicola	CCZ 463	CCZ 463	<i>L. Interrogans</i>
Desconhecida	CCZ 359	CCZ 359	Desconhecida
Desconhecida	CCZ 81	CCZ 81	<i>L. Noguchii</i>

Pesquisa Direta de Espiroquetas em microscopia de campo escuro (DFM)

Do total de amostras recebidas, 20 amostras foram submetidas à pesquisa direta de espiroquetas no soro após centrifugação a 3.000 x g por 5 minutos. Foram examinados 5µl do sobrenadante entre lâmina e lamínula (18X18mm), utilizando-se objetivas de 40X, ocular de 10X e condensador de campo escuro a seco. A visualização de uma ou mais espiroquetas com morfologia e movimentação características indicava diagnóstico positivo.

Análise dos Dados

Para a análise dos resultados obtidos, foi construído um banco de dados no programa EPI Info 6. O banco consta de identificação, procedência dos animais, data de coleta de amostras, reatividade na MAT e título de anticorpos dos sorovares reagentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A freqüência de soropositividade na MAT foi de 83,10%. Das 71 amostras de animais suspeitos de Leptospirose, 12 (16,90%) foram negativas e 59 (83,10%) foram positivas para um ou mais sorovares com títulos iguais ou superiores a 100. Das amostras reagentes, os sorovares patogênicos prevalentes foram *CCZ 463*, sorogrupo canicola, (32,2%) com título variando de 100 a 1600, sorovar *copenhageni* M20 (18,64%), *Grippotyphosa* Moskva IV e *copenhageni* L1 130 (16,9%), *Sentot* Sentot 90 C (15,25%) e sorovares *Cynopteri* 3522C, *Djasiman* *Djasiman*, *Proechimys*1161 U e *CCZ 359* (11,8%) com títulos variando entre 100 e 1600. O sorovar saprófita prevalente foi o *Illini* (61 %) ocorrendo em coagulações com sorovares patogênicos. O maior título contra sorovar patogênico (1.600) ocorreu para o sorovar *CCZ 359*, sorogrupo desconhecido, e contra sorovar saprófita (3.200) para o sorovar *illini*.

A freqüência de soros positivos, descrita neste estudo foi semelhante à descrita no estado do Pará (Molnar et al, 2001) mas inferior ao descrito em outras regiões do país (Giorgi, 1981, Linhares et al, 2005), porém os soros utilizados eram provenientes de animais com suspeita clínica de leptospirose, diferindo de estudos epidemiológicos realizados em populações aparentemente saudáveis.

Os sorovares prevalentes encontrados foram semelhantes aos descritos como comuns para a espécie equina (Linhares et al, 2005), porém a recomendação da inclusão de cepas isoladas locais (Levett, 2001) aumentou o número de soros reagentes e as cepas isoladas da região Sul, apresentaram a maior prevalência (*CCZ 463*) e o maior título (*CCZ 359*).

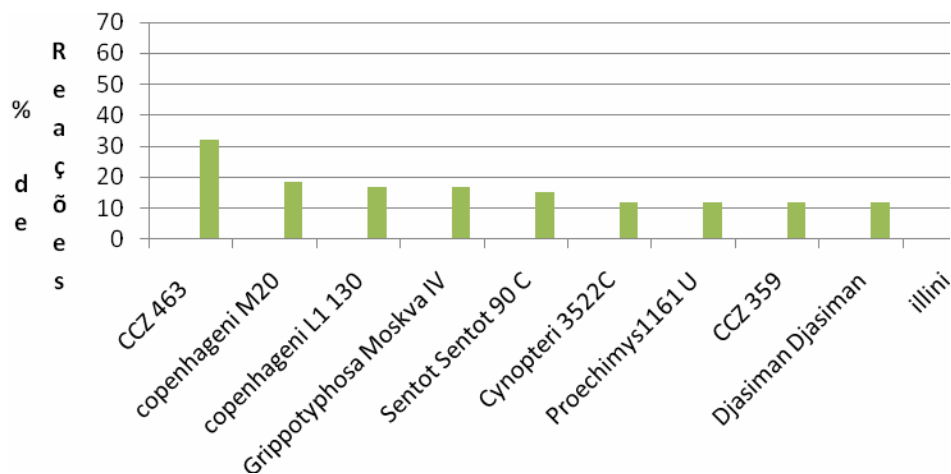


Figura 1- Sorovares prevalentes nas amostras de soro eqüino

4. CONCLUSÕES

Concluimos que amostras de soro da espécie eqüina devem ser analisadas com o maior número possível de sorovares, já que esta espécie animal é mantida nos centros urbanos e suburbanos como animais de tração para fretes de mercadorias como materiais de construção e lenha, convivendo em ambientes diversos e constantemente em contato com áreas onde há a presença de roedores, cães, bovinos e suínos, mantidos nas áreas suburbanas das cidades. Ainda, a inclusão de cepas isoladas de animais presentes no ecossistema aumenta a sensibilidade da MAT para o diagnóstico e identificação de soros reagentes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARWICK, R.S; MOHAMMED, H.O.; MCDONOUGH, P.L.; WHITE, M.E. Risk factors associated with the likelihood of Leptospiral seropositivity in horses in the state of New York. **American Journal Veterinary Research**, 1997, 58, p.1097-1103.

FAINE, S. ADLER, B. BOLIN, C. PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**, p.296. MediSci, Melbourne, Austrália, 1999.

GIORGI, W. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **Instituto Biológico de São Paulo**, 1981, 47, p. 47-53.

HONG, C.B.; DONAHUE, J.M.; GILES, R.C.; PETRITES-MURPHY, M.B.; POONACHA, K.B.; ROBERTS, A.W.; SMITH, B.J.; TRAMONTIN, R.R.; TUTTLE PA; SWERCZEK TW. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 following seasons. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 1993, 5, p. 560-566.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Review**, 2001, 14, p.296-326.

LINHARES, G. F. C.; GIRIO, R. J. S.; LINHARES, D. C. L.; MONDEIRO, L. C. M.; OLIVEIRA, A. P. A. Sorovares de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências

em cavalos da microrregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, 2005, 6, p. 255-259.

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

SWART, K. S.; CALVERT, K.; MENEY, C. The prevalence of antibodies to serovars of *Leptospira interrogans* in horses. **Australian Veterinary Journal**, 1982, 59, p. 25-27.