

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADEMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos na
microrregião do Pajeú de Pernambuco, Brasil

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

José Romero Alexandre Alves

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADEMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos na
microrregião do Pajeú de Pernambuco, Brasil

Orientador: Prof. Dr. Clébert José Alves

Discente: José Romero Alexandre Alves

Patos-PB, outubro de 2012.

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DO CSTR /
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CAMPUS DE PATOS

A474c

2012

Alves, Jose Romero Alexandre

Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos na microregião do Pajeú de Pernambuco, Brasil / Jose Romero Alexandre Alves. - Patos - PB: UFCG/UAMV, 2012.

34p.: il. Color.

Inclui Bibliografia.

Orientador: Clébert José Alves

(Graduação em Medicina Veterinária). Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

1- Epidemiologia - Veterinária. 2 - Equinos. 3 - Leptospirose

036.22:619

CDU: 616-

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADEMICA DE MEDICINA VETERINARIA

JOSÉ ROMERO ALEXANDRE ALVES
Graduando

Monografia submetida à Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM: 26/ 10/ 2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Clébert José Alves
Orientador

Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo
Examinador I

Dr. Severino Silvano dos Santos Higino
Examinador II

DEDICATÓRIA

A Deus, por me guiar e se fazer presente em minha vida, traçando o meu caminho ao alcance dessa graça.

Aos meus pais, Miguel e Maria, por acreditarem na minha capacidade e não cessarem esforços para que eu conseguisse essa vitória.

As minhas irmãs, Eliezita, Eliene, Elenice, Edileide e Edinete, por toda a força, incentivos e acompanhamento durante essa trajetória.

A todos os familiares e amigos que me deram força pra chegar até o presente.

AGRADECIMENTOS

A Deus, a meu pai Miguel, a minha mãe Maria, as minhas irmãs Eliezita, Eliene, Elenice, Edileide e Edinete que sempre estiveram presentes comigo durante essa caminhada.

A minha tia Maria José “*in memorian*”, que sempre me deu forças e se fez presente nos momentos difíceis de minha vida. A minha tia Lourdes, meus tios Antônio e Sales, que sempre me incentivaram em busca dos objetivos.

Ao meu primo Victor Hugo, que me incentivou em busca dessa vitória. A todos os primos e familiares que torceram e se fizeram presentes, me acompanhando por esse trajeto.

Ao Prof. Dr. Clébert José Alves, meu orientador, por acreditar e me guiar sempre, não medindo esforços para realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Sérgio Santos Azevedo e ao doutorando Severino Silvano dos Santos, que não mediram esforços em me ajudar na realização desse projeto, sendo indispensáveis na realização desse trabalho.

Aos professores Gil, Pedro Isidro, Eldinê, Sara, Norma, Theônys, Verônica, Solange “*in memorian*”, pelas lições de vida, e por me ensinarem que podemos vencer, e que realizar um sonho é possível.

A Dona Francinete, Técnica do Laboratório de Doenças Transmissíveis, pela paciência, apoio e contribuição à realização do meu trabalho. A Teresa e Damião, por possuírem o diferencial de afinidade com os alunos e pela grande utilidade no desempenho de seus ofícios.

Aos proprietários dos equinos e todos os vaqueiros da região que cederam os animais para a realização do projeto que através de sua boa vontade, contribuíram para que eu pudesse realizá-lo.

Aos meus amigos de turma Marcos Antônio “Toin da pop”, Assis “O véi”, Hermano Neto “Nêgo Neco”, Saulo Assunção “Saulim”, Kleiber Lins, Milton Marques “Aroeiras”, Márcio Eduardo “Dudu”, Meire Maria e a todos os outros que estarão pra sempre guardados na minha vida, por compartilharem cinco anos de amizades e bons momentos comigo.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Definição.....	11
2.2 Agente Etiológico	11
2.3 Epidemiologia	12
2.4 A Doença no Brasil	13
2.5 Patogenia.....	14
2.6 Características da Doença	14
2.7 Diagnóstico	15
2.8 Controle e Profilaxia	15
3 MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Descrição e Caracterização da Área Estudada	16
3.2 Animais	16
3.3 Delineamento amostral	16
3.4 Atividades de campo	17
3.5 Diagnóstico da infecção por <i>Leptospira</i> spp.	17
3.6 Questionário Epidemiológico	18
3.7 Análise dos dados	19
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
5 CONCLUSÕES	26
6 REFERÊNCIAS.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Sorogrupos e sorovares reagentes à prova de SAM, aplicados a leptospirose em soro de equinos de municípios da microrregião do Pajeú de Pernambuco, 2011.....	20
Tabela 2 -	Ocorrência de aglutininas anti-leptospiras em equinos, de acordo com a origem, número de animais, percentual de soropositivos e sorovar mais frequente.....	21
Tabela 3 -	Frequência absoluta (n) e relativa (%) da infecção por <i>Leptospira</i> spp. em equinos na microrregião do Pajeú de Pernambuco, 2011.....	23
Tabela 4 -	Análise multivariada dos fatores de risco associados à infecção por <i>Leptospira</i> spp. em equinos na microrregião do Pajeú de Pernambuco, 2011, estimados por regressão logística múltipla.....	24

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I -	Modelo de questionário epidemiológico aplicado.....	32
ANEXO II -	Sorovares de Leptospiras empregados como antígenos na técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) aplicados a Leptospirose em equinos, 2011.....	34

RESUMO

ALVES, JOSÉ ROMERO ALEXANDRE. Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos da microrregião do Pajeú de Pernambuco, Brasil. UFCG. 2012. 32p. (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

A leptospirose em equinos é uma das principais causas de aborto e falhas reprodutivas nas fêmeas e uveíte recorrente nos machos, causando prejuízos econômicos. Foi realizado inquérito epidemiológico objetivando analisar a presença de anticorpos antileptospiras em equinos e os principais fatores de risco relacionados à doença nas propriedades da microrregião do Pajeú de Pernambuco. Foram examinados 100 soros de equinos, provenientes de 38 propriedades de quatro municípios da região, pela prova de soroaglutinação microscópica, utilizando-se 24 sorovares de *Leptospira* spp. como antígenos. Das 100 amostras testadas, 28 (28%) foram reagentes. Os sorovares reagentes foram Patoc (10%), Butembo (9%), Sentot (4%), Australis (2%), Copenhageni (2%) e Hadjo (1%). A análise dos dados indicou como fator de risco a utilização de pasto como volumoso (OR= 7,80; IC 95%= 1,714 - 35,496).

Palavras-chave: Epidemiologia, equinos, leptospirose.

ABSTRACT

ALVES, JOSÉ ROMERO ALEXANDRE. Epidemiological characterization of leptospirosis in horses of the microrregion from Pajeu of Pernambuco, Brazil. UFCG. 2012. 32p. (Monograph-Veterinary Medicine, Preventive Veterinary Medicine and Animal Health).

Leptospirosis in horses is a major cause of abortion and reproductive failure in females and males in recurrent uveitis, causing economic losses. We conducted an epidemiological survey aimed to analyze the presence of leptospiral antibodies in horses and the main risk factors related to the disease in the properties of the microrregion from Pajeú of Pernambuco. We examined sera from 100 horses from 38 properties of four municipalities in the region, by the microscopic agglutination test, using 24 *Leptospira* spp. as antigens. Of the 100 samples tested, 28 (28%) were positive. The reagents serovars were Patoc (10%), Butembo (9%), sentot (4%), Australis (2%), Copenhageni (2%) and Hadjo (1%). Data analysis indicated as a risk factor as the use of pasture forage (OR = 7.80, 95% CI = 1.714 - 35.496).

Keywords: Epidemiology, horses, leptospirosis.

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose de significativa importância à saúde pública devido aos sérios problemas causados quando esta enfermidade acomete os seres humanos. Acomete várias espécies de animais silvestres e domésticos, sendo responsável por perdas econômicas consideráveis quando atinge rebanhos de produção.

Nos equinos essa doença se caracteriza por uma forma subclínica, ou seja, os sinais clínicos muitas vezes não são perceptíveis ou quando presentes podem ser confundidos com outras enfermidades. Aborto em éguas, nascimento de fetos fracos ou prematuros, bem como quadros de uveíte recidivante em equinos jovens podem ser indicativos de infecção por *Leptospira interrogans*, porém o diagnóstico só é possível de ser confirmado laboratorialmente, quando o agente é isolado ou pela presença de anticorpos no soro sanguíneo.

A detecção de anticorpos anti-leptospiras no soro de animais acometidos é indicativo de infecção presente ou que o organismo já tenha sido infectado anteriormente, sendo que animais com sinais clínicos indicativos de infecção podem ter diagnóstico confirmado pela detecção de anticorpos no soro, através de amostras pareadas, colhidas num intervalo aproximado de dez dias do início da infecção.

Alguns fatores de risco como presença de roedores nas instalações de criação, nos locais de armazenamento de ração e o contato com animais infectados devem ser levados em consideração quando há suspeita da enfermidade no rebanho, sendo a urina de animais portadores a principal via de eliminação da bactéria no ambiente.

Essa pesquisa teve como objetivos realizar inquérito epidemiológico para verificar a presença de anticorpos antileptospiras em equinos em municípios do sertão de Pernambuco, bem como quantificar o número de animais soropositivos, identificar os sorovares de leptospiras predominantes e verificar os fatores de risco associados à infecção nas propriedades.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Definição

De acordo com Marinho (2008), a Leptospirose é zoonose mundialmente distribuída que afeta os animais silvestres, domésticos e o homem, tendo caráter epidêmico com maior frequência em países tropicais e em desenvolvimento. De ocorrência variável, pode ser observada a forma epidêmica ou a forma esporádica (BATISTA et al., 2004), principalmente nos períodos de elevados índices pluviométricos, o que possibilita o aumento da sobrevivência da bactéria e maior risco de exposição aos susceptíveis (OLIVEIRA et al., 2010). É uma enfermidade infectocontagiosa causada por espiroquetas pertencentes ao gênero *Leptospira*, que possui vários sorotipos patogênicos podendo afetar, sobretudo os mamíferos inclusive o homem que pode infectar-se acidentalmente (DELGADO et al., 2007). É importante na espécie equina principalmente por causar problemas reprodutivos nas fêmeas, e também uveíte nos machos (BRAGA et al., 2011; PINNA et al., 2010).

2.2 Agente Etiológico

A doença é causada por bactérias membros da ordem *Spirochaetales*, da família *Leptospiraceae*, gênero *Leptospira*. De acordo com a classificação taxonômica clássica, com base em sorogrupos e sorovares e na patogenicidade, as leptospiras podem ser divididas em dois grupos: saprófitas e patogênicas. Dentre as espécies patogênicas estão: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans sensu stricto*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffi*, possuindo mais de 260 sorovares. Dentre as espécies saprófitas estão: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawe*, *L. kmetyim*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, compreendendo mais de 60

soroviedades (COSTA, 2010; FAINE et al., 1999; MAGAJEVSKI, 2007; SANTOS, 2007; VIEIRA, 2008).

As leptospiros são móveis, espiraladas flexíveis e móveis, delgadas, medindo em torno de 0,1 μM de largura e 6 a 20 μM de comprimento, possuindo uma ou as duas extremidades em forma de gancho. São visualizadas através de microscopia de campo escuro ou de contraste de fase (COSTA, 2010; HIRSH & ZEE, 2003).

São aeróbias estritas, de crescimento fastidioso *in vitro*, com divisão celular em torno de sete a doze horas. Essas bactérias têm um crescimento ótimo a uma temperatura de 28 a 30°C e pH 7,2 a 7,4, sobrevivendo bem em ambientes úmidos, pântanos, córregos estâbulos com excesso de umidade. São sensíveis à luz solar direta, a variações de temperatura e pH, bem como aos anti-sépticos e desinfetantes com pH abaixo de 6 a acima de 11 (ALCINDO, 2010; FAINE et al., 1999; MACHRY et al., 2010; SANTOS, 2007).

2.3 Epidemiologia

Cada sorovar tem um hospedeiro natural que é o reservatório do agente e os demais hospedeiros podem infectar-se acidentalmente, a exemplos dos sorovares Hadjo, Bratislava e Autumnalis que têm os hospedeiros naturais sendo os bovinos, suínos e equinos, e o rato, respectivamente, podendo estes sorovares afetar outros susceptíveis (DELGADO et al., 2007; VIEIRA, 2009).

A porta de entrada da infecção é através da pele e mucosas (CHIARELI et al., 2008). A via de eliminação do agente é através da urina de animais infectados ou de portadores naturais que contaminam pastagens, água e solo e alimentos (CHIARELI et al., 2008). Ainda pode ser transmitida pelo leite, água, fluidos placentários, sêmen e urina contaminados e por via transplacentária (PESCADOR et al., 2004). O período de incubação varia de 5 a 14 dias, mas tem sido descrito por períodos mais curtos ou mais longos (MARINHO, 2008).

Éguas que abortaram pela infecção por *Leptospiras* eliminam o agente via urina por período de tempo desconhecido após e provavelmente antes do aborto

(GOMES et al., 2007). Em condições ambientais favoráveis como pH neutro e umidade elevada, como em terrenos alagadiços, pântanos, e estâbulos com muita umidade o agente pode ficar viável por longos períodos no ambiente (FAINE et al., 1999).

O estado de portadores são e convalescentes tem grande importância na perpetuação da doença que atuam como fonte de infecção para as demais espécies, inclusive o homem (DELGADO et al., 2007).

É importante conhecer as espécies animais que atuam como reservatório e quais os sorovares prevalentes na região, pois existem sorovares endêmicos adaptados aos hospedeiros naturais o que favorece sua preservação no meio ambiente (HASHIMOTO et al., 2010). Em termos de saúde pública o impacto da doença implica no alto custo do tratamento com os seres humanos e a letalidade que varia de 5 a 20 %, e quanto à saúde animal o impacto é econômico resultando em queda na produção (MARINHO, 2008).

2.4 A Doença no Brasil

Em 1957 a doença no Brasil foi confirmada por estudo sorológico em cavalos do Exército brasileiro em São Paulo (LINHARES et al., 2005).

Atualmente as pesquisas realizadas com a doença nos equinos demonstrado a presença da leptospirose em todo território, com predominância os sorovares Icterohaemorrhagiae e Pomona em equinos (FAVERO et al., 2002). Linhares et al. (2005), em amostras de soro de equinos na microrregião de Goiânia-GO, identificaram os sorovares Icterohaemorrhagiae, Pomona, Wolffi, Hadjo e Canicola. Langoni et al. (2004) identificaram maior frequência para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Castellonis e Djasiman em equinos dos estados de São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul. Em Minas Gerais, Chiareli et al. (2008) encontraram as sorovarietades mais frequentes sendo a Hadjo, Pomona, Bratislava, Batavie, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Ballum e Copenhageni, respectivamente. Na Bahia, Gomes et al. (2007) identificaram os sorotipos Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes, Wolffi, Castellonis, Autumnalis e Hardjo.

2.5 Patogenia

Após penetrar no organismo ocorre a disseminação do agente via hematogênica.. A infecção se caracteriza por dois estágios: inicialmente ocorre uma bacteremia e a migração para órgãos como fígado, baço e rins por um período variável de quatro a dez dias. O segundo estágio ocorre após esse período, coincidindo com a alta titulação de anticorpos circulantes e redução da quantidade de patógenos detectáveis no sangue, sendo que estes sobrevivem em sítios onde a atuação de anticorpos é diminuída como humor aquoso do olho, causando uveíte, luz dos túbulos renais, causando nefrite intersticial, e útero, onde pode atingir os fetos causando morte e absorção do feto, aborto ou crias fracas (ALCINDO, 2010; FAINE et al., 1999; SANTOS, 2007).

2.6 Características da Doença

As formas clínicas da doença são variáveis conforme a espécie animal, susceptibilidade do indivíduo, virulência e patogenicidade do sorovar envolvido (MARINHO, 2008). As infecções na maioria das vezes são assintomáticas (HASHIMOTO et al., 2007) ou podem resultar em infecções agudas com sinais clínicos de febre, icterícia, hemoglobinúria, infertilidade, aborto e morte (BRAGA et al., 2011).

A associação entre a leptospirose e a doença equina foi questionada por muitos anos, mas hoje está claro que é uma importante causa de aborto e uveíte (LILENBAUM, 1998). Nos equinos pode desenvolver a forma crônica ou aguda – sendo esta última rara - caracterizada por septicemia, encefalite e hepatonefrite (LANGONI et al.,2004). Éguas abortam principalmente no sexto mês de gestação, ocorrendo também natimortos, nascimento de potros fracos. Em machos caracteriza-se com quadros de uveíte recorrente (MACIEL et al., 2010). HAMOND et al., 2011, sugeriram que a infecção por *Lepstospira* sp. pode potenciar casos de hemorragia pulmonar em equinos.

2.7 Diagnóstico

Para diagnóstico da Leptospirose podem ser usadas técnicas de isolamento do agente ou detecção de anticorpos específicos no soro do animal acometido. O isolamento do agente é de difícil realização devido às suas dificuldades de crescimento *in vitro*. A soroaglutinação microscópica para detecção de anticorpos séricos é a prova de eleição utilizada pela Organização Mundial de Saúde - OMS (DELGADO et al., 2007).

Os testes de imunofluorescência direta e sorologia fetal têm sido usados com resultados satisfatórios na confirmação do diagnóstico (PESCADOR et al., 2004). Ainda são usadas a histopatologia e imunoistoquímica (SOUSA, 2009) e o ELISA (GOMES et al., 2007). A utilização da técnica de Reação da Polimerase em Cadeia (PCR) pode ser usada como um teste de diagnóstico rápido de alta especificidade para sorovares patogênicas (VITALE et al., 2005).

2.8 Controle e Profilaxia

A adoção de medidas higiênico-sanitárias, bem como identificação e tratamento dos infectados com o uso de antibióticos e o controle dos reservatórios são medidas eficazes no controle da doença (SANTOS, 2007).

O controle da leptospirose num rebanho pode ser realizado pela identificação e tratamento dos portadores, juntamente com medidas profiláticas como a vacinação (PINNA, VARGES & LILENBAUM, 2008).

Alcindo (2010) destaca a vacinação como importante instrumento na prevenção da infecção, sendo importante conhecer os sorovares predominantes na região, tendo em vista que a vacinação é sorovar específica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Descrição e Caracterização da Área Estudada

O estado de Pernambuco é dividido geograficamente em cinco mesorregiões (Reg. Metropolitana, Zona da Mata, Agreste, Sertão e São Francisco). A mesorregião do Sertão é dividida em quatro microrregiões (Arapina, Salgueiro, Pajeú e Moxotó). A microrregião do Pajeú é composta por 17 municípios e tem como principal atividade a pecuária extensiva. Destacam-se a bovinocultura leiteira, caprinovinocultura e avicultura. A criação de equinos no estado de Pernambuco traz números significantes sendo representada por 54.050 estabelecimentos criadores com número de 139.811 animais, sendo que no Sertão do Pajeú existem 3.994 estabelecimentos com 7.421 animais (IBGE, 2011).

3.2 Animais

Foi utilizado soro de 100 equinos, de 38 propriedades, provenientes de quatro municípios da microrregião do Pajeú (Brejinho, Itapetim, Santa Terezinha e São José do Egito) do estado de Pernambuco, no período de junho a setembro de 2011.

3.3 Delineamento amostral

A amostragem foi delineada para a determinação de animais soropositivos para a infecção por *Leptospira* spp. Foi realizada uma seleção aleatória de um número pré-estabelecido de animais.

A amostragem foi feita utilizando o programa Epi info for Windows, sendo considerados os seguintes parâmetros: (a) prevalência esperada de 50%; (b) erro absoluto de 5%; e (c) nível de confiança de 95% (THURSFIELD, 2004). O valor encontrado para a amostra foi 94 animais.

3.4 Atividades de campo

As atividades de campo incluíram coleta de sangue, aplicação de questionário epidemiológico e envio das amostras para o Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), em Patos, PB.

As amostras de sangue foram colhidas de 100 equinos acima de seis meses de idade (para evitar interferência dos anticorpos colostrais), em volumes de 8 mL, pela punção da veia jugular com agulha descartável e tubo (sem anticoagulante) com capacidade de 8,5 mL. Após o dessoramento, o soro foi transferido para microtubos e congelado. O transporte das amostras para o laboratório foi feito em caixas de isopor com gelo. O questionário epidemiológico acompanhou as amostras até o laboratório onde foi guardado para posterior avaliação.

3.5 Diagnóstico da infecção por *Leptospira* spp.

Para o diagnóstico da infecção por *Leptospira* spp., utilizou-se o teste de soro aglutinação microscópica (SAM), prova de referência pela OMS (DELGADO et al., 2007). Foi utilizada uma bateria de antígenos composta por 22 sorovares patogênicos (Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, canicola, Whitcombi, Cynoptery, Grippotyphosa, Hebdomalois, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hadjo, Wolffi, Shermani, Tarassovi, Andamana) e 2 sorovares saprófitas (Patoc e Sentot)

(FAINE et al., 1999) mantidos em culturas em meio líquido de EMJH modificado suplementado com 15% de soro estéril de coelho e inativado a 56°C por 30 minutos, enriquecido com 1% de piruvato de sódio, 1% de cloreto de cálcio, 1% de cloreto de magnésio e 3% de L-asparagina e incubadas durante sete a dez dias em estufa bacteriológica a 28°C. Cada cultura foi examinada quanto à pureza e ausência de autoaglutinação em microscopia de campo escuro em aumento 100X. A densidade antigênica foi acertada para conter aproximadamente de 100 a 200 microrganismos por campo microscópico (100X). (SANTA ROSA, 1968).

Cada amostra de soro foi diluída a 1:50 em solução salina tamponada de Sorënsen (pH 7,4); 50 µL do soro diluído foram colocados em micro placa de poliestireno de fundo chato com 96 poços, e acrescentados de 50 µL do antígeno, obtendo-se diluição inicial 1:100. Cada amostra sorológica foi colocada frente à bateria antigênica com 24 sorovares. As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 °C por três horas. Os soros reagentes na triagem foram novamente testados para a determinação do título final de aglutininas antileptospiras, efetuando-se diluições seriadas em escala geométrica de razão dois em solução salina tamponada de Sorënsen (pH 7,4) e acrescentados de 50 µL do antígeno detectado como positivo na triagem, seguindo-se o procedimento anterior. As leituras foram realizadas em microscópico óptico com condensador de campo escuro seco, com lente objetiva 10x/0,20 e ocular 10 (100X), observando-se a formação de aglutinações. Na triagem, os soros na diluição de 1:100 que revelaram 50% ou mais leptospiras aglutinadas foram titulados frente aos respectivos antígenos. O título final foi a recíproca da maior diluição (≥ 100) que apresentou pelo menos 50% de leptospiras aglutinadas (FAINE et al., 1999).

3.6 Questionário Epidemiológico

Foi aplicado um questionário aos proprietários (**Anexo I**), onde foram abordadas as seguintes variáveis: origem, raça, sexo, idade, finalidade de criação, sistema e ambiente de criação, participação em eventos, convivência com outros animais, alimentação, presença de roedores na propriedade, prática

de vacinação contra leptospirose, ocorrência de aborto e uveíte nos equinos da propriedade.

3.7 Análise dos dados

O resultado do teste de diagnóstico e as informações do questionário epidemiológico aplicado em cada propriedade foram armazenados em um banco de dados, utilizando o programa Microsoft Access®. As variáveis de risco associadas à soropositividade dos animais foram calculadas utilizando-se a análise estatística univariada através do teste Qui-quadrado e as variáveis que apresentaram $p < 0,20$ foram selecionadas para análise multivariada seguidas de regressão logística. Valores do *Odds Ratio* (OR) também foram calculados. O nível de significância utilizado nas decisões dos testes estatísticos foi de 5%. Para a execução dos cálculos utilizou-se o programa SPSS for Windows 12.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Dos 100 animais testados, 28 reagiram positivamente para pelo menos um dos 24 sorovares de *Leptospira* spp. utilizados na bateria de antígenos (**Anexo II**). Nesse contexto, a taxa de ocorrência de anticorpos anti-leptospiras foi de 28% nesse estudo. Resultados aproximados foram encontrados por Favero et al., (2002), que detectaram 27,94% de equinos soropositivos nos estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraíba e Piauí e por Gomes et al., (2007), que detectaram 23% de animais soropositivos no estado da Bahia. Esse número diverge de outros resultados encontrados por diversos autores que encontraram número de soropositivos superiores (BRAGA et al., 2011; HASHIMOTO et al., 2007; HASHIMOTO et al., 2010; LANGONI et al., 2004; FAVERO et al., 2002; GOMES et al., 2007; LINHARES et al., 2005; MACIEL et al., 2010; PINNA et al., 2008). Chiareli et al., (2008) encontraram percentual inferior a este resultado em equinos do estado de Minas Gerais. Tal resposta sorológica reflete exposição natural à infecção já que não é praticada a vacinação contra leptospirose nos equinos da região.

Dos 28 animais reagentes o sorovar que reagiu com maior frequência foi o Patoc, representando 10,0% (10/100), seguido do sorovar Butembo 9,0% (9/100), Sentot 4,0% (4/100), Australis 2,0% (2/100), Copenhageni 2,0% (2/100) e Hadjo 1,0% (1/100), conforme **Tabela 1**.

Tabela 1 - Sorogrupos e sorovares reagentes à prova de SAM, aplicados a leptospirose em soro de equinos de municípios da microrregião do Pajeú de Pernambuco, 2011.

Sorogrupo	Sorovar	Nº de animais infectados	Frequência (%)
Australis	Australis	2	2,0
Seramanga	Patoc	10	10,0
Serjoe	Hardjo	1	1,0
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	2	2,0
Autummalis	Butembo	9	9,0
Djasiman	Sentot	4	4,0
Total	-	28	28,0

Tabela 2 - Ocorrência de aglutininas anti-leptospiras em equinos, de acordo com a origem, número de animais, percentual de soropositivos e sorovar mais frequente.

Origem	Nº de animais	% de reagentes	Principal Sorovar	Referência
Rio de Janeiro	199	53,80	Icterohaemorrhageae	Braga, 2011
Minas Gerais	6475	05,90	Hadjo	Chiareli et al., 2008
Diversos estados	2903	27,94	Icterohaemorrhageae	Favero et al., 2002
Bahia	106	23,00	Icterohaemorrhageae	Gomes et al., 2007
Londrina – PR	320	66,88	Icterohaemorrhageae	Hashimoto et al., 2007
Jaguapitã – PR	161	48,40	Castellonis e Sentot	Hashimoto et al., 2010
SP, GO, MS	1482	54,00	Icterohaemorrhageae	Langoni et al., 2004
Goiânia – GO	182	45,05	Icterohaemorrhageae	Linhares et al., 2005
Santa Maria – RS	39	100,00	Icterohaemorrhageae	Maciel et al., 2010
Rio de Janeiro	148	55,40	Bratislava	Pinna et al., 2008

A diversidade de sorovares de *Leptospira* spp. pode está associada a presença de reservatórios no ambiente estudado, concordando com o já mencionado em estudos anteriores (BRAGA, 2011; FAVERO et al., 2002; ESCÓCIO et al., 2010; PINNA et al., 2008).

O sorovar Patoc que reagiu com maior frequência nesse estudo (10%), diferentemente de resultados sorológicos realizados em equinos por diversos autores, onde o sorovar Icterohaemorrhageae foi o mais frequente (BRAGA et al., 2011; HASHIMOTO et al., 2007; LANGONI et al., 2004; FAVERO et al., 2002; GOMES et al., 2007; LINHARES et al., 2005; MACIEL et al., 2010). Apesar de não causar enfermidade, este sorovar pode ser encontrado casualmente em cultivos de material clínico (OMS, 2008). Delgado (2010) destaca a importância epidemiológica deste sorovar, pois apesar de raro, já foi isolado em casos clínicos em outras espécies animais, podendo também esse sorovar apresentar reações cruzadas com sorovares patogênicos, o que ressalva a possibilidade de infecção por sorovares patogênicos de *Leptospira* spp. nos animais testados.

Os sorovares Butembo e Copenhageni também ocorreram com frequência de 9% e 2%, respectivamente, sugerindo a ocorrência de roedores no ambiente que atuam como reservatório natural desses sorovares de acordo com Vieira

(2009). Apesar da observação de roedores ser pouco descrita pelos proprietários, é possível a circulação desses animais pelo recinto de armazenamento de ração e pela pastagem, principalmente à noite, eliminando estes sorovares de forma a contaminar os alimentos e água oferecidos aos animais.

O sorovar Sentot foi o terceiro sorovar mais frequente nesse estudo com frequência de 4%. Resultado semelhante ao encontrado por Pimenta (2011) em caprinos leiteiros de propriedades do semiárido paraibano. Trabalhos realizados anteriormente relatam dois casos de leptospirose pelo sorovar Sentot em seres humanos (CORRÊA et al., 1964), enfatizando a importância desse sorovar para a espécie humana. Os resultados citados e os achados no presente trabalho reforçam o possível risco de transmissão entre equinos e seres humanos. A presença do sorovar Australis (2%), encontrada nesse estudo concorda com a literatura (LILENBAUM, 1998; PINNA et al., 2008; SIQUEIRA, 2012) que sugerem que o cavalo seja hospedeiro desse sorovar, destacando assim a importância da espécie equina como reservatório, atuando como fontes de infecção na região. O sorovar Hadjo (1%), encontrado pode está associado ao contato dos equinos com a espécie bovina, sendo esse sorovar difundido mundialmente e adaptado aos bovinos (HASHIMOTO et al., 2012). Isso reforça a possibilidade do aumento do risco de infecção por *Leptospira* spp. pelo contato entre diversas espécies animais domésticos e silvestres no ambiente, como citado por Escócio et al. (2010) e Hashimoto et al., (2007).

Na análise univariada foi observada associação significativa ($p \leq 0,20$) para as seguintes categorias: município de origem ($p=0,003$), sexo ($p=0,147$), criação para esporte ($p=0,174$), criação para reprodução ($p=0,151$), animais que visitam vaquejadas em outros estados ($p=0,098$), animais que visitam feiras ($p=0,139$), sistema de criação ($p=0,046$), e fornecimento de pasto como volumoso ($p=0,006$) (**Tabela 3**). Tais resultados foram submetidos ao modelo final de regressão logística e a única variável identificada como fator de risco foi a utilização de pasto como volumoso (OR=7,80 e $p=0,008$) (**Tabela 4**).

Tabela 3 – Frequência absoluta (n) e relativa (%) da infecção por *Leptospira* spp. em equinos na microrregião do Pajeu de Pernambuco, 2011.

Variável	SAM		Total	Valor de p
	Positivo			
	FA	FR (%)		
Município				
Brejinho	12	46,15	26	0,003*
Itapetim	12	40,00	30	
Santa Terezinha	2	8,33	24	
São José do Egito	2	10,00	20	
Sexo				
Macho	14	22,22	63	0,147*
Fêmea	14	37,84	37	
Raça				
Mestiço	24	28,57	84	1,000
quarto-de-milha	4	25,00	16	
Idade				
até 6 anos	5	16,67	30	0,247
7-10 anos	17	32,08	53	
> 10 anos	6	35,29	17	
Criação				
Esporte	16	23,19	69	0,174*
Reprodução	7	46,67	15	
Tração	4	50,00	8	0,301
Cria	7	29,17	24	1,000
Origem				
da propriedade	0	0,00	2	0,318
de propriedade da região	27	30,34	89	
de outra região	1	11,11	9	
Visita aglomerações				
Sim	7	28,00	25	1,000
Não	21	28,00	75	
Sistema de criação				
Extensivo	1	16,67	6	0,046*
semi-intensivo	22	37,29	59	
Intensivo	5	14,29	35	
Contato com outros animais				
Sim	25	28,09	89	1,000
Não	3	27,27	11	
Terrenos alagados				
Sim	18	25,35	71	0,498
Não	10	34,48	29	
Volumoso: pasto				
Sim	26	36,62	71	0,006*

Não	2	6,90	29	
Volumoso: capim				
Sim	25	28,41	88	1,000
Não	3	25,00	12	
Concentrado				
Sim	20	26,32	76	0,684
Não	8	33,33	24	
Presença de roedores				
Sim	13	22,81	57	0,268
Não	15	34,88	43	
Ocorrência de aborto				
Sim	7	28,00	25	1,000
Não	21	28,00	75	
Ocorrência de uveíte				
Sim	1	50,00	2	0,484
Não	27	27,55	98	

*Vaiáveis selecionadas e usadas na regressão logística múltipla ($p < 0,20$).

Tabela 4 - Análise multivariada dos fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em equinos na microrregião do Pajeú de Pernambuco, 2011, estimados por regressão logística múltipla.

Variável	Odds Ratio	I.C. 95%	Valor de P
Utilização de pasto como volumoso	7,80	1,714 - 35,496	0,008

O fator de risco encontrado foi a utilização de pasto como volumoso (OR= 7,80), provavelmente devido a existência de reservatórios naturais de *Leptospira* spp. na região, os quais eliminam o agente na pastagem, aumentando a viabilidade do agente em microclimas úmidos, criando condições ambientais favoráveis que estão estritamente vinculadas com a ocorrência de focos de infecção (ALVES et al, 1996; GENOVEZ et al, 2006). Geralmente a alimentação volumosa oferecida aos animais provinha de áreas alagadiças, próximas a aguadas e às vezes de regiões periurbanas, próximo a canais e lixões, favorecendo a ocorrência de reservatórios nesse ambiente e sendo essa a principal fonte de alimento. A ocorrência de roedores no ambiente de criação, incluindo os locais de armazenamento de ração aumenta o risco de contaminação, tendo em vista os mesmos atuarem como reservatórios naturais de leptospiros, atuando assim como fonte de infecção ao eliminar o agente no

solo, água e na ração fornecida aos animais, de acordo com Siqueira (2012), o qual enfatiza essa possibilidade.

O sistema de criação expressou diferença significativa ($p=0,046$), destacando a importância do ambiente como possível fator de risco à infecção. Observou-se maior número de propriedades no sistema semi-intensivo, onde os animais eram soltos em grupos na pastagem durante o dia, geralmente áreas úmidas de solo rico fértil coberto com pastagem, sendo confinados em baias individuais ou coletivas durante a noite, estas contendo reservatórios de água e alimentos. Escócio et al. (2010) afirmam que solos úmidos e férteis são ambientes propícios ao desenvolvimento de leptospiros, o que corrobora com esse tipo de ambiente. Chiareli et al. (2008), afirmam que equinos que coabitam em ambientes contaminados têm mais chance de desenvolver a infecção. De acordo com Siqueira (2012) o ambiente pode favorecer a presença de reservatórios que eliminam o agente, aumentando os riscos de contato dos susceptíveis, confirmando o resultado encontrado nessa pesquisa.

O município com maior número de animais positivos foi Itapetim com 12 casos, seguido de Brejinho com 11, São José do Egito com 03, seguido de Santa Terezinha com 02 casos. Tal resultado expressa diferença significativa ($p=0,003$) entre os municípios. Isso reflete o que foi observado nos municípios com maior número de reagentes, onde a existência de propriedades em que as condições de manejo e criação dos animais, bem como o ambiente de criação próximo a áreas periurbanas, proximidade com lixões e áreas alagadiças em solos úmidos com presença de matéria orgânica são mais frequentes, provavelmente contribuiu para esse resultado. Esse resultado corrobora ao exposto por Hashimoto et al. (2012), em que a infecção por *Leptospira* spp. pode ser favorecida naquelas propriedades onde não exista condições sanitárias adequadas. Segundo Escócio et al. (2010), a presença de água e matéria orgânica em solos contaminados pela urina de infectados propicia uma importante condição ambiental na transmissão de leptospiros. De acordo com Hashimoto et al.,(2010), o manejo é um dos fatores que contribuem para a infecção por *Leptospira* spp. Criações de animais em condições sanitárias deficientes, próximo a lixões, esgoto a céu aberto e aquelas onde existe o contato com outras espécies animais são fatores de risco para a infecção (HASHIMOTO et al., 2007).

5 CONCLUSÕES

A presença de animais soropositivos indicando a existência da doença na região, sugerindo a existência de *Leptospira* spp. no ambiente, possivelmente eliminada por hospedeiros naturais, aumentando o risco de infecção dos susceptíveis. Os sorovares encontrados enfatizam a necessidade de estudos mais aprofundados a fim de se entender a dinâmica dos mesmos no ambiente e nos animais, bem como o papel dos reservatórios como fator de risco à infecção.

Destaca-se a importância da implantação de programas de prevenção e controle nas propriedades, como programas de vacinação e melhoria das condições sanitárias, com o objetivo de reduzir a ocorrência da doença, diminuindo conseqüentemente, as perdas econômicas e o risco de transmissão aos seres humanos.

6 REFERÊNCIAS

ALCINDO, J.F. **Caracterização da leptospirose em ovinos deslanados do semi-árido da Paraíba**. UFCG. 2010. 35p. (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

ALVES C.J. et al. Influência dos fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.63, n.2, p.11-18. 1996.

BATISTA, C.S.A. et al. Soroprevalência de Leptospirose em Cães errantes da Cidade de Patos, estado da Paraíba, Brasil. **Braslian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo: v.41, p.131-136, 2004.

BRAGA, J., et al. Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar Icterohaemorrhagiae in Rio de Janeiro, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro. v.31, n.2, p.147-150, fevereiro, 2011.

CHIARELI, D. et al. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em equídeos, em Minas Gerais, 2003 a 2004. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 60, n. 6, p. 1576-1579, 2008.

CORRÊA, M. O. A. et al. Leptospiroses humanas ainda não assinaladas no Brasil. **Revista instituto de medicina tropical**, v. 6, n. 2, p. 71-74, 1964.

COSTA, S.M. **Frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. e *Trypanosoma cruzi* em primatas neotropicais mantidos em cativeiro**. Belém: 2010. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Pará. Belém, 2010.

DELGADO, F. et al. Adaptación de un Protocolo de Inmunohistoquímica para la Detección de *Leptospira* spp. en Muestras de Tecido Fijado en Formaldehído. **Revista Cubana de Medicina Tropical**. v. 59, n.1, p.14-18, 2007.

DELGADO, P.M. **Deteccção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em peixes-bois (*Trichechus inunguis*) de dois centros de preservação da Amazônia brasileira**. Dissertação (mestrado). Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo. São Paulo. 2010.

ESCÓCIO, C. et al. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos na região de Sorocaba-SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.3, p.371-379, jul.-set., 2010.

FAINE, S. et al. **Leptospira and Leptospirosis**. 2 ed. Sydney: MediSci. 1999. 272p.

FAVERO, A.C.M. et al. Sorovares de Leptospiras Predominantes em Exames Sorológicos de Bubalinos, Ovinos, Caprinos, Equinos e Cães de Diversos Estados Brasileiros. **Ciência Rural, Santa Maria**. V.32, n.4, p.613-619, 2002.

FEIJÓ, L. S. et al. Incidência de Leptospirose nos Cavalos de Pelotas-RS. In: **XVII Congresso de Iniciação Científica & X Encontro de Pós-Graduação**. Anais. Pelotas-RS. 2008.

GENOVEZ, M.E., et al. Effect of *Leptospira* spp. serovar hardjo infection on reproduction of two beef nelore herds with different serological status. In: **XXIV World Buiatric Congress**. Nice-France. 24p. October,15-19, 2006.

GOMES, A.H.B. et al. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de equinos no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.8, n.3, p. 144-151, jul./set. 2007.

HAMOND, C. et al . Pulmonary hemorrhage in horses seropositive to leptospirosis. **Pesquisa Vet. Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 5, maio 2011 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2011000500008&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 17 set. 2011.

HASHIMOTO, V.Y et al. Occurrence of Antibodies against *Leptospira* spp. In Horses of the Urban Area of Londrina, Parana, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. São Paulo: v.49, n.5, p.327-330, Setembro-outubro, 2007.

HASHIMOTO, V.Y. et al. Prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. Em bovinos, caninos, equinos, ovinos e suínos do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.77, n.3, p.521-524, jul./set., 2010.

HASHIMOTO, V.Y. Prevalência e fatores de risco associados à *Leptospira* spp. em rebanhos bovinos da região centro-sul do estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.32, n.2, p.99-105, fevereiro. 2012.

HIRSH, D.C. & ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2003. 446p.

IBGE___ Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal - 2010**. Rio de Janeiro: IBGE 2011.

Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pe#>.

Acessado em: 02/07/2012.

JORGE, Rodrigo Silva Pinto et al . Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 4, jun. 2011 . Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762011000400009&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 17 set. 2011.

LANGONI, H. et al. Anti-Leptospire Agglutinins in Equine Sera, from São Paulo, Goiás, and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.** v.10, n.3, p.209. 2004. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-91992004000300003&lng=en&nrm=iso>

Acesso em: 12/09/2010.

LILENBAUM, W. Leptospirosis on Animal Reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brasil (1993-1996). **Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo: v.35, n.2, p.61-63, 1998.

LINHARES, G.F.C. et al. Sorovares de *Leptospira Interrogans* e Respectivas Prevalências em Cavalos da Microrregião de Goiânia, Goiás. **Ciência Animal Brasileira**. v.6, n.4, p. 255-259, out./dez. 2005.

MACIEL, R.M. et al. **Incidência de Aglutininas Anti-leptospiras em Soro de Equinos Utilizados na Tração de Carroças no Município de Pelotas-RS.**

Disponível em:

<<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1040-2.pdf>>.

Acesso em: 10/09/2010.

MACHRY, L. et al. Caracterização de cepas de referência de *Leptospira* sp. utilizando a técnica de *pulsed field gel eletrophoresis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. vol.43, n.2, p.166-169, mar-abr, 2010.

MAGAJEVSKI, F.S. ***Leptospira* spp. e *Brucella* spp. em fetos e oócitos colhidos de vacas no momento do abate**. Jaboticabal: 2007. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2007. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/mvp/d/1593.pdf>>. Acesso em: 03/10/2012.

MARINHO, M. Leptospirose: Fatores Epidemiológicos, Fisiológicos e Imunopatogênicos. **Veterinária e Zootecnia**. v. 15, n.3, p. 428-434, dezembro 2008.

OLIVEIRA, F. C. S. et al. Fatores de Risco para a Leptospirose em Fêmeas Bovinas em Idade Reprodutiva no Estado da Bahia, Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.30, n.5, p.398-402, maio 2010.

OMS 2008. **Leptospirosis humana: guia para El diagnóstico, vigilância y control**. Organización Mundial de la Salud, Rio de Janeiro. 127p.

PESCADOR, C.A. et al. Aborto Equino por *Leptospira* sp. **Ciência Rural**. Santa Maria: v.34, n.1, p.271-274, jan-fev, 2004.

PIMENTA, C.L.R.M. **Soroprevalência de leptospirose em rebanhos caprinos leiteiros no semiárido da Paraíba**. UFCG. 2011. 38p. (Trabalho de Conclusão de Curso em Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal).

PINNA, M.H. et al. Aplicação de um Programa Integrado de Controle da Leptospirose em Equinos no Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 15, n.2, p.63-66, mai-ago, 2008.

PINNA, M., et al. Seropositivity to *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associated to reproductive problems without significant biochemical or hematological alterations in horses. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.40, n.10, out, 2010.

RIET-CORRÊA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. 2 ed. V.1. São Paulo: Varela. 2001. 426p.

SANTA ROSA, C. A. et al. Leptospirose em Equinos. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo. v. 35, p. 61-65, 1968.

SANTOS, W.R.R. **Investigação soropidemiológica para brucelose e leptospirose em equídeos de tração e seus tratadores nos municípios de Belém e Ananindeua – Pará**. Belém: 2007. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal do Pará. Belém, 2007.

SOUSA, A. L. G. **Histopatologia e Imunoistoquímica do Bulbo do Olho de Equinos (*Equus caballus*, Linnaeus, 1758) Soropositivos ou Soronegativos para Leptospirose**. Jaboticabal: 2009. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

THRUSFIELD, M. V. **Epidemiologia Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca. 2004. 556p.

VIEIRA, A.S. **Levantamento de *Leptospira* spp. em animais silvestres do pantanal sul-mato-grossense por meio de técnicas sorológicas e moleculares**. Campo Grande. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

VIEIRA, M.L. **Análise da expressão de proteínas de *Leptospira interrogans* virulentas e avirulentas pela proteômica**. São Paulo: 2008. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
Disponível em:
<www.teses.usp.br/teses/.../87/.../MonicaLarucciVieira_Mestrado.pdf>
Acesso em: 03/10/2012.

VITALE, M. et al. Polymerase chain reaction method for leptospirosis, analysis on samples autochthon swine population in Sicily, Italy. **Revista Cubana de Medicina Tropical**. v. 57, n.1, p.25-27, 2005.

ANEXO I – Modelo de questionário epidemiológico

Questionário epidemiológico	
Município:	
Propriedade:	
Proprietário:	
Identificação do animal	
Nome:	
Numero:	
Sexo:	
Raça:	
Idade:	
1 Qual a finalidade da criação?	
<input type="checkbox"/> esporte	<input type="checkbox"/> reprodução
<input type="checkbox"/> tração	<input type="checkbox"/> cria
2 Qual a origem do animal?	
<input type="checkbox"/> da propriedade	<input type="checkbox"/> de prop. Da região
	<input type="checkbox"/> de outra região _____
3 O animal visita locais de aglomeração de animais? Quais?	
<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
	<input type="checkbox"/> vaquejada na região
	<input type="checkbox"/> vaquej. Em outros estados
	<input type="checkbox"/> Feiras de animais
4 Qual o sistema de criação?	
<input type="checkbox"/> extensivo	<input type="checkbox"/> semi-intensivo
	<input type="checkbox"/> intensivo
5 O animal tem contato com outros animais na propriedade? Quais?	
<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim _____
6 o animal tem contato com terrenos alagados ou úmidos?	
<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
7 Qual a alimentação?	
Volumoso:	
<input type="checkbox"/> pasto	<input type="checkbox"/> feno
<input type="checkbox"/> capim	<input type="checkbox"/> sorgo
<input type="checkbox"/> milho forragem	
Concentrado:	
<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
8 É observada a presença de roedores na propriedade? Onde?	
<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim
	<input type="checkbox"/> nos currais
	<input type="checkbox"/> nas baias
	<input type="checkbox"/> armazém de ração
9 É ou já foi feita vacinação contra leptospirose nos equinos da propriedade?	
<input type="checkbox"/> não	<input type="checkbox"/> sim

10 É ou já foi feita vacinação contra leptospirose nos demais animais da propriedade?

não sim

11 já ocorreu ou ocorre abortos nos animais da propriedade? Quais?

não sim equinos bovinos ovinos

12 existem equinos com uveíte?

não sim

Data da coleta: _____ / _____ / _____

ANEXO II - Sorovares de Leptospiras empregados como antígenos na técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) aplicados a Leptospirose em equinos, 2011.

Sorogrupo	Sorovar	Símbolo
Australis	Australis	1-A
Australis	Bratislava	1-B
Autummalis	Autummalis	2-A
Autummalis	Butembo	2-B
Ballum	Castellonis	3
Bataviae	Bataviae	4-A
Canicola	Canicola	5
Caledoni	Whitcombi	6
Cynopteri	Cynopteri	7
Grippotyphosa	Grippotyphosa	8
Hebdomalois	Hebdomalois	9
Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	10-A
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	10-B
Javanica	Javanica	11
Panamá	Panamá	12
Pomona	Pomona	13-A
Pyrogenes	Pyrogenes	14
Serjoe	Hardjo	15-A
Sejroe	Wolffi	15-B
Shaermani	Shermani	16
Tarassovi	Tarassovi	17
Andamana	Andamana	18
Seramanga	Patoc	20
Djasiman	Sentot	ST