



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DOUTORADO EM SOCIEDADE NATUREZA
E DESENVOLVIMENTO**

ISADORA KAROLINA FREITAS DE SOUSA

**LEPTOSPIROSE: EPIDEMIOLOGIA DA ENFERMIDADE EM
HUMANOS E ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO EM EQUINOS NO
ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL**

**SANTARÉM – PA
2021**

ISADORA KAROLINA FREITAS DE SOUSA

**LEPTOSPIROSE: EPIDEMIOLOGIA DA ENFERMIDADE EM HUMANOS E ESTUDO
SOROEPIDEMIOLÓGICO EM EQUINOS NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
Doutorado em Sociedade Natureza e Desenvolvimento
(PPGSND) da Universidade Federal do Oeste do Pará
(UFOPA) como requisito para obtenção do título de
Doutor.

Orientador: Dr. Sérgio Melo
Coorientador: Dr. Alexandre Alberto Tonin

1

**SANTARÉM – PA
2021**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- S7251 Sousa, Isadora Karolina Freitas de
 Leptospirose: epidemiologia da enfermidade em humanos e estudo soropidemiológico em equinos no Estado do Amazonas./ Isadora Karolina Freitas de Sousa. – Santarém, 2021.
 85 p. : il.
 Inclui bibliografias.
- Orientador: Sérgio Melo
 Coorientador: Alexandre Alberto Tonin
 Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação Tecnológica, Programa de Pós-Graduação Doutorado em Sociedade, Natureza e Desenvolvimento.
1. Amazônia. 2. *Leptospira interrogans*. 3. Zoonose. I. Melo, Sérgio, *orient.* II. Tonin, Alexandre Alberto, *coorient.* III. Título.

CDD: 23 ed. 614.56

Bibliotecária - Documentalista: Renata Ferreira – CRB/2 1440

ISADORA KAROLINA FREITAS DE SOUSA

**LEPTOSPIROSE: EPIDEMIOLOGIA DA ENFERMIDADE EM HUMANOS E ESTUDO
SOROEPIDEMIOLÓGICO EM EQUINOS NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
Doutorado em Sociedade Natureza e Desenvolvimento
(PPGSND) da Universidade Federal do Oeste do Pará
(UFOPA) como requisito para obtenção do título de
Doutor.

Orientador: Dr. Sérgio Melo
Coorientador: Dr. Alexandre Alberto Tonin

Data da defesa: 26 / 03/ 2021

Banca examinadora:

Dr. Sérgio Melo (Orientador) – Presidente da banca
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Dr. Antônio Humberto Hamad Minervino – Membro interno
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Membro interno
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Dra. Alanna do Socorro Lima da Silva – Membro externo
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Dra. Rejane dos Santos Sousa – Membro externo
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (UNIFESSPA)

Dra. Leíse Gomes Fernandes – Membro externo
Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas (FVS-AM)

**SANTARÉM – PA
2021**

Dedico este trabalho a minha filha, Maria Karolina Freitas, meu alento. Sou grata a Deus por sua vida.

AGRADECIMENTO

A Deus, por ter me dado coragem e força para enfrentar as dificuldades na vida, por guiar meus passos e o meu caminho, por me proporcionar as possibilidades de alcançar meus objetivos;

A minha filha, Maria Karolina Freitas. Você ainda não faz ideia do quanto me ajuda, e é graças a você que aprendi a não desisti dos meus sonhos. Obrigada meu amor;

À minha família pelo apoio as minhas escolhas. Ao meu pai Jose Iatagan Mendes de Freitas, a minha mãe Francisca Isamar Freitas de Sousa, obrigada por toda confiança;

Aos meus familiares, em especial aos meus avós, obrigada por todo o carinho e cuidado, especialmente por todas as orações;

Ao Prof. Dr. Sergio Melo, obrigada pela orientação. Graças ao senhor consegui concluir o doutorado junto ao Programa de Pós-Graduação Doutorado em Sociedade Natureza e Desenvolvimento (PPGSND);

Ao Prof. Dr. Alexandre Tonin, meu coorientador, obrigada pelos ensinamentos, conselhos, ajuda e confiança;

Aos Professores Dr. Antônio Humberto Hamad Minervino, Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior, Dra. Alanna do Socorro Lima da Silva, Dra. Rejane dos Santos Sousa, Dra. Leíse Gomes Fernandes, por aceitarem o convite para comporem minha banca de defesa. Além da avaliação da minha tese, vocês fazem parte de um momento muito importante na minha vida;

À Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), em especial ao PPGSND. Aos docentes do programa pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados, cada disciplina foi importante para minha formação;

Ao Instituto Federal do Amazonas, em especial ao Campus Manaus Zona Leste (IFAM – CMZL) por possibilitar a continuidade do meu doutorado durante a minha atuação profissional, enquanto docente do curso de medicina veterinária. Obrigada pela disponibilização da estrutura física para realização de análises laboratoriais. Agradeço à Pró-

Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação, e Inovação Tecnológica do IFAM que por meio do edital nº 001/2018/PR-PPGI/IFAM (PADCIT - Programa de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Inovação Tecnológica) possibilitou o custeio das análises sorológicas para diagnóstico de leptospirose em equinos;

Ao Laboratório Pesquisa e Diagnóstico de leptospirose na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), que realizou o diagnóstico sorológico da leptospirose em equinos, etapa fundamental para a conclusão do trabalho;

Aos meus amigos, obrigada pelas palavras de incentivo. Não esquecerei a importância de cada um na minha vida, nos mais diversos momentos, a que sonhou comigo em ser professora, e hoje somos professoras (e ainda vamos ser reconhecidas por nossas pesquisas), aos que dividiram o apartamento comigo, aquela que dividia comigo a aflição dos primeiros dias em Manaus, aos que todos os dias perguntavam como eu e Maria estávamos durante a pandemia, aos que estão sempre presentes no grupo do watts app onde dividimos as dúvidas, aflições e felicidades, aos que simplesmente ofereciam um café durante um dia de trabalho cansativo, aos que estão comigo desde a UFERSA;

Aos estudantes (não quero usar a palavra “alunos”) que estiveram comigo na sala de aula, nas coletas, no laboratório, aos que acreditam e respeitam na importância do professor. É difícil descrever a importância de vocês no meu desenvolvimento pessoal e profissional. Hoje qualquer etapa da minha formação profissional só faz sentido devido ao sonho de ser professora, ensinar e aprender sempre;

A todos que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho.

Finalizo essa etapa da vida profissional com o coração cheio de gratidão a Deus por tudo e todos que estiveram comigo nessa caminhada. Obrigada!

Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo.

Paulo Freire.

RESUMO

A leptospirose é uma enfermidade zoonótica potencialmente fatal para humanos e com capacidade de gerar prejuízos sanitários e econômicos a diversas espécies animais. Se forem consideradas a existência de condições ambientais favoráveis para a ocorrência de leptospirose, a amplitude potencial da doença se magnifica, justificando-se, então a necessidade de estudos epidemiológicos tanto na população humana quanto animal. Desta forma, esta tese desenvolveu um estudo retrospectivo epidemiológico de casos de infecção de leptospirose em humanos – Capítulo I - no Estado do Amazonas, bem como um estudo soropidemiológico em equinos de Manaus e região metropolitana - Capítulos II e III -. Os dados para o desenvolvimento do Capítulo I foram obtidos do departamento de informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), utilizando os dados de doenças e agravos de notificação do SINAN (Sistema de Informações de Agravos de Notificação), referente aos casos de leptospirose nos municípios do estado do Amazonas no período de 2010 a 2019. As informações dos casos de infecção em humanos nesses anos foram correlacionadas dados meteorológicos do BDMEP (Banco de Dados Meteorológicos do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia), precipitação, temperatura, e umidade das estações meteorológicas convencionais da rede de estações do INMET no estado do Amazonas. O maior número de infecções por leptospirose em humanos ocorreu nos municípios de Manaus (n=422), Boca do Acre (n=41) e Parintins (n=31). O município de Boca do Acre apresentou a maior incidência acumulada da infecção por leptospirose em humanos no período do estudo (121,4 casos para cada 100 mil habitantes). Como principal resultado, constatou-se que a ocorrência da infecção ocorre com maior frequência no ambiente domiciliar no estado do Amazonas, sendo, portanto, o ambiente domiciliar um determinante importante da transmissão, e uma consequência, provavelmente, das precárias condições ambientais existentes no domicílio e peridomicílio. Associado a esse resultado e, levando-se em conta as características climáticas e ambientais da região e as informações sobre o aumento do número de equinos que vivem em áreas urbanas do município de Manaus, o risco de exposição e contaminação de seres humanos e demais animais susceptíveis vem se tornando maior, à medida que a população equina vem crescendo nos últimos anos. Dessa forma, para os capítulos II e III, foi realizada uma revisão de literatura sobre a doença nesses animais, e determinada a frequência da leptospirose em equinos de Manaus e região metropolitana do Amazonas, bem como amostras de soro equinas foram coletadas e enviados para diagnóstico sorológico de leptospirose para o Laboratório de Diagnóstico de Leptospirose da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). As amostras de soro foram testadas (n =198) para a presença de anticorpos anti-*Leptospira* pelo ensaio de

microaglutinação microscópica, como recomendado pela Organização Mundial de Saúde. Os resultados obtidos no estudo indicaram alta frequência (n=92 / 46,46%) de soropositividade para *Leptospira* spp. em cavalos no estado do Amazonas, indicando a existência de uma alta frequência de reação aos sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. Com o aumento do rebanho equino na região e, conseqüentemente, maior interação entre criadores e animais, a identificação de sorogrupos reagentes de *Leptospira* spp. sinaliza a possível existência de reservatórios e de cepas patogênicas para outros animais e para o homem. Como conclusão, na somatória dos três capítulos, pode-se inferir que o maior risco de leptospirose no estado do Amazonas é urbano, altamente relacionado a condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento e manutenção da bactéria no meio ambiente, em especial quando associado a baixos índices de saneamento básico. A soroprevalência obtida para os equinos demonstram que a enfermidade acomete esses animais, podendo trazer prejuízos econômicos aos criadores e sanitários, tendo em vista o potencial de reservatório e de transmissão que os equinos podem desempenhar. Por fim, estudos epidemiológicos sobre a leptospirose devem ser de caráter permanente e periódico, para que se possa manter dados da enfermidade atualizados que, por isso, poderiam facilitar a implementação e ajuste de medidas de prevenção e controle da leptospirose no estado do Amazonas.

Palavras-chaves: Amazônia. *Leptospira interrogans*. Zoonose. Saúde Pública. Sanidade animal. Cavalos.

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonotic disease that is potentially fatal to humans and has the capacity to generate health and economic losses to several animal species. If we consider the existence of favorable environmental conditions for the occurrence of leptospirosis, the potential amplitude of the disease is magnified, justifying the need for epidemiological studies in both human and animal populations. Thus, this thesis developed a retrospective epidemiological study of cases of leptospirosis infection in humans in the State of Amazonas (Chapter I), as well as a seroepidemiological study in horses in Manaus and the metropolitan region (Chapters II and III). The data for the development of Chapter I were obtained from the computer department of the Brazilian National Health System (DATASUS) using the data of diseases and aggravations of notification from SINAN (*Sistema de Informações de Agravos de Notificação* – Notifiable Diseases Information System), referring to cases of leptospirosis in the municipalities of the state of Amazonas in the period from 2010 to 2019. The information about the cases of infection in humans in these years was correlated to meteorological data from the BDMEP (Meteorological Database from INMET - National Institute of Meteorology), which are precipitation, temperature, and humidity from the conventional meteorological stations of the INMET station network in the state of Amazonas. The highest number of leptospirosis infections in humans occurred in the municipalities of Manaus (n=422), Boca do Acre (n=41), and Parintins (n=31). The municipality of Boca do Acre had the highest cumulative incidence of leptospirosis infection in humans during the study period (121.4 cases per 100,000 inhabitants). As a main result, it was found that the occurrence of the infection occurs more frequently in the home environment in the state of Amazonas; therefore, the home environment is an important determinant of transmission, and a likely consequence of the precarious environmental conditions existing in the home and peridomicile. Associated to this result and considering the climatic and environmental characteristics of the region and the information on the increasing number of horses living in urban areas of Manaus, the risk of exposure and contamination of humans and other susceptible animals has been increasing as the equine population has grown in recent years. Thus, for chapters II and III, a literature review on the disease in these animals was performed, and the frequency of leptospirosis in horses in Manaus and the Amazon metropolitan region was determined. Equine serum samples were collected and sent for serological diagnosis of leptospirosis to the Leptospirosis Diagnostic Laboratory at the Federal University of Santa Maria (UFSM). Serum samples were tested (n = 198) for the presence of anti-*Leptospira* antibodies by the microscopic microagglutination assay, as

recommended by the World Health Organization. The results obtained in the study indicated a high frequency (n=92 / 46.46%) of seropositivity for *Leptospira* spp. in horses in the state of Amazonas, indicating the existence of a high frequency of reaction to the serogroups Icterohaemorrhagiae and Pyrogenes. With the increase in the equine herd in the region and, consequently, greater interaction between breeders and animals, the identification of reagent serogroups of *Leptospira* spp. signals the possible existence of reservoirs and pathogenic strains for other animals and humans. As a conclusion, in the sum of the three chapters, it can be inferred that the greatest risk of leptospirosis in the state of Amazonas is urban, highly related to environmental conditions favorable to the development and maintenance of the bacteria in the environment, especially when associated with low levels of basic sanitation. The seroprevalence obtained for horses shows that the disease affects these animals, potentially bringing economic and sanitary losses to farmers, considering the potential reservoir and transmission that horses can have. Lastly, epidemiological studies on leptospirosis should be permanent and periodic, so that up-to-date data on the disease can be maintained, which could, in this way, facilitate the implementation and adjustment of leptospirosis prevention and control measures in the state of Amazonas.

Keywords: Amazon. *Leptospira interrogans*. Zoonosis. Public health. Animal health. Horses.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I - ASSOCIAÇÃO DE FATORES AMBIENTAIS À OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSE HUMANA NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL (2010 A 2019)

Figura 1 – Microrregiões e municípios no estado do Amazonas.....	26
Figura 2 - Taxa de incidência acumulada de infecções de leptospirose em humanos no Amazonas, no período entre 2010 e 2019.....	27
Figura 3 – Taxa de incidência de infecções de leptospirose em humanos no Amazonas, por ano de ocorrência, segundo município de infecção, no período entre 2010 e 2019.....	28
Figura 4 – Número de casos de infecção por leptospirose e precipitação média no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.....	37

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I - ASSOCIAÇÃO DE FATORES AMBIENTAIS À OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSE HUMANA NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL (2010 A 2019)

Tabela 1 – Número total de infecções por leptospirose em humanos, em ordem decrescente, por município no estado do Amazonas entre os anos de 2010 e 2019.....	24
Tabela 2 – Incidências anuais e acumulada da infecção por leptospirose em humanos para cada 100 mil habitantes em municípios no estado do Amazonas entre os anos de 2010 e 2019.....	25
Tabela 3 – Total de casos de infecções por leptospirose em humanos no estado do Amazonas, de acordo com os meses dos anos de 2010 a 2019.....	30
Tabela 4 – Característica do possível ambiente de infecção informado nas notificações de casos de leptospirose confirmados em humanos no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.....	31
Tabela 5 – Porcentagem de esgotamento sanitário e urbanização de vias públicas nos municípios com casos de infecção por leptospirose no estado do Amazonas entre os anos de 2010 e 2019.....	32
Tabela 6- Médias de variáveis ambientais disponíveis em estações meteorológicas convencionais no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.....	34
Tabela 7- Correlação entre o número de casos de infecção por leptospirose na população humana e médias de variáveis ambientais disponíveis em estações meteorológicas convencionais no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.....	35
Tabela 8- Regressão entre o número de casos de infecção por leptospirose na população humana e médias de variáveis ambientais disponíveis em estações meteorológicas convencionais no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.....	36

CAPÍTULO III - FREQUÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM EQUINOS DE MANAUS E REGIÃO METROPOLITANA NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL

Tabela 1 – Títulos de anticorpos para sorogrupo e sorovares de <i>Leptospira</i> spp. em cavalos no Estado do Amazonas, Brasil. Coleta de sangue foi realizada no período de agosto de 2018 a julho 2019.....	64
Tabela 2 – Valores de hematócritos e avaliação do fibrinogênio em cavalos com soroaaglutinação positiva e negativa para <i>Leptospira</i> spp. em Manaus – AM.....	65

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. CAPÍTULO I - ASSOCIAÇÃO DE FATORES AMBIENTAIS À OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSE HUMANA NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL (2010 A 2019).....	17
2.1 Introdução	18
2.2 Material e métodos	20
2.2.1 Área do estudo.....	20
2.2.2 Avaliação das infecções de leptospirose na população humana	20
2.2.3 Avaliação das variáveis ambientais	20
2.2.4 Análise dos dados	21
2.2.5 Comitê de ética	22
2.3 Resultados	23
2.4 Discussão	38
2.5 Conclusão	42
Referências	43
3. CAPÍTULO II - LEPTOSPIROSE EM EQUINOS: REVISÃO DE LITERATURA.....	46
3.1 Introdução	47
3.2. Leptospírose em equinos	49
3.2.1 Etiologia	49
3.2.2 Aspectos epidemiológicos	49
3.2.3 Patogenia	51
3.2.4 Aspectos clínicos	52
3.2.5 Diagnóstico	53
3.2.6 Controle e profilaxia	54
3.3 Considerações finais	56
Referências	57

4. CAPÍTULO III - FREQUÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM EQUINOS DE MANAUS E REGIÃO METROPOLITANA NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL.....	59
4.1 Introdução	60
4.2 Material e métodos	61
4.2.1 Amostragem	61
4.2.2 Ensaio sorológico	61
4.2.3 Análise hematológica	62
4.2.4 Análise de dados	62
4.3 Resultados	63
4.4 Discussão	66
4.5 Conclusão	69
Referências	71
APÊNDICE.....	75
5. CONCLUSÃO.....	82
REFERÊNCIAS.....	84

1. INTRODUÇÃO

Dentre as doenças que são emergentes das relações contemporâneas entre animais mamíferos (incluindo o homem) e o meio ambiente que os circundam, estão as zoonoses. Dentre estas doenças está a leptospirose, uma zoonose característica de países tropicais e subtropicais, onde a onda de calor e a incidência de chuvas, especialmente no verão, favorecem a sua ocorrência (SEGURADO et al., 2016).

O agente etiológico da leptospirose é uma bactéria pertencente à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae e gênero *Leptospira* (FAINE; STALLMAN, 1982). São organismos filamentosos, helicoidais e moveis, o que lhes conferiu a denominação espiroqueta, que inclusive influenciou o nome do filo, da classe e da ordem a que pertencem. Essas bactérias têm aproximadamente 10 a 20 μm de comprimento e 0,1 a 0,2 μm de largura, são Gram negativas e vivem em tecidos de animais, no solo úmido, na lama e em águas paradas (FAINE; STALLMAN, 1982). A classificação sorológica das leptospirosas relacionados a reações sorológicas específicas que fornecem os sorogrupos e sorovares de leptospirosas patogênicas e saprófitas (QUINN et al., 1994). Estima-se a existência de aproximadamente 300 sorovares de *L. interrogans* divididas em 25 sorogrupos (AHMED et al., 2006).

A ocorrência de leptospirose é significativamente maior no clima tropical, como no estado do Amazonas, do que em regiões temperadas, principalmente devido à maior sobrevivência de leptospirosas em um ambiente quente e úmido, com elevados níveis de chuva e solo neutro ou ligeiramente alcalino. Um dos agravantes para a perpetuação da enfermidade é a grande variedade de animais silvestres e domésticos que podem atuar como reservatórios para os hospedeiros (HAAKE et al., 2015). Desta forma, a conjunção destas características pode resultar em surtos epidêmicos devido a maior exposição à água contaminada com urina ou tecidos de animais infectados (LEVETT, 2001) e, assim, podendo representar um importante problema de saúde pública (FAINE et al., 1999), especialmente se forem associadas as características de clima tropical com baixos índices de saneamento básico e a maiores índices de alagamentos (sazonais ou não).

Além da questão de saúde pública precisamos considerar os efeitos da leptospirose sobre a sanidade animal. Em equinos a *Leptospira* spp. determina alterações principalmente no campo reprodutivo (PINNA et al., 2010), mas o desempenho atlético de cavalos de corrida também é prejudicado pela infecção subclínica (HAMOND et al., 2012). Tratando-se desta espécie, entre os anos de 2004 e 2013, o rebanho de cavalos no Estado do Amazonas aumentou 30% (BRASIL, 2016), o que levou ao aumento direto no número de cavalos

vivendo em áreas urbanas de Manaus e região metropolitana, para serem utilizados em atividades de lazer, trabalho e esportes. Como consequência, com o contato frequente entre as pessoas e animais, seja no manuseio, treinamento ou em sessões de terapia de equitação, aumenta-se o risco de exposição e contaminação tanto para humanos como para outros animais suscetíveis.

Sob este contexto investigações epidemiológicas acerca das relações entre o agente – *Leptospira* spp. -, seres humanos e equinos são relevantes no ponto de vista de diagnóstico de situação para que se possam traçar medidas preventivas do ponto de vista de saúde pública e sanidade animal. Desta forma, a compreensão da dinâmica epidemiológica da leptospirose na população do estado do Amazonas e nos equinos da região metropolitana de Manaus apresenta uma forte ferramenta socioeconômica, visto que os resultados podem contribuir para a proposição de ações preventivas, reduzindo os impactos sanitários, sociais e econômicos causados por esta enfermidade.

2. CAPÍTULO I - ASSOCIAÇÃO DE FATORES AMBIENTAIS À OCORRÊNCIA DE LEPTOSPIROSE HUMANA NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL (2010 A 2019)

Resumo

A leptospirose é uma doença infectocontagiosa que acomete animais domésticos, selvagens e o homem. A doença ocorre em todos os estados do Brasil, e tem como principal reservatório os roedores, no ambiente urbano. O estudo tem como objetivo relacionar a ocorrência da infecção por leptospirose em humanos e variáveis ambientais nos municípios do estado do Amazonas (AM), no período de 2010 a 2019. Foram verificados os casos de infecção por leptospirose disponibilizados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS). As variáveis ambientais: temperatura, precipitação e umidade, foram extraídas do Banco de Dados Meteorológicos (BDMEP) disponíveis no sítio eletrônico do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). O número total de infecções por leptospira em humanos no período do estudo foi de 685 casos, de 2010 a 2019, sendo que Manaus foi o município com maior quantidade de casos. Quando calculada a incidência das infecções para cada 100 mil habitantes o município com maior incidência foi Boca do Acre. Com o estudo foi possível concluir que houve uma notificação regular e constante no período de 2010-2019 no estado, sendo que as maiores casuísticas foram residentes na capital, ou seja, um padrão urbano. Observaram-se influências climáticas (chuva, calor e umidade) e sanitárias sobre o aumento dos casos, mas baseado na especificidade da doença e dados de regiões próximas ao estado, trata-se de possível subnotificação da doença. A carência de informações epidemiológicas compromete o estudo da leptospirose na região, sendo necessário maiores esforços no sentido de melhorar a coleta e disponibilização de dados, bem como melhorar os índices de diagnóstico definitivo.

Palavras-chave: Saúde Pública. Zoonose. Precipitação. Temperatura. Umidade.

2.1 Introdução

A leptospirose é uma doença infectocontagiosa que acomete animais domésticos, selvagens e o homem, causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira*. A doença é caracterizada como uma zoonose bacteriana com grande difusão mundial, especialmente na América Latina, com taxas de letalidade que variam entre 5 e 20% (CASTRO, 2010).

No Brasil a doença é endêmica em todas as unidades da federação e epidêmica principalmente em períodos chuvosos. No período de 2007 a 2016, foram registrados 39.263 casos confirmados de leptospirose no Brasil, com média anual de 3.926 casos, incidência de 1,02/100 mil habitantes e taxa de letalidade de 8,9% (FLORES et al., 2020). Em Manaus, entre os anos de 2000 e 2010 foram notificados 665 casos de leptospirose em humanos, 339 confirmados, e taxa de letalidade de 10,3% (n=35). O maior número de casos ocorreu no período de intensas chuvas, nos meses de março, abril e maio. Os casos estão associados a condições socioambientais precárias, como ausência de saneamento básico (JESUS et al., 2012; SILVA et al., 2016).

O principal reservatório no ambiente urbano são os roedores sinantrópicos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*). *R. norvegicus* é o principal portador da *Leptospira interrogans*, em especial do sorovar Icterohaemorrhagiae, a mais patogênica ao ser humano (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

A ocorrência é significativamente maior no ambiente de clima tropical do que em regiões temperadas, isto se deve principalmente à maior sobrevivência de leptospiros no meio ambiente em condições quentes e úmidas, bem como períodos com elevados índices de precipitações pluviométricas e regiões em que o solo é neutro ou levemente alcalino. Desta forma, a leptospirose tem ocorrência durante todos os meses do ano no Brasil, principalmente em comunidades carentes, pós-enchentes e inundações. Neste contexto a enfermidade pode ocorrer em surtos epidêmicos devido a maior exposição à água contaminada com urina ou tecidos provenientes de animais infectados (LEVETT, 2001). Levando isso em consideração, é fundamental conhecer o panorama da leptospirose no Brasil, tendo em vista a doença ser considerada um problema de saúde pública e de grande importância social e econômica, pela sua alta incidência (FLORES et al., 2020).

Diante dos diferentes fatores associados à leptospirose em ambiente urbano e rural, a prevenção da doença deve focalizar as fontes de contaminação, fatores de risco apontados pelos estudos e, em especial, um melhor e mais amplo processo de produção de informação acerca da doença para a população em geral. Desta forma, em área urbana, a maioria dos estudos associa a doença às condições socioeconômicas da população e às condições

sanitárias. Portanto, além de atividades educativas voltadas à população, deve-se, também, promover melhorias nas condições sanitárias urbanas. Em relação ao ambiente rural, são poucos estudos realizados com a relação leptospirose *versus* humanos, sendo, portanto, necessário o aprofundamento sobre a transmissão e manutenção da leptospirose nessas áreas. É recomendável a realização de ações educativas voltadas às atividades ocupacionais no ambiente rural: o uso de equipamentos de proteção individual, por exemplo, poderia contribuir para a redução dos casos de leptospirose (PELISSARI, 2011).

As estratégias de prevenção da leptospirose são baseadas na consciência da epidemiologia da doença e dos mecanismos de transmissão. Uma vez que os riscos locais de epidemiologia e transmissão tenham sido definidos, é possível mitigar grandemente o risco adotando medidas para reduzir a exposição e implementar medidas de proteção, imunização e quimioprofilaxia pré ou pós-exposição (LEVETT, 2001).

Tendo exposto estas características da leptospirose, nota-se que é de suma importância o conhecimento sobre a epidemiologia da doença, para expor a realidade das áreas sujeitas a infecção, mostrando a sua incidência com base nas diferentes regiões do país, como forma de guiar a implementação de ações de prevenção e controle capazes de minimizar os surtos e epidemias. Desta forma, o estudo tem como objetivo relacionar a ocorrência da infecção por leptospirose humana e variáveis ambientais nos municípios de estado do Amazonas (AM), no período de 2010 a 2019.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Área do estudo

O estado do Amazonas (AM) possui 62 municípios, em uma área total de 1.559.167,878 km², todos localizados no bioma Amazônico. A população estimada em 4.207.714 habitantes. Segundo o IBGE, a população residente (situação domiciliar) em área urbana representa 79,09% da população do estado (BRASIL, 2017).

O clima do estado é tropical e úmido (média anual da umidade relativa do ar superior a 80%), com temperaturas médias acima de 22°C, chuvas abundantes durante todo o ano, sendo mais frequente no inverno regional (janeiro a abril) (JESUS et al., 2012).

2.2.2 Avaliação das infecções de leptospirose na população humana

No estudo foi realizada análise do número de infecções mensais de leptospirose na população residente nos municípios do Amazonas. Os casos foram categorizados de acordo com o mês da infecção no período de 01 de janeiro de 2010 a 31 de dezembro de 2019. O período do estudo foi selecionado em função da disponibilidade de informações na base de dados adotada, o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN).

O SINAN está disponível na página eletrônica do Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS), mantida pelo Ministério da Saúde do Brasil. Os dados contam na categoria epidemiológicas e morbidade (Doenças e Agravos de Notificação - 2007 em diante), das Informações de Saúde (TABNET) (BRASIL, 2020).

2.2.3 Avaliação das variáveis ambientais

Foram utilizadas as seguintes variáveis climáticas: média mensal da temperatura compensada (°C), média mensal da precipitação total (mm), média mensal da umidade relativa do ar (%) no período de estudo. Estes dados foram extraídos do Banco de Dados Meteorológicos (BDMEP) disponíveis no sítio eletrônico do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (BRASIL, 2020).

No estado do Amazonas as informações meteorológicas são disponibilizadas de acordo com as estações, se convencionais ou automáticas. Nos municípios com estação meteorológica local convencional foi possível obter os dados: média mensal da temperatura compensada (°C), média mensal da precipitação total (mm), média mensal da umidade

relativa do ar (%), enquanto nas estações meteorológicas automáticas (AUT) as informações disponibilizadas foram: precipitação total mensal (AUT) e temperatura média mensal (AUT).

Nos municípios com ocorrência de infecção por leptospirose, pelo menos um caso nos 10 anos estudados, foram verificadas a relação do número de casos com esgotamento sanitário adequado e urbanização de vias públicas.

2.2.4 Análise dos dados

Foram calculadas as incidências anuais de leptospirose para cada 100 mil habitantes. As estimativas populacionais foram obtidas junto à Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE - 2020). Para os cálculos das incidências anuais, o denominador utilizado foi o número estimado da população no ano.

As infecções por leptospirose também foram analisadas quanto a sua evolução temporal mensal, foram calculadas as médias mensais do número de infecções no período de estudo, relacionando-as com as médias mensais de variáveis climáticas de acordo com o município de origem da infecção, estratificadas segundo mês, ano e município.

Os dados foram analisados utilizando os programas Tableau® Desktop Professional Edition 2020.4.2 e Microsoft Office Excel® 2016. Foi utilizado o programa QGIS® Desktop v.3.16.3 na construção dos mapas.

O programa estatístico SAS também foi utilizado para a análise estatística. Inicialmente os dados dos municípios com estação meteorológica convencional e ocorrência de leptospirose no período do estudo foram avaliados quanto a sua distribuição pela prova de Kolgomorov-Sminorv e avaliada a homogeneidade das variâncias. Para avaliar a relação entre duas variáveis foi usado o teste de Sperarman usando o Proc Corr e calculado o coeficiente de correlação (r). Para a avaliação da regressão linear simples foi usado o Proc Reg com a definição do coeficiente de determinação (r^2). Ficou estabelecido que existiu uma correlação de alta intensidade entre as variáveis quando $r \geq 0,60$; média intensidade quando $0,30 < r < 0,60$; e de baixa intensidade quando $r \leq 0,30$, foi considerado também que o nível de significância obtido nas correlações seja igual ou inferior a 5% .

2.2.5 Comitê de ética

Todos os dados desta pesquisa foram obtidos de fontes secundárias de livre acesso, de forma que não houve necessidade de aprovação por Comitê de Ética em Pesquisa.

2.3 Resultados

O número de infecções por leptospira em humanos entre os anos de 2010 e 2019 foi de 685 casos no estado do AM. Dessas infecções, 620 foram oriundos de 37 municípios do estado, seis originárias de outros estados e em 59 casos não foi possível identificar a origem da infecção.

Os casos de infecções por município do AM estão descritos na tabela 1, totalizando 59,67% dos municípios com casuística. Os casos oriundos de outros estados representaram 0,87%, oriundos de Roraima (Ariquemes - n=3), São Paulo (São Paulo - n=1), Acre (Rio Branco – n=1 e Cruzeiro do Sul – n=1).

Os municípios com maiores números de casos da infecção foram: Manaus, Boca do Acre, Parintins, Humaitá, Manacapuru, Iranduba, Maués, Tefé, Itacoatiara e Coari, respectivamente. A incidência dos casos entre os anos de 2010 e 2019 está descrita tabela 2, assim como a incidência acumulada ao longo desses anos (figura 1). Quando calculada a incidência das infecções para cada 100 mil habitantes os municípios com maior incidência foram: Boca do Acre, Guajará, Parintins, Fonte Boa, Humaitá, Manaus, Iranduba, Codajás, Pauini e Nhamundá, respectivamente (figura 2).

Tabela 1 – Número total de infecções por leptospirose em humanos, em ordem decrescente, por município no estado do Amazonas entre os anos de 2010 e 2019.

Municípios (AM)	Número total de infecções	%
Manaus	422	61,61
Boca do Acre	41	5,99
Parintins	31	4,53
Humaitá	13	1,90
Manacapuru	12	1,75
Iranduba	9	1,31
Maués	9	1,31
Tefé	8	1,17
Itacoatiara	7	1,02
Coari	6	0,88
Guajará	6	0,88
Codajás	5	0,73
Tabatinga	5	0,73
Fonte Boa	4	0,58
Autazes	3	0,44
Borba	3	0,44
Nhamundá	3	0,44
Pauini	3	0,44
Rio Preto da Eva	3	0,44
Alvarães	2	0,29
Benjamin Constant	2	0,29
Careiro	2	0,29
Careiro da Várzea	2	0,29
Lábrea	2	0,29
Manicoré	2	0,29
Nova Olinda do Norte	2	0,29
São Gabriel da Cachoeira	2	0,29
Urucará	2	0,29
Anori	1	0,15
Apuí	1	0,15
Barreirinha	1	0,15
Boa Vista do Ramos	1	0,15
Eirunepé	1	0,15
Ipixuna	1	0,15
Presidente Figueiredo	1	0,15
Santa Isabel do Rio Negro	1	0,15
Tapauá	1	0,15
Total (n=37)	620	90,51

Figura 1 – Microrregiões e municípios no estado do Amazonas (AM).

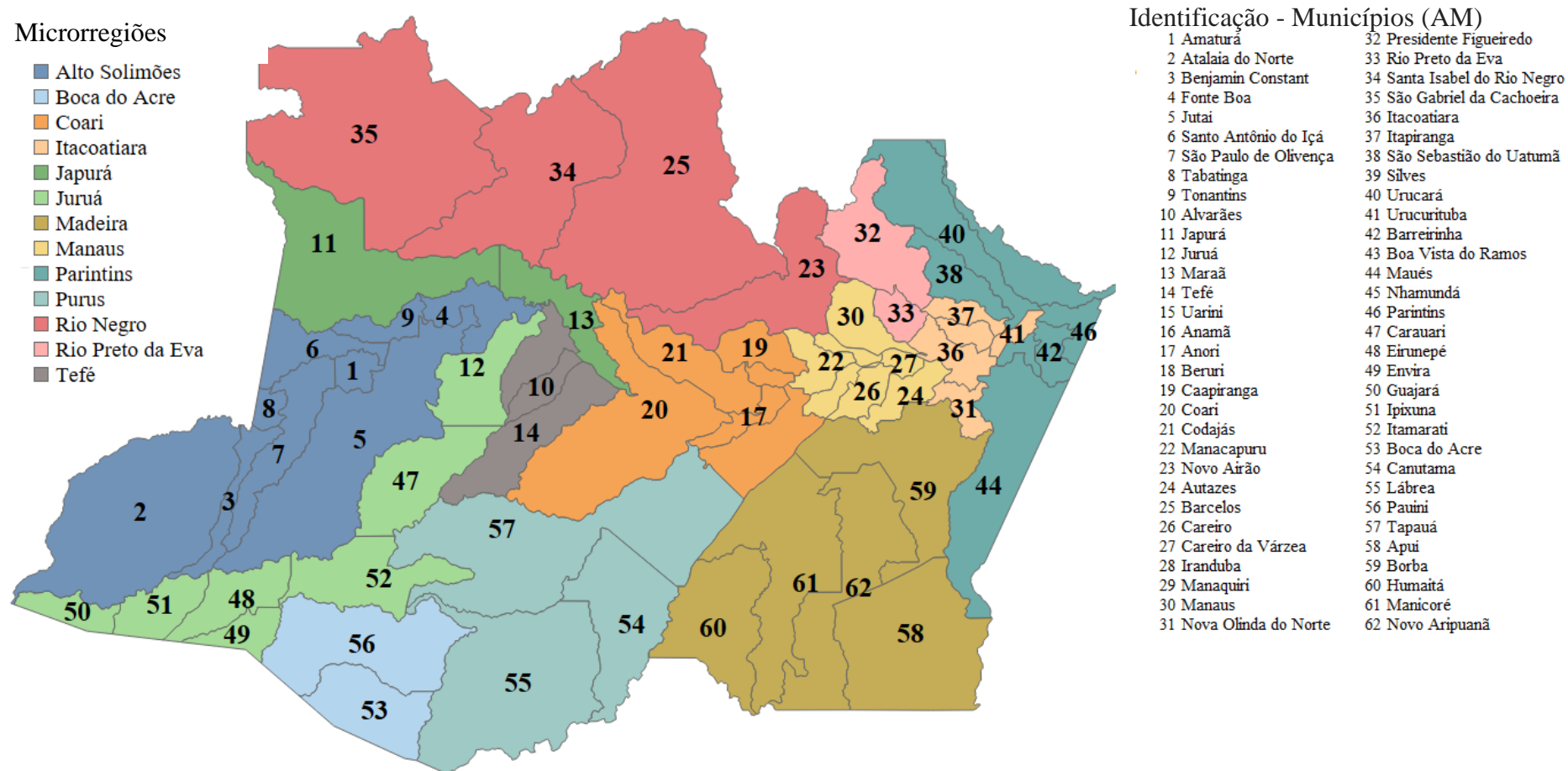


Figura 2 – Taxa de incidência acumulada de infecções de leptospirose em humanos no estado do Amazonas, no período entre 2010 e 2019.

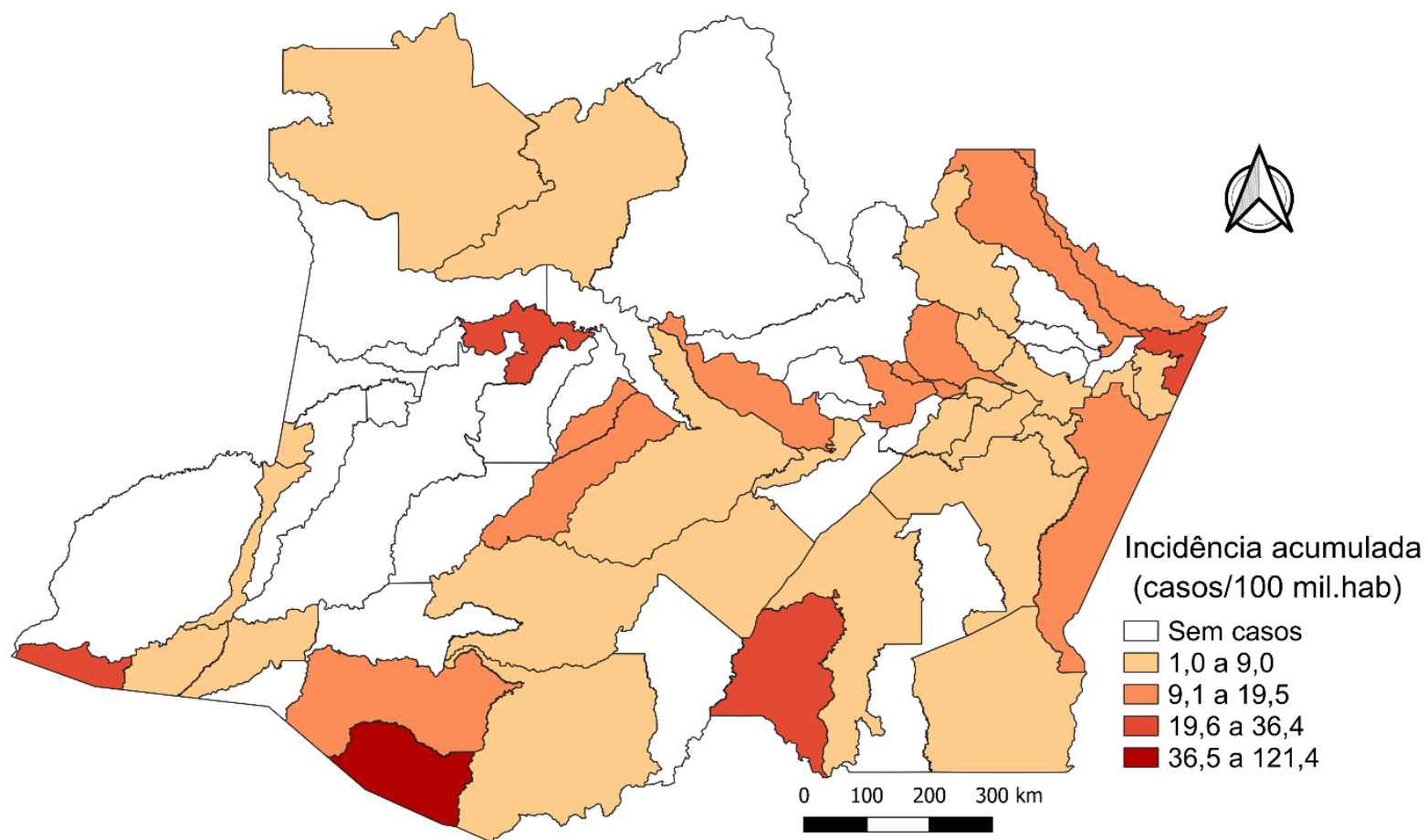
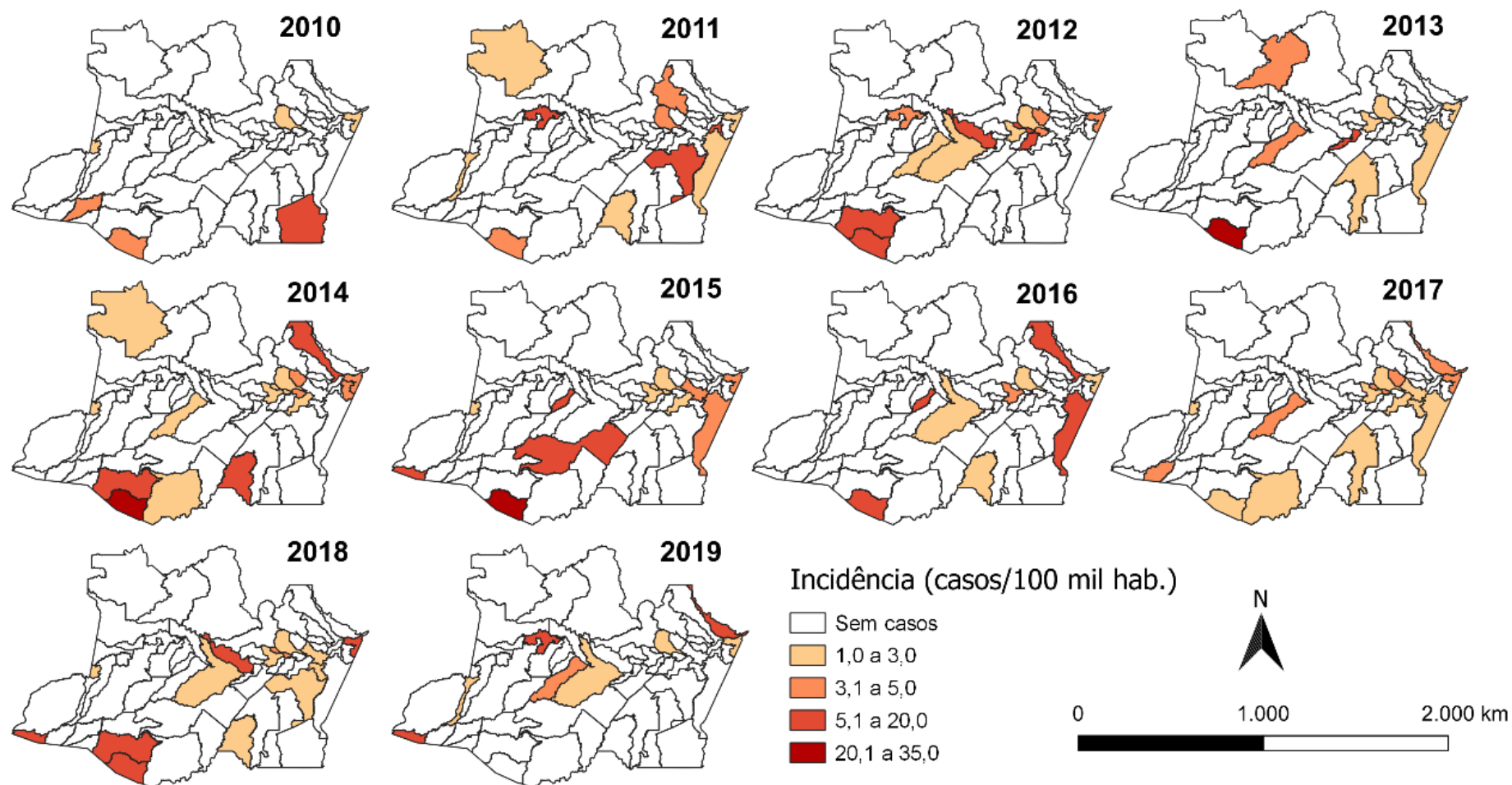


Figura 3 – Taxa de incidência de infecções de leptospirose em humanos no estado do Amazonas, por ano de ocorrência, segundo município de infecção, no período entre 2010 e 2019.



Maiores números de casos foram notificados nos meses de maior precipitação pluviométrica que vão de fevereiro a junho, sendo o mês de março o que apresentou maior número de casos. Já entre os meses de setembro, outubro e novembro houve menor número de infecções (tabela 3). A média anual de infecções nos 10 anos estudados foi de 57,08 casos/ano. O município de Manaus apresentou maior número de casos de leptospirose (422 – 61,61%).

De acordo com a característica da área e local de infecção, 72,40% dos casos foram oriundos de área urbana (n=496), 9,63% de área rural (n=66) e 1,16% de área periurbana (n=8). Em 16,78% dos casos informados a característica da área e local de infecção não estavam disponíveis (n=115). A infecção pela leptospira foi mais frequente no ambiente domiciliar (52,84%) e no trabalho (13,43%) (tabela 4).

A correlação entre esgotamento sanitário adequado e infecção de leptospirose nos municípios ocorreu de forma moderada ($r= 0,42436$; $p= 0,0111$), dessa forma, a ausência de esgotamento sanitário pode ser responsável por até 40,14% dos casos de leptospirose ($r^2= 0,4014$). Não se observou correlação entre a urbanização de vias públicas e os casos de leptospirose, $r= 0,16009$ ($p= 0,3439$) (tabela 5).

Tabela 3 – Total de casos de infecções por leptospirose em humanos no estado do Amazonas, de acordo com os meses dos anos de 2010 a 2019.

Meses	Total de casos
Janeiro	54
Fevereiro	72
Março	104
Abril	78
Maiο	81
Junho	66
Julho	58
Agosto	42
Setembro	25
Outubro	35
Novembro	25
Dezembro	45
Total	685 casos (médica mensal = 57,08%)

Tabela 4 – Característica do possível ambiente de infecção informado nas notificações de casos de leptospirose confirmados em humanos no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.

Característica do possível ambiente de infecção	Número total	%
Domiciliar	362	52,84
Trabalho	92	13,43
Lazer	11	1,60
Outro	23	3,35
Não informado	197	28,75
Total	685	

Tabela 5 – Porcentagem de esgotamento sanitário e urbanização de vias públicas nos municípios com casos de infecção por leptospirose no estado do Amazonas entre os anos de 2010 e 2019.

Municípios (AM)	Número total de infecções por leptospirose	Esgotamento sanitário adequado (%)	Urbanização de vias públicas (%)
Manaus	422	62,4	26,3
Boca do Acre	41	6,0	2,8
Parintins	31	19,3	10,2
Humaitá	13	14,9	3,8
Manacapuru	12	23,7	11,9
Iranubá	9	14,7	2,9
Maués	9	27,1	2,2
Tefé	8	30,9	21,1
Itacoatiara	7	19,7	11,9
Coari	6	38,0	21,3
Guajará	6	7,0	31,2
Codajás	5	24,1	2,3
Tabatinga	5	21,6	8,5
Fonte Boa	4	2,0	0,3
Autazes	3	19,1	5,5
Borba	3	8,0	2,6
Nhamundá	3	16,1	2,8
Pauini	3	23,3	4,6
Rio Preto da Eva	3	9,2	21,9
Alvarães	2	30,9	8,4
Benjamin Constant	2	12,3	6,6
Careiro	2	14,4	23,1
Careiro da Várzea	2	5,3	41,7
Lábrea	2	18,0	9,4
Manicoré	2	7,9	3
Nova Olinda do Norte	2	13,0	1,4
São Gabriel da Cachoeira	2	11,0	5,8
Urucará	2	10,9	10,2
Anori	1	2,0	0,2
Apuí	1	9,7	0,7
Barreirinha	1	4,3	4,7
Boa Vista do Ramos	1	29,7	0
Eirunepé	1	11,9	1,4
Ipixuna	1	1,2	36,9
Presidente Figueiredo	1	37,4	41
Santa Isabel do Rio Negro	1	6,3	3,5
Tapauá	1	17,2	7,8
Total	620		

Nos municípios do Amazonas com variáveis ambientais disponíveis nas estações meteorológicas convencionais (Benjamim Constant, Coari, Codajás, Eirunepé, Fonte boa, Itacoatiara, Lábrea, Manaus, Manicoré, Parintins, São Gabriel da Cachoeira e Tefé), a média mensal da temperatura compensada ($^{\circ}\text{C}$), a média mensal da precipitação total (mm) e a média mensal da umidade relativa do ar (%) (tabela 6), foram correlacionadas com o número de casos de infecção por *Leptospira* spp. na população humana (figura 3).

A análise dos dados mostrou que nos meses com maior número de casos de leptospirose que foram de janeiro a junho, a temperatura ($r = -0,93$), precipitação ($r = 0,79$) e umidade ($r = 0,77$) se correlacionaram com o número de casos, enquanto nos meses de fevereiro ($r = 0,67$) e março ($r = 0,76$) houve correlação com a precipitação e nos meses de abril e junho a umidade se correlacionou com o número de casos (tabela 7).

A precipitação média nos meses de janeiro, fevereiro e março foram as maiores relatadas entre os meses avaliados, assim como foi observado menores temperatura e maiores umidades. De maio a junho ocorreu redução da precipitação, porém a temperatura não se alterou e a umidade permaneceu o que favoreceu a maior correlação entre a umidade e o número de casos de leptospirose (tabela 8).

A análise de regressão mostrou que a precipitação nos meses de janeiro, fevereiro e março foi implicada no aumento dos casos de leptospirose, indicando que o aumento de um milímetro de chuva promove o aumento de 0,034 dos casos de leptospirose no mês de janeiro, 0,0380 no mês de fevereiro e 0,0431 no mês de março.

Tabela 6- Médias de variáveis ambientais disponíveis em estações meteorológicas convencionais no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.

Meses dos anos - Período entre 2010 a 2019 (período de estudo)	Total dos casos mensais de infecção por leptospiroses no período de estudo	Média mensal da temperatura compensada (°C) no período de estudo	Média mensal da precipitação total (mm) no período de estudo	Média mensal da umidade relativa do ar (%) no período de estudo
Janeiro	42	26,67	323,40	86,27
Fevereiro	55	26,58	318,73	86,54
Março	48	26,80	338,20	86,64
Abril	52	26,73	317,23	86,98
Mai	58	26,80	254,53	86,63
Junho	45	26,85	150,18	84,39
Julho	25	26,66	112,76	82,85
Agosto	24	27,40	83,28	79,79
Setembro	14	27,83	101,12	79,87
Outubro	21	27,69	161,81	81,60
Novembro	19	27,49	208,32	83,50
Dezembro	27	26,95	280,92	85,62

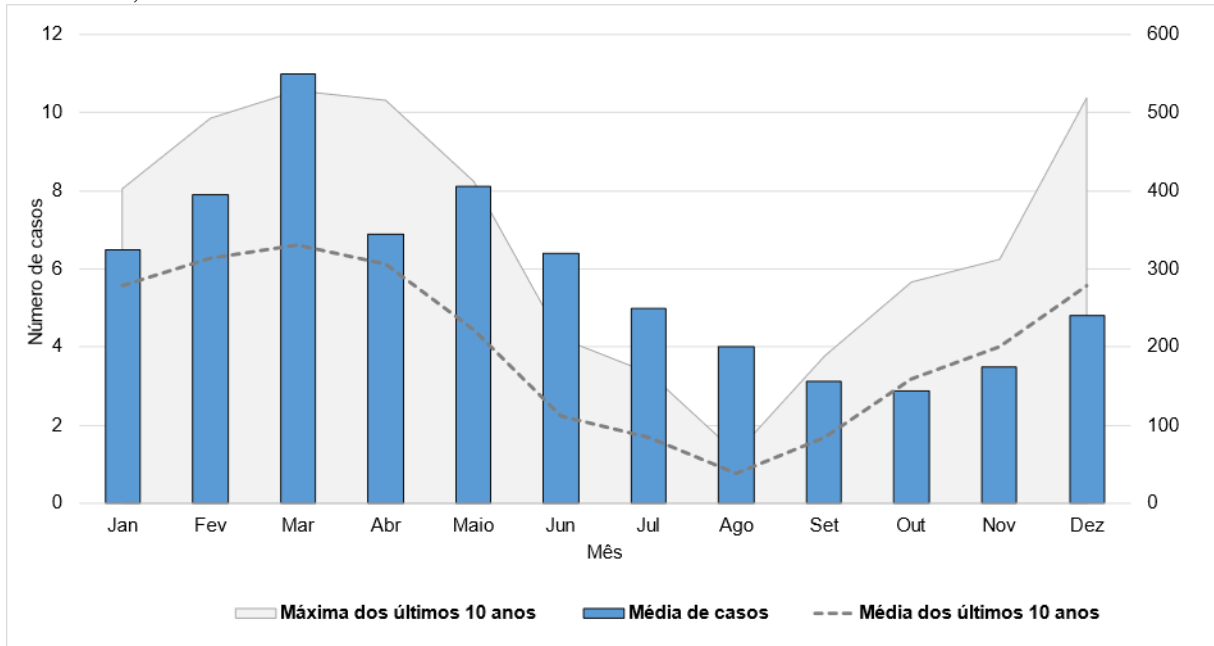
Tabela 7- Correlação entre o número de casos de infecção por leptospirose na população humana e médias de variáveis ambientais disponíveis em estações meteorológicas convencionais no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.

Período entre 2010 a 2019 (período de estudo)	Média mensal da temperatura compensada (°C) no período de estudo (r)	Média mensal da precipitação total (mm) no período de estudo (r)	Média mensal da umidade relativa do ar (%) no período de estudo (r)
Janeiro	-0,93129 (p<0,0001)	0,79192 (p=0,0063)	0,77291 (p=0,0088)
Fevereiro	-0,59941 (p=0,0670)	0,67281 (p=0,0330)	0,51990 (p=0,1235)
Março	-0,59887 (p=0,0673)	0,76170 (p=0,0105)	0,33956 (p=0,3371)
Abril	-0,58029 (p=0,0786)	0,25849 (p=0,4708)	-0,67085 (p=0,0337)
Maio	-0,32512 (p=0,3593)	-	-0,32512 (p=0,3593)
Junho	0,13415 (p=0,7118)	0,07317 (p=0,8408)	-0,67074 (p=0,0338)
Julho	-0,08590 (p=0,8135)	0,23315 (p=0,5168)	0,48470 (p=0,1557)
Agosto	-0,23839 (p=0,5072)	0,37013 (p=0,2924)	0,36385 (p=0,3013)
Setembro	0,37370 (p=0,2874)	-0,39992 (p=0,2522)	-0,37370 (p=0,2874)
Outubro	-0,36330 (p=0,321)	0,26599 (p=0,4576)	0,08434 (p=0,8168)
Novembro	-0,62330 (p=0,0542)	-0,07480 (p=0,8373)	0,62330 (p=0,0542)
Dezembro	0,09786 (p=0,7880)	-0,05505 (p=0,8799)	0,00612 (p=0,9866)

Tabela 8- Regressão entre o número de casos de infecção por leptospirose na população humana e médias de variáveis ambientais disponíveis em estações meteorológicas convencionais no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.

	Temperatura (R ²)	Precipitação (R ²)	Umidade (R ²)
Janeiro	0,5447	0,6361	0,5356
Fevereiro	-	0,4037	-
Março	-	0,5208	-
Abril	-	-	0,4389
Maiο	-	-	-
Junho	-	-	0,4803
Julho	-	-	-
Agosto	-	-	-
Setembro	-	-	-
Outubro	-	-	-
Novembro	-	-	-
Dezembro	-	-	-

Figura 4 – Número de casos de infecção por leptospirose e precipitação média no estado do Amazonas, entre 2010 e 2019.



2.4 Discussão

É fato a existência de uma considerável carência mundial de dados epidemiológicos acerca da leptospirose, sobretudo em países com baixo Índice de Desenvolvimento Humano (IDH), justamente as regiões mais afetadas pela enfermidade. Neste contexto, os valores mundiais são estimados, podendo não corresponder a representação real. Assim, a construção e divulgação de dados epidemiológicos é de suma importância em âmbito nacional. Porém, em um país continental como o Brasil, esse processo precisa ser construído em colaboração com as unidades federativas estaduais, como propomos nesta tese ao apresentarmos dados da última década para o estado do Amazonas.

O presente levantamento epidemiológico demonstrou que o número de casos anuais de leptospirose no estado do Amazonas foi reduzido entre os anos de 2010 e 2019, se comparado a década anterior (JESUS et al., 2012) ou mesmo as infecções de uma capital da Amazônia Ocidental brasileira (Rio Branco – AC) (DUARTE; GIATTI, 2019). Essa redução, muito provavelmente, é resultado de reduzida testagem, ao se comparar os períodos, visto que as condições favoráveis para transmissão, especialmente sanitárias, melhoraram nos últimos anos, quando comparadas a década anterior. Mesmo assim, alguns dados são alarmantes, por exemplo, de acordo com ABES (2016), no que se diz respeito a tratamento do esgoto no período de 2012 a 2016, o estado do Amazonas possuía apenas 29% do esgoto tratado em relação a água consumida. Excluindo Manaus, a situação é ainda mais alarmante: sem a capital, o tratamento de esgoto é zero em quatro municípios que forneceram informações a ABES. Ainda de acordo com a ABES (2016), em 2016, a coleta de esgoto no Amazonas contava apenas com cerca de 10% de atendimento. Assim, o reduzido índice de esgotamento sanitário tem um papel de destaque na ocorrência de casos de leptospirose no estado do Amazonas.

Já que a população sem acesso ao esgotamento sanitário adequado tem maior risco de adquirir uma infecção (JESUS et al., 2012). Ribeiro et al. (2018) demonstraram que no estado de Roraima (RR), entre os anos de 2005 e 2015, foram notificados apenas 23 casos de leptospirose. Se pura e simplesmente transpormos essa casuística sobre condições sanitárias, quando comparamos AM com RR, nos três principais indicadores de saneamento (abastecimento de água, coleta de esgoto e tratamento de esgoto), foi identificado que o estado de Roraima estava em melhores condições na época quando comparado ao AM em números absolutos (ABES, 2016), o que pode ser um dos fatores para essa reduzida casuística, quando comparada a do AM.

Não obstante, a leptospirose é uma doença sem sintomatologia específica. Primeiramente, tem-se um quadro clínico notavelmente diverso e inespecífico. Diferentemente da maioria das infecções bacterianas, a leptospirose não causa doença fulminante, iniciando o quadro com uma síndrome febril aguda de difícil identificação etiológica, a qual se resolve em uma semana, na maioria dos pacientes (KAAKE; LEVETT, 2015). A ausência de manifestações clínicas características dificulta a identificação do fator etiológico, sendo por vezes suspeitada erroneamente como HIV, influenza, febre amarela, dengue, malária ou rickettsioses (COSTA et al., 2001; JESUS et al., 2012), algumas endêmicas na região.

Estima-se mundialmente uma incidência anual média de 14,77 casos/100.000 habitantes, sendo as maiores incidências na Oceania (150,68 casos/100.000 habitantes), Sudeste Asiático (55,4 casos/100.000 habitantes), Caribe (50,68 casos/100.000 habitantes) e África Subsaariana (25,65 casos/100.000 habitantes) (COSTA et al., 2015). Em se tratando de Brasil, a leptospirose ocorre em todo o território nacional, durante todos os meses do ano. Flores et al. (2020) estimaram que a incidência anual de casos seja de 1,02/100 mil habitantes no período de 2007 a 2016. Outro estudo, desenvolvido especificamente na região Norte do Brasil, demonstrou uma incidência anual de 1,71 casos/100 mil habitantes (CALADO et al., 2017). Contudo, o período chuvoso de cada região, favorece a ocorrência de surtos e aumento no número de casos (FLORES et al., 2020), visto que as inundações constituem o maior fator de risco para a ocorrência de surtos de leptospirose (CASTRO, 2010; COSTA et al., 2001; JESUS et al., 2012; DUARTE; GIATTI, 2019).

Durante os anos entre 2010 e 2019, o maior número total de casos ocorreu nos meses de maio (n=58), fevereiro (n=55) e abril (n=52), período da estação chuvosa da região. Corroboram com nossos resultados outros estudos também realizados na região amazônica e que demonstraram que a incidência média mensal de leptospirose aumentou nos meses correspondentes à estação chuvosa na região (outubro-abril) (JESUS et al., 2012; DUARTE; GIATTI, 2019). Em nosso período de estudo, a umidade teve maior importância nos meses de abril e junho, meses com menores taxas de precipitação, mas com temperatura e umidade elevadas, favorecem o aparecimento de novas infecções. A umidade e o calor são os elementos mais importantes que aumentam a sobrevivência da *Leptospira* spp., permitindo que ela resista de semanas a meses após ser excretada (MWACHUI et al. 2015). No entanto, não podemos desconsiderar a influência do aumento da pluviosidade, visto que no Brasil, para cada milímetro a mais de chuva diária, houve um aumento correspondente a 0,55% no número de casos diagnosticados de leptospirose no mesmo período (KUPEK et al., 2000).

A maior parte da população brasileira vive em regiões marcadas por estações chuvosas semelhante à de países vizinhos, especialmente os estados da região Norte. Todavia, o Brasil apresentou incidência registrada 7,9 vezes menor do que estes países (COSTA et al., 2015). Somam-se os fatores geográficos ao nível socioeconômico, também semelhante, pode-se sugerir, então, que o país apresenta severa subnotificação dos casos de leptospirose.

No estado do Amazonas, durante o período de estudo (2010 a 2019), o maior número de infecções por leptospirose foi oriundos de área urbana. No Brasil, de 2001 a 2003, do total de 3.747 casos confirmados laboratorialmente, 2.687 (72,0%) ocorreram em área urbana (ARSKY et al., 2005). A predominância da leptospirose em área urbana pode ser um dos motivos pelos quais poucos estudos foram conduzidos em área rural, ou pela densidade populacional ser muito maior na área urbana do AM, o que ressalta a crescente importância da urbanização na incidência da leptospirose, quando associada aos baixos níveis socioeconômicos (PELLISSARI, 2011). Neste sentido, precisa-se considerar a forma como se deu a urbanização da Amazônia Brasileira e seu papel na geração de condições favoráveis à transmissão da doença (WILLIANS, 1999; BARCELLOOS; SABROZA, 2001).

O aumento da migração do meio rural para o urbano, nas últimas décadas, acarretou um processo de urbanização sem o devido planejamento, um aumento das ocupações populacionais em torno dos rios e igarapés, em aglomerados subnormais, com infraestrutura e saneamento precários, e, como consequência, a instalação de um quadro de vulnerabilidade, reflexo da dimensão socioeconômica da leptospirose (FREITAS; GIATTI, 2009; GUERRA, 2013). Somando-se essa informação aos nossos dados, pode-se afirmar que a infecção pela leptospira foi mais frequente no ambiente domiciliar no estado do Amazonas, sendo, portanto, o ambiente domiciliar um determinante importante da transmissão, e uma consequência, provavelmente, das precárias condições ambientais existentes no domicílio e peridomicílio, que, aliadas à altas infestações de roedores, favorecem o risco de exposição humana (PELLISSARI, 2011).

Em área rural, não se evidenciou associação dos casos com o aumento das chuvas e sim com as atividades desempenhadas, como, por exemplo, plantação de arroz e lavoura irrigada. Os resultados sugeriram a existência de características ambientais favoráveis à transmissão da leptospirose em locais de proliferação de roedores sinantrópicos e de produção agrícola intensiva (PELLISSARI, 2011). O que justifica a pequena porcentagem de infecção na área rural do Amazonas, já que esses sistemas de produção não são comuns na região. Devido as dificuldades de acesso e mesmo de atendimento médico as populações das áreas rurais, pode-se pressupor que ocorram casos de subnotificação também nesse meio, colaborando para esses menores índices.

Para o controle da leptospirose, são necessárias medidas ligadas ao meio ambiente, tais como obras de saneamento básico (abastecimento de água, lixo e esgoto), melhorias nas habitações humanas e o combate aos ratos. O saneamento, de uma maneira geral, é um conjunto de medidas que visam à preservação do ambiente, à prevenção de doenças, à promoção da saúde e à melhoria da qualidade de vida da população (GONDIM et al., 2009). Vasconcelos et al. (2012) relacionam a leptospirose a más condições socioeconômicas e precárias infraestruturas e serviços, que se tornam ainda mais debilitados em situações de emergência causadas por chuvas intensas, portanto, saneamento básico está estritamente ligado a altos ou baixos índices de infecção por *Leptospira* spp. Nos países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil, o processo de urbanização geralmente ocorre de forma desordenada, submetendo as populações menos favorecidas a aglomerações intensas, saneamento básico inadequado, habitações precárias e agressão ao meio ambiente. Estas condições acabam favorecendo a proliferação e disseminação de agentes transmissores de doenças, bem como de seus vetores (LUNA, 2002). Em se tratando de vetores, os mais comuns são os roedores sinantrópicos, por isso o combate a estes é uma medida primordial para redução na casuística. Porém, não podemos esquecer dos animais domésticos. Alguns destes recebem vacinas, mas a vacinação de animais domésticos (cães, bovinos, suínos e equinos) evita que adoecem, mas não que se infectem e transmitam o agente. Desta forma, é preciso que se apliquem medidas conjuntas e complementares, melhorando as condições sanitárias da população e reduzindo a chance de transmissão por vetores.

2.5 Conclusão

Baseando-se nos resultados constatados pelo presente estudo, conclui-se que houve uma notificação regular e constante no período de 2010-2019 no estado do Amazonas, sendo que as maiores casuísticas relacionadas à infecção por *Leptospirrose* spp. foram residentes na capital, ou seja, um padrão urbano. Observaram-se influências climáticas (chuva, calor e umidade) e sanitárias sobre o aumento dos casos, mas baseado na especificidade da doença e dados de países vizinhos existe na uma possível subnotificação da doença no estado do Amazonas. Ademais, percebe-se no estado do Amazonas a mesma carência de informações epidemiológicas mais precisas o que compromete o estudo da leptospirose. Fazem-se necessários, portanto, maiores esforços no sentido de melhorar a coleta e disponibilização de dados, bem como melhorar os índices de diagnóstico definitivo.

Referências

ABES - Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Abastecimento de água, coleta e tratamento de esgoto: O ganho de escala e a eficiência - Amazonas e Roraima**, 2016. Disponível em: http://abes-dn.org.br/pdf/12.09_AM_RR_versaofinal.pdf. Acesso em: 08 mar. 2021

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. Leptospira and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 287-296, 2010.

ARSKY, M. L. S.; OLIVEIRA, W. K.; OLIVEIRA, R. C.; ARRUDA, A. S. Probable areas of infection and ambience of occurrence of human leptospirosis in Brazil (2001- 2003). **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 57, p. 59-60, 2005.

BARCELLOS, C.; SABROZA, P. C. The place behind the case: leptospirosis risks and associated environmental conditions in a flood-related outbreak in Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, p. 59-67, 2001.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Amazonas - IBGE Cidades**. 2017 IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Brasília - DF: Ministério da Economia. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/am/panorama>. Acesso em 10 jan. 2021.

BRASIL. Instituto Nacional de Meteorologia - IMET. **Banco de Dados Meteorológicos do INMET - BDMEP**. 2020. Brasília – DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <https://bdmep.inmet.gov.br/>. Acesso em 10 jan. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde – DATASUS. **Leptospirose - Casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação – Amazonas**. 2020. Brasília - DF: Ministério da Saúde. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/leptoam.def>. Acesso em 10 jan. 2021.

CALADO, E. J. R.; OLIVEIRA, V. S.; FERREIRA DIAS, F. C.; LOPES, A. B.; OLIVEIRA A. A.; SANTANA, V. M. X.; GUSMÃO, K. E.; LOBO, P. E. P.; LIBERATO A. A.; GUEDERS, V. R. Leptospirose na região Norte do Brasil: uma revisão da literatura e perfil epidemiológico comparativo. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 4, p. 65-71, 2017.

CASTRO, R.F. La situacion actual de las zoonosis más frecuentes en el mundo. **Gaceta Médica de México**, v.146, p. 423-429, 2010.

COSTA, E.; COSTA, Y. A.; LOPES, A. A.; SACRAMENTO, E.; BINA, J. C. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 261-267, 2001.

COSTA, F.; HAGAN, J. E.; CALCAGNO, J.; KANE, M.; TORGERSON, P.; MARTINEZ-SILVEIRA, M. S.; STEIN, C.; ABELA-RIDDER, B.; KO, A. I. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, p. 1-19, 2015.

DUARTE, J. L.; GIATTI, L. L. Incidência da leptospirose em uma capital da Amazônia Ocidental brasileira e sua relação com a variabilidade climática e ambiental, entre os anos de 2008 e 2013. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 28, p. 1-9, 2019.

FLORES, D. M.; FLORES, L. M.; ROMANIELO, A. F. R.; DUTRA, G. S.; SOUZA, A. V.; FINTA, A. L. N.; LIMA, D. K. F.; MACHADO, L. C. S. Epidemiologia da Leptospirose no Brasil 2007 a 2016. **Brazilian Journal of health Review**, v. 3, p. 2675-2680, 2020.

FREITAS, C. M.; GIATTI, L. L. Environmental sustainability and health indicators in the Legal Amazonia, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, p. 1251-1266, 2009.

GUERRA, M. A. Leptospirosis: public health perspectives. **Biologicals**, v. 41, p. 295-297, 2013.

JESUS, M. S.; SILVA, L. A.; LIMA, K. M. S.; FERNANDES, O. C. C. Cases distribution of leptospirosis in City of Manaus, State of Amazonas, Brazil, 2000-2010. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 713-716, 2012.

KAAKE, D. A.; LEVETT, P. N. Leptospirosis in Humans. **Current Topics in Microbiology and Immunology**. p. 65–97, 2014.

KUPEK, E.; FAVERSANI, M. C. S. S.; PHILIPPI, J. M. S. The relationship between rainfall and human leptospirosis in Florianópolis, Brazil, 1991–1996. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 4, p. 131-134, 2000.

LEVETT, P. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Review**, v. 14, p. 296–326, 2001.

LUNA, E. J. A. A emergência das doenças emergentes e as doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 5, p. 229-243, 2002.

MWACHUI, M. A.; CRUMP, L.; HARTSKEERL, R.; ZINSSTAG, J.; HATTENDORF, J. Environmental and Behavioural Determinants of Leptospirosis Transmission: A Systematic Review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, p. 1-15, 2015.

PELLISSARI, D.M. Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000-2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, p.565-574, 2011.

RIBEIRO, T. M. P.; FREITAS, T. M. S.; REIS, T. S.; SANTOS, T. T.; SOUZA, D. P. M, FREIRIA, L. M.; SANTOS, H. D.; SILVA, B. F.; MOURA, L. T. S.; FERREIRA, R. K. A. Casos Notificados de Leptospirose Humana, em Roraima, no Período 2005-2015. **Jornal Interdisciplinar de Biociência**, v. 3, p. 7-12, 2018.

SILVA, L. A.; LIMA, K. M. S.; FERNANDES, O. C. C.; BALASSIANO, I. T.; AVELAR, K. E. S.; JESUS, M. S. Seroprevalence of and risk factors for leptospirosis in the City of Manaus, State of Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 628-631, 2016.

VASCONCELOS, C. H.; FONSECA, F. R.; LISE, M. L. Z.; ARSKY, M. L. N. S. Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001-2009. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 20, p.49-56, 2012.

WILLIAMS, B. T. Assessing the health impact of urbanization. **World Health Statistics Quarterly**, v. 43, p. 145-152, 1990.

3. CAPÍTULO II - LEPTOSPIROSE EM EQUINOS: REVISÃO DE LITERATURA

Resumo

A leptospirose é uma zoonose com distribuição mundial que pode acometer mamíferos domésticos e selvagens, no Brasil a sua ocorrência é relatada em diversos estados brasileiros. As infecções de animais ou humanos ocorrem pelo contato direto com a urina dos animais. A infecção em equinos tem sido comumente relatada, tem ocorrência distribuição mundial, e potencial zoonótico. Dessa forma, o objetivo dessa revisão é descrever os principais aspectos relacionados a leptospirose equina: aspectos epidemiológicos, patogenia, aspectos clínicos, diagnóstico, controle e profilaxia. A enfermidade tem caráter infeccioso que pode acometer equinos de qualquer idade, ou sexo, e possibilidade de grandes prejuízos econômicos, devido redução da performance de cavalos atletas, alterações clínicas como anemia, uveíte, icterícia, alterações hepáticas e renais, abortos e natimortos. O diagnóstico de leptospirose baseia-se nos achados clínicos e exames laboratoriais como a soroaglutinação. A antibioticoterapia é utilizada no tratamento e o controle é realizado através de manejo adequado, com a identificação dos fatores de risco, garantia de boas condições higiênicas ambientais e vacinação.

Palavras-chave: Zoonose. Cavalos. Diagnóstico. Controle.

3.1 Introdução

A leptospirose em humanos é sempre adquirida de origem animal. A transmissão entre humanos não ocorre, dessa forma a doença é globalmente conhecida como uma zoonose. As leptospiras patogênicas se localizam, na fase de leptospiúria, nos túbulos renais proximais dos portadores, embora outros tecidos e órgãos também possam servir como fonte de infecção. As leptospiras são excretadas na urina e podem contaminar o solo, as águas superficiais, córregos e rios. As infecções de animais ou humanos ocorrem pelo contato direto com a urina ou indiretamente por água contaminada. Os portadores podem ser animais selvagens ou domésticos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010; NETA et al., 2016).

Dentro do grupo de animais, a infecção em equinos tem sido comumente relatada, sendo a leptospirose equina considerada como uma doença de distribuição mundial, com potencial zoonótico. A enfermidade é uma infecção bacteriana aguda causados por espiroquetas patogênicas pertencentes ao gênero *Leptospira* (BOOGS; DONECKER, 2015).

Os dados disponíveis sobre a infecção por *Leptospira* spp. em equinos no Brasil, em sua maioria são provenientes de levantamentos epidemiológicos e vem, ao longo dos anos, contribuindo para a construção de um mapa de distribuição da doença no território nacional. Neste sentido, o Instituto Adolfo Lutz pode ser considerado pioneiro, visto que realizou o primeiro inquérito sorológico com relato de infecção por *Leptospira* spp. em equinos no país, na década de 1950, especificamente no período entre 1953 e 1955. Nesse inquérito foi constatado que 20 equinos dos municípios de São Paulo e Jundiaí foram sororreagentes para os sorovares Australis, Sejroe, Grippotyphosa, Canicola e Icterohaemorrhagiae (CORRÊA et al., 1955).

Posteriormente, um grande número de outros estudos epidemiológicos foram publicados, por exemplo, entre os anos de 1984 e 1997 foi publicado um estudo retrospectivo, com um importante quantitativo (15.558 amostras) de amostras e espécies testadas (bubalinos, ovinos, caprinos, suínos, equinos e cães), avaliando-se a resposta sorológica a de 24 sorovares de *Leptospira* spp. em animais das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Como resultado, observou-se que as médias de proporções de animais positivos para pelo menos um sorovar de *Leptospira* spp., de acordo com a espécie animal, ocorreu em valores crescentes (ovinos (0,70%), caprinos (5,61%), suínos (14,90%), cães (22,84%) equinos (27,94%) e bubalinos (43,70%)), demonstrando a presença da infecção em diversas espécies de animais domésticos (FAVERO et al., 2002).

Os sinais clínicos associados a leptospirose em equinos são inespecíficos, dessa forma, é possível que a doença ocorra com maior frequência do que realmente é diagnosticada nessa

espécie. Esses animais podem ter um papel importante na transmissão da leptospirose pela eliminação do agente no ambiente. Mesmo com uma alta concentração de anticorpos no hospedeiro, a *Leptospira* spp. pode sobreviver e se multiplicar, sendo eliminada na urina pela espécie por pelo menos 30 dias pós-inoculação ou por até 2-3 meses (HAMOND et al., 2013).

Neste sentido, a avaliação epidemiológica da leptospirose através de estudos sorológicos em equinos reforçam a concepção da análise conjunta da avaliação sanitária animal e do espaço como importante ferramenta na investigação epidemiológica de enfermidades e são de suma importância para se estabelecer um panorama da situação dos rebanhos nacionais, auxiliando na tomada de decisões estratégicas visando a manutenção da sanidade animal, sem esquecer da prevenção da transmissão dessa importante zoonose aos humanos em contato com esses animais.

3.2. Leptospirose em equinos

3.2.1 Etiologia

A leptospirose é uma zoonose causada por espiroquetas do gênero *Leptospira* spp. A classificação sorológica das leptospiroses relacionados a reações sorológicas específicas que fornecem os sorogrupos e sorovares de leptospiroses patogênicas e saprófitas (QUINN et al., 1994). Estima-se a existência de aproximadamente 300 sorovares de *L. interrogans* divididas em 25 sorogrupos (AHMED et al., 2006). Outra classificação foi desenvolvida baseada na técnica molecular de hibridização de DNA-DNA. A partir desta foram determinadas vinte espécies entre leptospiroses patogênicas e não-patogênicas (BHARTI et al., 2003). A classificação baseada no genoma permitiu demonstrar a variabilidade genética deste gênero e possui valor taxonômico a despeito da anterior. No entanto, a classificação molecular é problemática para o microbiologista clínico, uma vez que é incompatível com o sistema de sorogrupos utilizados por muitos anos pelos clínicos e epidemiologistas (LEVETT, 2001). Dessa forma, nos laboratórios de diagnóstico e na rotina clínica a identificação das leptospiroses pelo método mais antigo, identificação do sorogrupo/ sorovar continua em uso (BOOGS; DONECKER, 2015).

Diferentes títulos de sorovares já foram relatados em equinos, destacando-se o Bratislava e o sorogrupo Icterohaemorrhagiae, responsável pela maior parte das infecções em áreas tropicais urbanas em todo o mundo (HAMOND et al., 2013).

3.2.2 Aspectos epidemiológicos

Os estudos epidemiológicos realizados nos equinos são baseados em relatos de ocorrência e sorologia em regiões com alta incidência, com resultados distintos, além da grande variabilidade nos sorovares identificadas (KHURANA et al., 2016). Pesquisas realizadas na última década no Brasil demonstram grande variação na soroprevalência da leptospirose em equinos. A prevalência no país, por regiões, varia entre 79,3 e 100% (Norte); 60 e 87,1% (Sul); 45 e 74,1% (Centro Oeste); 17,9 e 71,9% (Sudeste) e 8 e 62,5% (Nordeste) (RIBEIRO et al., 2018).

Na década de 90, soros de 922 equinos aparentemente saudáveis destinados à produção de soros terapêuticos em uma fazenda do Instituto Butantã em São Roque, Estado de São Paulo, Brasil, foram examinados para detecção de anticorpos para sorovares de *Leptospira* teste de aglutinação microscópica. Títulos de anticorpos significativos foram

encontrados em 807 soros (87,52%). As reações mais comuns entre os soros positivos ocorreram a antígenos do sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* (84%) (ROMERO et al., 1994).

Em análise sorológica realizada com equinos no Rio Grande do Sul em 2003, foi detectado que em 1169 amostras analisadas, 871 (74,51%) foram reagentes aos sorovares testados. O sorovar de maior prevalência foi *L. bratislava* (19, 92%), seguido de *L. copenhageni* (15,06%), respectivamente (PIRES NETO et al., 2005)

Soros de equinos com sintomas clínicos para a leptospirose foram testados no estado da Bahia. Em um total de 106 amostras de soro provenientes de uma propriedade do município de Itagibá no estado da Bahia, obteve-se 23% de soropositividade. Os sorovares mais frequentes na ordem decrescente foram *Icterohaemorrhagiae*, *Pyrogenes*, *Wolffi*, *Castellonis*, *Autumnalis* e *Hardjo* (GOMES et al., 2007).

No estado de Pernambuco um inquérito epidemiológico realizado determinou a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* e os fatores de risco associados a leptospirose em equinos. Foram examinados 100 soros pela prova de SAM, testando 24 sorovares de *Leptospira* spp. como antígeno, 28 (28%) das amostras foram reagentes. Os sorovares mais frequentes foram Patoc (35,71%), Butembo (32,14%) e Sentot (14,30%). O trabalho ainda recomenda o controle de roedores em depósitos de ração e no ambiente (ALVES et al., 2016).

Estudo realizado na Amazônia brasileira investigou os fatores de risco associados leptospirose em equinos. A Soroprevalência encontrada foi de 32,7% e o sorogrupo mais prevalente foi o Sejroe (5,9%). A sororreatividade foi associada a idade, sexo, atividade (trabalho, lazer ou ambos), suplementação alimentar, acúmulo de lixo e presença de felinos. O estudo também concluiu que a epidemiologia da leptospirose permanece pouco compreendida na Amazônia, principalmente nas atividades relacionadas a pecuária, afirmando a necessitando de mais estudos para melhorar medidas de controle e prevenção (RIBEIRO et al., 2018)

Um estudo realizado no Rio de Janeiro trouxe dados importantes, visto que foi realizado em cima de condições consideradas extremamente favoráveis para a transmissão da leptospirose: em uma propriedade na área urbana que após uma forte tempestade, as instalações dos animais permaneceram alagadas por 72h. Nesta propriedade estavam 276 cavalos puro-sangue, com idade entre 2 e 5 anos. Nas amostras coletadas 20 dias após a tempestade, 132 (47,8%) cavalos foram sororreativos, sendo *Copenhageni* o sorovar mais frequente (88,8% dos títulos reativos). O mesmo trabalho ainda sugere o importante papel que esses animais podem desempenhar na transmissão da leptospirose em áreas urbanas (HAMOND et al., 2013).

Estudos sorológicos internacionais em propriedades com histórico de aborto em éguas com leptospirose demonstraram soropositividade de 76% para Bratislava, 49% para Icterohaemorrhagiae, 20% para Grippytyphosa, 16% para Pomona tipo kennewicki, 16% para Hardjo e 1% para Canicola. Nos EUA 80% dos abortos em éguas são causados por *Leptospira interrogans* sorovar Pomona tipo kennewicki (Lk) e 10% por sorovar *Grippytyphosa* (ARTIUSHIN et al., 2012).

Na América do Norte inquéritos sorológicos realizados nos anos de 2012 e 2014 revelou soroprevalência de 45% em diferentes regiões do Canadá, e 75% de 5.261 amostras foram positivas para pelo menos um sorovar leptospiral (BOOGS; DONECKER, 2015).

3.2.3 Patogenia

A fonte de contágio é um animal infectado que contamina o pasto, a água e os alimentos com urina, secreções uterinas e fetos abortados. Uma vez no ambiente, as leptospiros podem sobreviver por várias semanas em condições favoráveis, que é um ambiente preferencialmente úmido. A porta usual de entrada da bactéria é pela penetração em membrana mucosa e pele, mas ocasionalmente pode ocorrer também via inalação e ingestão, sendo que o resultado da exposição dependerá da dose, virulência e susceptibilidade do hospedeiro (MEGID et al., 2016).

A umidade presente no solo é o fator mais importante para a permanência e persistência do agente no solo, o qual pode viver até 183 dias em solo úmido, mas sobrevive apenas 30 minutos quando este está seco. Em solo em condições médias a sobrevivência provável do organismo é de no mínimo 42 dias. Além da sobrevivência no solo, ela sobrevive também na água, sendo que a sobrevivência é maior em água parada do que em água corrente. Mesmo assim existem relatos de sobrevivência do agente com água corrente por 15 dias. Em virtude da importância da água como meio de disseminação da infecção haverá maior probabilidade de ocorrerem novos casos em estações úmidas e áreas planas, principalmente quando a contaminação e a suscetibilidade forem elevadas. Destacam-se as áreas em que existem pastos muito irrigados, ou onde os índices pluviométricos são elevados, campos pantanosos, pastos com água represada e superfície facilmente contaminável (RADOSTITS et al., 2007; MEGID et al., 2016).

Éguas com histórico de aborto, podem eliminar leptospiros na urina por de até 3 meses, com risco de transmissão da doença para animais que tenham contato com esse material biológico, além de representar um potencial risco zoonótico para humanos. Éguas

que abortam devido a leptospirose ainda podem desenvolver uveíte após semanas até meses após o aborto (BOOGS; DONECKER, 2015).

3.2.4 Aspectos clínicos

Nas regiões endêmicas, infecções em equinos podem ocorrer de forma aguda ou inaparente, já infecção é mais frequente do que a doença clínica. A leptospirose tem sério impacto negativo na equinocultura, incluindo grandes perdas econômicas devido a abortos. Manifestações clínicas da infecção incluem disfunção renal, disfunção hepática e uveíte recorrente, que é considerada a maior causa mundial de perda de visão em equinos (ARTIUSHIN et al., 2012; HAMOND et al., 2012; POLLE et al., 2014).

Os sinais clínicos mais visíveis da leptospirose em equinos são: febre moderada acompanhada de anorexia e letargia, comuns na forma leve da doença. Nos casos mais graves, depressão, expansão da conjuntiva, aparecimento de petéquias nas mucosas, hemoglobinúria, anemia, icterícia, em períodos de 5 a 18 dias (RADOSTITS et al., 2007; SMITH, 2014; KHURANA et al., 2016).

De 2 a 8 meses depois do início da infecção, alguns equinos podem desenvolver oftalmia periódica, inflamação da íris, uveíte e cegueira noturna. A uveíte recorrente (oftalmia periódica) tem sido reconhecida como uma sequela da leptospirose tanto em pacientes equinos como em pacientes humanos. Em equinos a uveíte tem sido descrita após a infecção natural e experimental. Esta condição pode ocorrer meses ou anos após a infecção, embora alguns casos possam ser agudos. Os sinais da uveíte recorrente incluem miose, blefaroespasmos, fotofobia e ocasionalmente ceratite. Cronicamente podem existir corioretinite e alteração da cor da íris (RADOSTITS et al., 2007; SMITH, 2014; MEGID et al., 2016).

A leptospirose ainda pode causar placentite, abortos e natimortos em éguas gestantes. Neonatos infectados no útero podem apresentar severos sinais clínicos com risco de óbito (RADOSTITS et al., 2007; KHURANA et al., 2016).

Insuficiência renal pode ocorrer com a doença, sendo mais comum em potros, quando comparados com cavalos idosos. Os rins se tornam edemaciados devido a nefrite túbulointersticial, e a urina pode apresentar piúria sem bactérias visíveis (KHURANA et al., 2016).

A leptospirose pode ainda ter efeito no desempenho atlético de cavalos, mesmo quando subclínica. Em estudo com cavalos de corrida, aqueles com desempenho abaixo do padrão (89,5%) foram sororeativos com títulos altos, em contraste com 35% de sororeatividade em cavalos com bom desempenho atlético. A sororeatividade à leptospirose

foi observada com maior frequência em cavalos com desempenho atlético abaixo do padrão, em contraste com aqueles com bom desempenho (HAMOND et al., 2012).

A avaliação laboratorial pode revelar leucocitose, hiperfibrinogenemia, azotemia e isostenúria (RADOSTITS et al., 2007). Provas bioquímicas devem ser utilizadas para o diagnóstico de alterações renais e hepáticas induzidas pela leptospirose (PESCADOR et al., 2004).

3.2.5 Diagnóstico

A leptospirose em cavalos, diferentemente de outras espécies domésticas, é diagnosticada de forma ocasional como causa de doença sistêmica nesses animais (BOOGS; DONECKER, 2015).

O diagnóstico da infecção por *Leptospira* spp. nos seres humanos e outros animais, é realizado por métodos laboratoriais diretos e indiretos. Os métodos diretos de diagnóstico da leptospirose são compostos pelo isolamento do agente e identificação de antígenos de *Leptospira* spp. em tecidos e fluidos corporais usando como métodos de identificação a imunofluorescência, imunohistoquímica e vários métodos de reação em cadeia de polimerase (PCR). Já, os métodos indiretos são baseados na detecção de anticorpos específicos, com discriminação de sorovares. Dentre as principais técnicas indiretas, podemos destacar o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA), imunofluorescência indireta e testes de aglutinação, como por exemplo, o teste de soroaglutinação microscópica (SAM). A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) utiliza como referência internacional o SAM, cuja metodologia se encontra descrita no Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (OIE, 2014).

O teste de soroaglutinação microscópica é o mais frequentemente método usado de diagnóstico de leptospirose em cavalos, assim como em outras espécies, incluindo bovinos e cães. Com o SAM, as diluições do soro são incubadas com suspensões de sorovares leptospirais e são então examinados na microscopia de campo escuro. Devido as dificuldades associadas ao diagnóstico dos sinais clínicos associada à leptospira, a confirmação pode exigir sorologia, cultura e PCR de fluidos biológicos aquoso (ADLER; MOCTEZUMA, 2010; BOOGS; DONECKER, 2015).

Embora gram-negativas citoquimicamente, estas não se coram bem com corantes bacteriológicos convencionais e em geral são visualizadas usando-se microscópio de campo escuro. Técnicas de impregnação pela prata e técnicas imunológicas podem ser usadas para

demonstrar leptospiras nos tecidos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010; BOOGS; DONECKER, 2015).

3.2.6 Controle e profilaxia

A identificação dos sorovares envolvidos nas reações positivas de aglutinação determina as ações de profilaxia e o controle da leptospirose em equinos que poderão indicar a origem e os potenciais reservatórios dos sorovares e, portanto, as ações indicadas para a redução da contaminação ambiental e da exposição de equinos aos fatores associados a infecção por *Leptospira* spp. (ADLER; MOCTEZUMA, 2010; PINNA, 2011).

A profilaxia e o controle da leptospirose em equinos dependem, principalmente, da identificação dos sorovares que acometem os equinos na propriedade (PINNA, 2011). Após a identificação destes sorovares deve-se determinar se a infecção é incidental ou de manutenção. Em caso de infecções que são incidentais deve-se identificar de que forma o rebanho está sendo exposto aos reservatórios naturais destas variedades, é válido ressaltar que somente por meio de medidas de higiene da criação pode-se controlar a leptospirose no plantel. Já quando a infecção é mantida pelos equinos, pode-se basear o controle na progressiva identificação, tratamento dos portadores e seguir um protocolo de vacinação para os animais (FAINE et al., 2000; PINNA, 2011).

Quanto ao tratamento de leptospirose equina os fármacos comumente utilizados são estreptomicina e penicilina. As tetraciclinas são usadas como uma alternativa. A dose de penicilina está relacionada ao título de anticorpos leptospirais (POLLE et al., 2014; BOOGS; DONECKER, 2015; NETA et al., 2016).

A realização do tratamento adequado é fundamental, visto que a leptospirose pode prejudicar o desempenho em cavalos de corrida. A que a antibioticoterapia específica pode melhorar o desempenho atlético dos animais afetados (HAMOND et al., 2012). Além disso, o controle da infecção depende do tratamento com antibióticos, e das práticas de manejo baseadas na identificação de animais soropositivos, na detecção de leptospira em urina e outros fluidos corporais (ARTIUSHIN et al., 2012).

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

As vacinas atualmente disponíveis consistem em bacterinas de células inteiras mortas, amplamente utilizadas em animais, com poucos estudos em humanos. Atualmente, trabalhos

com antígenos de proteína recombinante mostra-se promissores para o desenvolvimento de vacinas baseadas em antígenos específicos (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

O controle de roedores, quarentena, exame constando soronegatividade, esquemas de vacinação eficiente, técnicas de drenagem e canalização de cursos de água são medidas eficientes para evitar a disseminação da infecção por *Leptospira* spp. em um haras. Assim como, a destinação correta de esgotos, excretas, restos placentários e de abortamento, higienização de benfeitorias e de equipamentos zootécnicos auxiliam no controle e prevenção da leptospirose (NETA et al., 2016).

3.3 Considerações finais

A leptospirose em equinos trata-se de uma enfermidade subdiagnosticada a nível mundial, já que a doença pode ocorrer de forma inaparente, mas com queda no desempenho atlético dos animais de esporte, além de significativas perdas econômicas como abortos tardios ou natimortos, cegueira após uveítes recorrentes. Além dos custos com diagnóstico e tratamento recomendado.

Dessa forma, recomenda-se a implantação de medidas de controle e profilaxia, como identificação dos fatores de risco, realização de sorologias e identificação dos sorvares envolvidos nas infecções de forma periódica, tratamento dos animais infectados, mesmo que assintomáticos, e vacinação, de acordo com os sorovares identificados nas propriedades.

Referências

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. Leptospira and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 287-296, 2010.

AHMED, N.; DEVI, S. M.; VALVERDE, M.; VIJAYACHARI, P.; MACHANGU, R.S.; ELLIS, W. A.; HARTSKEERL, R. A. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic Leptospira species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, p. 1-10, 2007.

ALVES, J. R. A. A.; OLIVEIRA, K. D. S. O.; COSTA, D. F.; FERNANDES, L. G.; HIGINO, S. S. S.; ALVES, C. J.; SANTOS, C. S. A. B.; AZEVEDO, S. S. Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos do estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.83, p. 1-5, 2016.

ARTIUSHIN, S. C.; TIMONEY, J. F.; BALASURIYA, U. B.; EROL, E.; SELLS, S. F. Real-time PCR for detection of Leptospira interrogans serovar Pomona type kennewicki in equine clinical specimens. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 32, 2012.

BHARTI, A. R.; NALLY, J. E.; RICALDI, J. N. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3, p. 757-771, 2003.

BOOGS, J.; DONECKER, J. M. Equine Leptospirosis: Disease Overview and the Risks and Economic Ramifications of Leptospira-Associated Recurrent Uveitis and Leptospiral Abortion. **Technical Bulletin (ZOETIS)**, 2015. 12p.

CORRÊA, M. O. A.; AMATO NETO, V.; VERONESI, R.; FABBRI, O. S. Leptospiroses em equinos: inquérito sorológico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 15, p. 186-193, 1955.

FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; NETO, J. S. F. Sorovares de Leptospiras predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.

GOMES, A. H. B.; OLIVEIRA, F. C. S.; CAVALCANTI, L. A.; CONCEIÇÃO, I. R.; SANTOS, G. R.; RAMALHO, E. J.; VIEGAS, S. A. R. A. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de equinos no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, p. 144-151, 2007.

HAMOND, C.; MARTINS, G.; LAWSON-FERREIRA, R.; MEDEIROS, M. A.; LILENBAUM, W. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. **Epidemiology and Infection**, v. 141, p. 33-35, 2013.

HAMOND, C.; MARTINS, G.; LILENBAUM, W. Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p. 1927-1930, 2012.

KHURANA, S. K.; DHAMA, K.; MINAKSHI, P.; GULATI, B.; MALIK, Y. S.; KARTHIK, K. Leptospirosis in horses: Special reference to equine recurrent uveitis. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 4, p. 123-131, 2016.

- LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Veterinary**, v. 14, p. 296-326, 2001.
- MEGID, M.; RIBEIRO, M. G. PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. São Paulo – SP: ROCA, 2016. 1296p.
- NETA, E. I. B.; NETO, J. B.; ARAGÃO, C. P. M.; LEITE, A. K. R. M. Leptospirose em equino: Uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 10, p. 841–857, 2016.
- OIE. Organização Mundial de Saúde Animal. Manual of diagnostic tests and vaccines for performance in racing horses. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p. 1927-1930, 2012.
- PESCADOR, C.A., CORBELLINI, L.C., LORETTI, A.P., JÚNIOR, E.W., FRANTZ, F.J., DRIEMEIER. Aborto em equino por *Leptospira* sp. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p. 271-274, 2004.
- PINNA, A. E. **Estudo sorológico, bacteriológico e molecular da leptospirose em éguas envolvidas em programa de transferência de embriões**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2011.
- PIRES NETO, J.A.S.; HESSE, F.; OLIVEIRA, M.A.M. Leptospirose equina: aspectos clínicos, tratamento, prevenção e levantamento sorológico. **Veterinária em Foco**, v. 2, p. 165-176, 2005.
- POLLE, F.; STOREY, E.; EADES, S.; ALT, D.; HORNSBY, R.; ZUERNER, R.; CARTER, R. Role of intraocular *Leptospira* infections in the pathogenesis of equine recurrent uveitis in the Southern United States. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, p. 1300-1306, 2014.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10th ed. London: Elsevier Saunders, 2007. 2065 p.
- RIBEIRO, T. M. P.; CORREIA, L.; SPOHR, K. A. H.; AGUIAR, L. C.; MARTINS, G.; JAYME, V. S. Risk factors associated with seroreactivity against *Leptospira* sp. in horses from Brazilian Amazon. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 68, p. 59–62, 2018.
- ROMERO, E. C.; SAKATA, E. E.; PINTO, J. R.; YASUDA, P. H.; BRANDÃO, A. P. Search for agglutinating antibody to *Leptospira* and *Letonema* in horses, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 31, p.210 – 15, 1994.
- SMITH, B. P. **Large animal internal medicine**. 5th ed. St. Louis: Elsevier Mosby, 2014. 1872p.

4. CAPÍTULO III - FREQUÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM EQUINOS DE MANAUS E REGIÃO METROPOLITANA NO ESTADO DO AMAZONAS, BRASIL¹

Resumo

A ocorrência de leptospirose é significativamente maior no clima tropical do que nas regiões temperadas, especialmente em períodos com altos níveis de chuva. Em cavalos, a leptospirose pode variar de subclínica a assintomática, mas estes animais podem desempenhar um papel importante na transmissão da leptospirose por meio da eliminação do agente no ambiente. Em relação aos cavalos, entre os anos de 2004 e 2013, o rebanho Amazônico aumentou 30%. Assim, o objetivo do estudo foi determinar a prevalência sorológica de leptospirose em cavalos em Manaus e região metropolitana, estado do Amazonas, Brasil, bem como, determinar os principais sorogrupos envolvidos nas infecções desses animais. Para este propósito, entre agosto de 2018 e julho de 2019, foram colhidos soros de 198 cavalos para serem avaliados sorologicamente com o teste de microaglutinação microscópica, utilizando-se um painel de dez sorogrupos. Como resultado, observou-se que 92 cavalos (44,46%) foram positivos para um ou mais sorovares de *Leptospira*, com maior prevalência dos sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. Portanto, com o aumento do rebanho equino na região e, conseqüentemente, maior interação entre criadores e animais, a identificação de animais reagentes para pelo menos um sorovar de *Leptospira* spp. alerta para a possível existência de reservatórios de cepas patogênicas para outros animais e seres humanos.

Palavras-chave: Amazonas. Região metropolitana. Epidemiologia. Equino. *Leptospira*.

¹ Artigo completo publicado (APÊNDICE): SOUSA, I. K. F.; SILVA, R. L. C.; SOUSA, R. S.; VIEIRA, C. E.; MELO, S.; QUEVEDO, G. P.; VON LAER, A. E.; LOVATO, L. T.; TONIN, A. A. Frequency of leptospirosis in horses in Manaus and metropolitan region in Amazonas State, Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 57, n. 4, p. 1-7, 2020.

4.1 Introdução

Entre os anos de 2004 e 2013, o rebanho de cavalos no Estado do Amazonas aumentou 30%, resultando em um rebanho de 15.479 equinos no final da década. No mesmo período, o crescimento ocorreu em todos os estados da região Norte do Brasil, com taxas entre 0,57% no Pará e 98% no Acre, respectivamente. No entanto, essa taxa difere nos estados que possuem criação de equinos, como Minas Gerais, Bahia e São Paulo, onde, no mesmo período, houve diminuição no número efetivo de animais em seus rebanhos (BRASIL, 2016).

A ocorrência de leptospirose é significativamente maior no clima tropical (tais como o Amazonas), do que em regiões temperadas, principalmente devido à maior sobrevivência de leptospiras em um ambiente quente e úmido, com elevados níveis de chuva e solo neutro ou ligeiramente alcalino. Estas características podem resultar em surtos epidêmicos devido a maior exposição à água contaminada com urina ou tecidos de animais infectados (LEVETT, 2001). Em cavalos, a leptospirose pode ser subclínica ou assintomática, os sinais clínicos que podem ser observados são: febre, anorexia, icterícia, uveíte, abortos ou nascimentos prematuros (HONG et al., 1993; HUNTER; HERR, 1994; TIMONEY et al., 2011; YAN et al., 2010). Além disso, cavalos podem ter um papel importante na transmissão de leptospirose por eliminar o agente no ambiente. Mesmo com uma alta concentração de anticorpos no hospedeiro, a *Leptospira* spp. pode sobreviver e se multiplicar nos túbulos renais, sendo eliminada na urina da espécie por pelo menos 30 dias após a inoculação ou mesmo por 2-3 meses (HAMOND et al., 2013). A presença de espécies de animais suscetíveis em regiões com condições ambientais favoráveis para leptospirose justifica a necessidade de estudos de soroprevalência em humanos e populações animais (JESUS et al., 2012; SILVA et al., 2016).

Além disso, houve um aumento no número de cavalos vivendo em áreas urbanas de Manaus e região metropolitana, animais que estão sendo usados para atividades de lazer, trabalho e esportes. Como consequência, o contato frequente entre as pessoas e animais, seja no manuseio, treinamento ou em sessões de terapia de equitação, aumenta-se o risco de exposição e contaminação de humanos e outros animais suscetíveis. Nesse contexto, é essencial conhecer a ocorrência de doenças infecciosas, como a leptospirose, que causa um impacto econômico negativo nos sistemas de produção de equinos, como perdas reprodutivas, e risco à saúde pública, devido ao seu caráter zoonótico. Assim, a presente investigação buscou avaliar a frequência sorológica da leptospirose em cavalos em Manaus e região metropolitana, no Estado do Amazonas, Brasil, bem como determinar os principais sorogrupos envolvidos nas infecções desses animais.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Amostragem

O estudo foi realizado em 17 propriedades de equinos localizadas em Manaus, capital do estado do Amazonas, e sua região metropolitana, pertencente à região Norte do Brasil. A modelagem estatística para amostragem foi realizada de acordo com Miot (2011), considerando prevalência de 50%, com nível de confiança de 95%. Não houve predomínio de raça, sexo ou idade. Todos os animais eram garanhões, criados em um sistema misto (no campo durante o dia e alojado à noite). Para ter uma cobertura mais ampla e amostragem representativa da localização optou-se por não selecionar raça, sexo ou idade média.

Durante os meses de agosto de 2018 a julho de 2019, foram coletadas amostras de sangue de 198 cavalos por venopunção da jugular externa em tubos vacutainer. Nenhum dos animais foi vacinado contra a leptospirose. Para as análises hematológicas, as amostras foram coletadas em tubos contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), resfriados a 4 °C, a análise foi realizada em um período máximo de 12 horas após a coleta. Para separação do soro, as amostras de sangue (em tubos de ensaio sem anticoagulante) foram centrifugadas em 1.000 g x 15 min, seguido por aliquotação individual em microtubos e congelados a -20 °C para realização da sorologia subsequente.

4.2.2 Ensaio sorológico

O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado no Laboratório Pesquisa e Diagnóstico de leptospirose na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). As amostras de soro foram testadas para anticorpos anti-*Leptospira* a partir do teste de aglutinação microscópica (MAT) (COLE et al., 1973; GALTON et al., 1965), usando antígenos vivos cultivados em meio líquido Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) livres de contaminação ou auto-aglutinação, como recomendado pela Organização Mundial da Saúde (2012). Um painel completo de dez sorogrupos (incluindo 13 sorovares de referência) foram usados como antígenos de teste: sorogrupo Sejroe (sorovares Hardjo [subtipo Hardjo-prajitno] e Wolffi), sorogrupo Grippotyphosa (sorovar Grippotyphosa), sorogrupo Canicola (sorovar Canicola), sorogrupo Icterohaemorrhagiae (sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni), sorogrupo Australis (sorovares Australis e Bratislava), sorogrupo Pomona (sorovar Pomona) e sorogrupo Autumnalis (sorovar Butembo), sorogrupo Pyrogenes (sorovar Pyrogenes), sorogrupo Ballum (sorovar Ballum) e sorogrupo Tarassovi (sorovar Tarassovi).

As amostras de soro diluídas foram adicionadas em série as suspensões vivas de leptospiras, 13 sorovares, em placa de microtitulação (96 poços) e incubadas à temperatura ambiente por 2 a 4 horas. A presença ou ausência de aglutinação foi examinada usando microscopia de campo escuro a 100 × ampliação. Os títulos foram calculados com base na maior diluição sérica que aglutinou ao menos 50% das leptospiras, para cada sorovar utilizado (COLE et al., 1973; GALTON et al., 1965).

4.2.3 Análise hematológica

Para determinar o fibrinogênio, a técnica de precipitação térmica descrita por Schalm (1970) foi utilizada, o hematócrito foi avaliado através da técnica de microcentrifugação. Baseado em valores de hematócritos e concentração de fibrinogênio, os animais foram classificados como anêmicos (hematócrito <32%), limítrofes (hematócrito 32-33%) e não anêmico (hematócrito > 32%), com hiperfibrinogenemia (fibrinogênio > 400 g/dL) e fibrinogênio normal (fibrinogênio <400 g/dL).

4.2.4 Análise de dados

Os dados foram analisados utilizando o software Excel® 2016 para a preparação de planilhas, sendo apresentado com a sua distribuição absoluta e relativa.

4.3 Resultados

Os resultados obtidos mostraram que dos 198 cavalos avaliados, 92 foram positivos para um ou mais sorovares de *Leptospira* (46.46%). Houve uma alta frequência de animais reagentes aos sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes, como mostrado na Tabela 1. A tabela 2 traz os resultados do hematócrito e fibrinogênio, onde 19 (20,65%) animais soropositivos apresentaram anemia, enquanto 14 (15,22%) apresentaram-se no limite inferior de hematócrito. Ainda assim, 15 (16,30%) dos animais soropositivos apresentaram hiperfibrinogênese.

Tabela 1 – Títulos de anticorpos para sorogrupo e sorovares de *Leptospira* spp. em cavalos no Estado do Amazonas, Brasil. Coleta de sangue foi realizada no período de agosto de 2018 a julho 2019.

SOROGRUPO*	SOROVAR*	100	200	400	800	N.º DE ANIMAIS
ICT	ICT	35	10	1	–	46
	COP	9	9	1	–	19
PYR	PYR	20	18	5	1	44
BAL	BAL	10	7	2	–	19
TAR	TAR	5	8	3	–	16
CAN	CAN	10	3	1	–	14
AUS	AUS	3	2	–	–	5
	BRA	1	–	–	–	1
SEJ	HAR	–	2	1	–	3
	WOL	1	–	1	–	2
GRI	GRI	1	1	–	–	2
TOTAL		95	60	15	1	–

Fonte: SOUSA (2020)

*AUS: Australis; BAL: Ballum; BRA: Bratislava; CAN: Canicola; COP: Copenhageni; GRI: Grippotyphosa; HAR: Hardjo-prajitno; ICT: Icterohaemorrhagiae; PYR: Pyrogenes; SEJ: Sejroe; TAR: Tarassovi; WOL: Wolffi.

Tabela 2 – Valores de hematócritos e avaliação do fibrinogênio em cavalos com soroaglutinação positiva e negativa para *Leptospira* spp. em Manaus – AM.

Animais	Soroaglutinação		Total
	Positiva	Negativa	
Anêmico (<32%)	19	25	44
Limítrofe (32-33%)	14	18	32
Não anêmico (\geq 34%)	59	63	122
Hiperfibrinogenemia	15	17	32
Fibrinogênio normal	77	89	166

Fonte: SOUSA (2020)

4.4 Discussão

Pesquisas realizadas na última década no Brasil mostraram grande variação na soroprevalência da leptospirose em cavalos. A prevalência nas diferentes regiões do Brasil varia entre 45 e 74,1% (Centro-Oeste), 8 e 62,5% (Nordeste), 79,3% e 100% (Norte), 17,9 e 71,9% (Sudeste) e 60 e 87,1% (Sul) (RIBEIRO, 2015). Dos 198 animais testados, 40 apresentaram aglutininas anti-leptospira positivas para apenas um sorovar, 16 para *Icterohaemorrhagiae* (40%), 15 para *Pyrogenes* (37,5%), três para *Tarassovi* (7,5%), dois para *Copenhageni* (5%), dois para *Ballum* (5%) e dois para *Canicola* (5%), enquanto os outros animais positivos (52) apresentaram coaglutinação que poderia ser infecção por mais de um sorovar ou reações cruzadas entre sorovares (LEVETT, 2001). Em estudo realizado no estado do Pará, das 37 amostras de soro avaliadas, 100% (37/37) mostraram uma reação contra um ou mais sorovares de *Leptospira* spp. Apenas o sorovar *Copenhageni* não reagiu com qualquer uma das amostras testadas (MORAIS et al., 2010).

Um estudo de pesquisa e análise sorológica realizado com cavalos no Rio Grande do Sul (2003) constatou que em 1.169 amostras analisadas, 871 (74,51%) eram reagentes e 298 (25,49%) não reagiram com os sorovares testados. Os sorovares prevalentes foram: Bratislava (19,92%), seguido por *Copenhageni* (15,06%), (PIRES et al., 2005), enquanto no estado de Pernambuco, a análise sorológica de 100 equinos demonstrou a prevalência de sorovares Patoc (35,71%), Butembo (32,14%) e Sentot (14,20%) (ALVES et al., 2016). Estes estudos corroboraram parcialmente com os resultados alcançados por Pires et al. (2005), onde observou-se a predominância sorológica do sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* (que inclui o sorovar *Copenhageni*). Por outro lado, o resultado sorológico principal está relacionado ao sorogrupo *Pyrogenes*, onde observam-se diferenças quando comparados com os outros estudos mencionados acima. Isso atrai atenção à variação epidemiológica da leptospirose em todo o território brasileiro.

L. interrogans sorotipo *Icterohaemorrhagiae*, pertencente ao sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* que tem os roedores sinantrópicos como seu principal hospedeiro de manutenção, além de outros não sinantrópicos como o porco-da-índia brasileiro (MONTE et al., 2013) e capivaras (LANGONI et al., 2016). O sorovar *Icterohaemorrhagiae* tem sido descrito como o mais prevalente em cavalos em diversos estudos soroepidemiológicos no Brasil, como Lilenbaum (1998) no Estado do Rio de Janeiro; Fávero et al. (2002) em animais de diferentes regiões brasileiras; Langoni et al. (2004) nos Estados de São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul; e Hashimoto et al. (2007) no Estado do Paraná, o que corrobora com estes resultados. É importante enfatizar que *Icterohaemorrhagiae* é o sorovar mais frequente

encontrado em cavalos e um dos principais sorovares responsáveis pela maioria das infecções em humanos observadas em áreas urbanas em todo o mundo (FARIA et al., 2008). Deve-se notar que o aumento na ocorrência deste sorovar pode justificar o assentamento de práticas especiais para o controle de roedores em fazendas (MEGID et al., 2016).

O sorovar Pyrogenes, pertencente ao sorogrupo Pyrogenes, tem baixa prevalência em cavalos de outras regiões do Brasil. No entanto, no Pará (MORAIS et al., 2010), como neste estudo, observou-se alta prevalência de Pyrogenes, o que pode sugerir a manutenção deste sorovar por outros animais domésticos ou animais silvestres que vivem na região amazônica. O sorovar Pyrogenes foi isolado pela primeira vez no Brasil de mamíferos selvagens (*Nectomys squamipes*) em áreas próximas a São Paulo (SANTA ROSA et al., 1980) e posteriormente detectado em cães de vários estados (AGUIAR et al., 2007; MAGALHÃES et al., 2006; QUERINO et al., 2003). Na região amazônica, um estudo sorológico de cães no município de Monte Negro (RO) mostrou que o sorovar Pyrogenes foi o segundo mais prevalente em cães (AGUIAR et al., 2007), o que pode sugerir a transmissão deste sorovar entre cães e cavalos nesta região.

Além da participação na cadeia de transmissão, é importante correlacionar a sororreatividade com sinais clínicos, ou mudanças nos padrões fisiológicos dos animais. Nesse sentido, dentro do grupo soropositivos (92 animais), 19 apresentaram anemia, com hematócrito entre 27-31%, 14 com hematócrito limítrofe entre 32-33%, e 59 animais com hematócrito normal com valores variando de 34 a 52%. Embora a soropositividade dos animais para *Leptospira* não indica que o animal tenha um quadro clínico agudo da doença, mas que em algum momento de sua vida ele teve contato com a bactéria, nas formas mais graves, pode-se observar: anemia, hiperfibrinogenemia, petéquias hemorrágicas na mucosa, icterícia, lesões hepáticas, hematúria, hemoglobinúria, leucocitose com neutrofilia ou linfocitose, azotemia, isostenúria, depressão geral, sinais neurológicos, insuficiência renal (principalmente em potros) e morte (DONAHUE, 1995; LILENBAUM, 1998; PINHEIRO et al., 1985; RADOSTITS et al., 2007). Baseado nisso, a presença de anemia e proteína de fase aguda (fibrinogênio) foi avaliada para verificar a saúde dos equinos. A leptospirose provoca anormalidades clínicas que podem levar a mudanças significativas no quadro hematológico e outros achados laboratoriais. A contagem de eritrócitos diminuída, baixa concentração de hemoglobina e linfócitos são achados comuns de laboratório (TONIN et al., 2012). Leucocitose, neutrofilia, eosinopenia, e linfopenia, juntamente com alta concentração de bilirrubina sérica também foram relatados em leptospirose equina (PINNA et al., 2010). A avaliação laboratorial de animais afetados por leptospirose pode revelar hiperfibrinogenemia. Em relação a este parâmetro, entre os animais positivos para *Leptospira* spp., 15 tinham

hiperfibrinogenemia, com 60% dos casos tendo o envolvimento de sorovar Pyrogenes isolados ou em coagulação. Ao contrário de nossos resultados, relativos aos níveis de anemia e fibrinogênio, em um estudo sorológico em cavalos, Farias (2019) mostrou que não havia diferença na contagem sanguínea, concentração de fibrinogênio, e bioquímico entre animais soropositivos e soronegativos para *Leptospira* spp.

4.5 Conclusão

Os resultados obtidos no estudo indicaram alta frequência de soropositividade para *Leptospira* spp. em cavalos no estado do Amazonas, Brasil, indicando a existência de uma alta frequência de reação aos sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. Com o aumento do rebanho equino na região e, conseqüentemente, maior interação entre criadores e animais, a identificação de sorogrupos reagentes de *Leptospira* spp. sinaliza a possível existência de reservatórios e de cepas patogênicas para outros animais e para o homem.

Declaração ética

Os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética sobre o uso de animais no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, sob o número de identificação CEUA.008.02.1417.2404/2020.

Agradecimentos

Agradecemos à Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação, e Inovação Tecnológica do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM). Agradecemos também ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC (PPGI/IFAM). O financiamento para a realização do estudo foi fornecido pelo IFAM por Desenvolvimento Científico e Inovação Tecnológica Programa de Apoio (PADCIT) - Edital nº 001/2018/PR-PPGI/IFAM.

Referências

- AGUIAR, D.M., CAVALCANTE, G.T., MARVULO, M.F.V., SILVA, J.C.R., PINTER, A., VASCONCELLOS, S.A., MORAIS, Z.M., LABRUNA, M.B., CAMARGO, L.M.A., GENNARI, S.M. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 70-76 2007.
- ALVES, J. R. A. A.; OLIVEIRA, K. D. S. O.; COSTA, D. F.; FERNANDES, L. G.; HIGINO, S. S. S.; ALVES, C. J.; SANTOS, C. S. A. B.; AZEVEDO, S. S. Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos do estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.83, p. 1-5, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavallo**. Brasília-DF: MAPA, 2016. 54p.
- COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PULSSELY, P. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination. **Applied Microbiology**, v. 5, p. 976-980, 1973.
- DONAHUE, M. Equine leptospirosis. **Equine Disease quarterly**, v.3, n. 4, p. 4-5, 1995.
- FARIA, M.T.; CALDERWOOD, M. S.; ATHANAZIO, D. A.; MCBRIDE, A. J. A.; HARTSKEERL, R. A.; PEREIRA, M. M.; KO, A. I.; REIS, M. G. Carriage of *Leptospira* interrogans among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. **Acta Tropica** v. 108, p. 1-5, 2008.
- FARIAS, D. K. Aspectos soropidemiológicos e laboratoriais da leptospirose em equinos. Tese (doutorado)- Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2019.
- FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; NETO, J. S. F. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, v. 32, p. 613-619.2002.
- GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. **Applied Microbiology**, v. 13, p. 81-85, 1965.
- HAMOND, C.; MARTINS, G.; LAWSON-FERREIRA, R.; MEDEIROS, M. A.; LILENBAUM, W. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. **Epidemiology and Infection**, v. 141, p. 33-35, 2013.
- HASHIMOTO, V. Y.; GONÇALVES, D. D.; SILVA, F. G.; OLIVEIRA, R. C.; ALVES, L. A.; REICHMANN, P.; MULLER, E. E.; FREITAS, J. C. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, p. 327-330, 2007.
- HONG, C. B.; DONAHUE, J. M.; GILES JR, R. C.; PETRITES-MURPHY, M. B.; POONACHA, K. B.; ROBERTS, A. W.; SMITH, B. J.; TRAMONTIN, R. R.; TUTTLE, P. A.; SWERCZEK, T. W. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and

1989 following seasons. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.5, p.560-566, 1993.

HUNTER, P.; HERR, S. **Leptospirosis**. In: CORTEZ, J.A.W., THOMSON, G.R., TUSTIN, R. C. *Infectious diseases of Livestock*. Oxford: Oxford University, 1994. v. 2, p. 997-1008, 1994.

JESUS, M. S.; SILVA, L. A.; LIMA, K. M. S.; FERNANDES, O. C. C. Cases distribution of leptospirosis in City of Manaus, State of Amazonas, Brazil, 2000-2010. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 713-716, 2012.

LANGONI, H.; KURIBARA, I. Y.; CORREA, A. P. F. L.; ULLMANN, L. S.; SÁNCHEZ, G. P.; LUCHEIS, S. B. Anti-leptospirosis agglutinins in Brazilian capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.22, p. 1-4, 2016.

LANGONI, H.; SILVA, A. V.; PEZERICO, S. B.; LIMA, V. Y. Anti-Leptospire agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 10, p. 207-218, 2004.

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

LILENBAUM W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brazil (1993-1996). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, p. 61-61, 1998.

MAGALHÃES, D. F.; SILVA, J. A.; MOREIRA, E. C.; WILKE, V. M. L.; HADDAD, J. P. A; MENESES, J. N. C. Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, p. 167-174, 2006.

MEGID, M.; RIBEIRO, M. G. PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. São Paulo – SP: ROCA, 2016. 1296p.

MIOT, H. A. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 10, p. 275-278, 2011.

MONTE, L. G.; JORGE, S.; XAVIER, M. A.; LEAL, F. M. A.; AMARAL, M. G.; SEIXAS, F. K.; DELLAGOSTIN, A. O.; HARTLEBEN, C. P. Molecular characterization of virulent *Leptospira interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae isolated from *Cavia aperea*. **Acta Tropica**, v. 126, p. 164-166, 2013.

MORAIS, C. C. G.; KURODA, R. B. S.; PINHO, A. P. V. B.; YWASAKI, F.; MENESES, A. M. C.; MARTINS, A. V.; JÚNIOR, J. M. A.; DIAS, H. L. T.; VASCONCELLOS, S. A. Pesquisa de anticorpos para sorovares de *Leptospira interrogans* patogênicas em equídeos criados na ilha de Algodão, Estado do Pará. **Revista Ciência Agrária**, v.53, n.2, p.188-194, 2010.

PINHEIRO, H. H.; SILVEIRA, W.; OLIVEIRA, V. C. Pesquisas de aglutininas anti-leptospiras em soros eqüinos abatidos no frigorífico Xavante – Araguari, MG. **A Hora Veterinária**, v. 5, p. 42-44, 1985.

PINNA, M.; MARTINS, G.; FREIRE, I.; LILENBAUM, W. Seropositivity to *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associated to reproductive problems without significant biochemical or hematological alterations in horses. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2214-2217, 2010.

PIRES J. A. S.; HESSE, F.; OLIVEIRA, M. A. M. Leptospirose eqüina: aspectos clínicos, tratamento, prevenção e levantamento sorológico. **Revista Veterinária em Foco**, v. 2; p. 165, 2005.

QUERINO, A.M.V.; DELBEM, A.C.B.; OLIVEIRA, R.C. et al. Fatores de risco associados à leptospirose em cães do município de Londrina-RO. **Semina**, v. 24, p. 27-34, 2003.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10th ed. London: Elsevier Saunders, 2007. 2065 p.

RIBEIRO, T. M. P. **Soroepidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em equinos do município de Rorainópolis, estado de Roraima, Brasil**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás. Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ). Goiânia, 2015. 84f.

SANTA ROSA, C. A.; SULZER, C. R.; YANAGUITA, R. M.; SILVA, A. S. Leptospirosis in wildlife in Brazil: Isolation of serovars Canicola, Pyrogenes and Grippotyphosa. **International Journal of Zoonoses**, v. 7, p.40-43, 1980.

SCHALM, O.W. Clinical significance of plasma protein concentration. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 157, n.11, p. 1672-1673, 1970.

SILVA, L. A.; LIMA, K. M. S.; FERNANDES, O. C. C.; BALASSIANO, I. T.; AVELAR, K. E. S.; JESUS, M. S. Seroprevalence of and risk factors for leptospirosis in the City of Manaus, State of Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 628-631, 2016.

TIMONEY, J. F.; KALIMUTHUSAMY, N.; VELINENI, S.; DONAHUE, J. M.; ARTIUSHIN, S. C. AND FETTINGER, M. A unique genotype of *Leptospira interrogans* serovar Pomona type Kennewicki is associated with equine abortion. **Veterinary Microbiology**, v. 2, p. 349–35, 2011.

TONIN, A. A., SILVA, A. S. D., AZEVEDO, M. I. D., FRANÇA, R. T., PAIM, F. C., SCHAEFER, P. C.; MARTINS, J. L. R.; BADKE, M. R. T.; LOPES, S. T. D. A. Hematologic and biochemical alterations in Wistar rats experimentally infected by *Leptospira interrogans*. **Comparative Clinical Pathology**, v. 21, p. 833–838, 2012.


WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION – **Leptospirosis**. Geneva: WHO; 2012. Disponível em: http://www.wpro.who.int/mediacentre/factsheets/fs_13082012_leptospirosis/en/. Acesso 20 jul. 2020.

YAN, W.; FAISAL, S. M.; DIVERS, T.; MCDONOUGH, S. P.; AKEY, B.; CHANG, Y. F. Experimental *Leptospira interrogans* serovar Kennewicki infection of horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 912-917, 2010.



Frequency of leptospirosis in horses in Manaus and metropolitan region in Amazonas State, Brazil

Frequência de leptospirose em equinos de Manaus e região metropolitana no estado do Amazonas, Brasil

Isadora Karolina Freitas de Sousa^{1,2}; Rebeca Larissa Castro Silva¹; Rejane dos Santos Sousa³; Cláudia Elisa Martins Vieira⁴; Sergio de Melo²; Geórgia Portella Quevedo⁵; Ana Eucares Von Laer⁵; Luciane Teresinha Lovato⁵; Alexandre Alberto Tonin^{1,4,5} 

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas, Manaus – AM, Brazil

² Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-graduação em Sociedade, Natureza e Desenvolvimento, Santarém – PA, Brazil

³ Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Instituto de Estudos do Trópico Úmido, Xinguara, PA – Brazil

⁴ Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Manaus, AM – Brazil

⁵ Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Leptospirose, Santa Maria, RS – Brazil

ABSTRACT

The occurrence of leptospirosis is significantly higher in the tropical climate than in temperate regions, especially in periods with high rainfall levels. In horses, leptospirosis can range from subclinical to asymptomatic but maintains an important role in the transmission of leptospirosis by eliminating the agent in the environment. Regarding horses, the Amazonas herd increased by 30% between 2004 and 2013. Thus, the study aimed to determine the serological prevalence of leptospirosis in horses in Manaus and metropolitan regions, in the State of Amazonas, Brazil as well as to assess the main serogroups involved in the infections of these animals. For this purpose, from August 2018 to July 2019, serum from 198 horses was evaluated through the microscopic agglutination test with a panel of 10 serogroups. As a result, 92 horses (44.46%) were found to be positive for one or more *Leptospira* serovars, with the highest prevalence of serogroups Icterohaemorrhagiae and Pyrogenes. Therefore, with the increase in the equine herd in the region and, consequently, greater interaction between breeders and animals, the identification of reagents to at least one serovar of *Leptospira* spp. signals the possible existence of reservoirs of pathogenic strains for other animals and man.

Keywords: Amazonas. Metropolitan region. Epidemiology. Equine. *Leptospira*.

RESUMO

A ocorrência de leptospirose é significativamente maior no clima tropical do que nas regiões temperadas, especialmente em períodos com altos níveis de chuva. Em cavalos, a leptospirose pode variar de subclínica a assintomática, mas estes animais podem desempenhar um papel importante na transmissão da leptospirose por meio da eliminação do agente no ambiente. Em relação aos cavalos, entre os anos de 2004 e 2013, o rebanho Amazônico aumentou 30%. Assim, o objetivo do estudo foi determinar a prevalência sorológica de leptospirose em cavalos em Manaus e região metropolitana, estado do Amazonas, Brasil, bem como, determinar os principais sorogrupos envolvidos nas infecções desses animais. Para este propósito, entre agosto de 2018 e julho de 2019, foram colhidos soros de 198 cavalos para serem avaliados sorologicamente com o teste de microaglutinação microscópica, utilizando-se um painel de dez sorogrupos. Como resultado, observou-se que 92 cavalos (44,46%) foram positivos para um ou mais sorovares de *Leptospira*, com maior prevalência dos sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. Portanto, com o aumento do rebanho equino na região e, conseqüentemente, maior interação entre criadores e animais, a identificação de reagentes para pelo menos um sorovar de *Leptospira* spp. alerta para a possível existência de reservatórios de cepas patogênicas para outros animais e seres humanos.

Palavras-chave: Amazonas. Região metropolitana. Epidemiologia. Equino. *Leptospira*.

Correspondence to:

Alexandre Alberto Tonin
 Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de
 Leptospirose
 Avenida Roraima, 1000, Camobi, Prédio 20, sala 4235
 CEP: 97110-105, Santa Maria – RS, Brazil
 e-mail: alexandre.tonin@ifam.edu.br

Received: July 20, 2020

Approved: September 22, 2020

How to cite: Sousa IKF, Silva RLC, Sousa RS, Vieira CEM, Melo S, Quevedo GP, Von Laer AE, Lovato LT, Tonin AA. Frequency of leptospirosis in horses in Manaus and metropolitan region in Amazonas State, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2020;57(4):e172607. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2020.172607>

Introduction

Between the years of 2004 and 2013, the herd of horses in the State of Amazonas increased by 30%, resulting in a herd of 15,479 equines at the end of the evaluated decade. In the same period, growth occurred in all states in the North region of Brazil, with rates between 0.57% in Pará and 98% in Acre. However, this rate differs from traditional states in equine breeding, such as Minas Gerais, Bahia, and São Paulo, which, in the same period, showed a decrease in the effective number of animals in their herds (Brasil, 2016).

The occurrence of leptospirosis is significantly higher in the tropical climate than in temperate regions (such as the Amazonas), mainly due to the higher survival of leptospires in a warm and humid environment, with elevated levels of rainfall and neutral or slightly alkaline soil. These characteristics can result in epidemic outbreaks due to increased exposure to water contaminated with urine or tissues from infected animals (Levett, 2001).

In horses, leptospirosis can be subclinical or asymptomatic, and fever, anorexia, jaundice, uveitis, abortions, or premature births can also be observed (Hong et al., 1993; Hunter & Herr, 1994; Timoney et al., 2011; Yan et al., 2010). Besides, horses have an important role in the transmission of leptospirosis by eliminating the agent in the environment. Even with a high concentration of antibodies in the host, *Leptospira* spp. can survive and multiply in kidney tubules, being eliminated in the urine by the species for at least 30 days post-inoculation or even for 2-3 months (Hamond et al., 2013).

The presence of susceptible animal species in regions with favorable environmental conditions for leptospirosis justifies the need for studies of seroprevalence in human and animal populations (Jesus et al., 2012; Silva et al., 2016).

Besides, there was an increase in the number of horses living in urban areas of Manaus and metropolitan regions, animals that are being used for leisure, work, and sports activities. As a consequence, frequent contact between people and animals, whether in handling, training, or riding therapy sessions, increases the risk of exposure and contamination of humans and other susceptible animals.

In this context, it is essential to know the occurrence of infectious diseases such as leptospirosis, which causes a negative economic impact on equine production systems, such as reproductive losses, and public health risk, due to its zoonotic character. Thus, the present investigation aimed to assess the serological frequency of leptospirosis in horses in Manaus and metropolitan region, in the State of Amazonas, Brazil, as well as to determine the main serogroups involved in the infections of these animals.

Material and Methods

Sampling

The study was carried out in 17 horse properties located in Manaus, capital of the state of Amazonas, and its metropolitan region, belonging to the North region of Brazil. Our statistical modeling for sampling was performed according to Miot (2011), which is considered a prevalence of 50%, with a confidence level of 95%. There is no predominance of the breed, sex, age, or purpose of use. All animals were studs, raised in a mixed breeding system (at the field during the day and housed at night). The option for not selecting breed, sex, or mean age was to have wider coverage and representative sampling of the location. From August 2018 to July 2019, blood samples were collected from 198 horses by external jugular venipuncture in vacutainer®. None of the animals were ever vaccinated against leptospirosis. For hematological analyses, samples were placed in individual test tubes containing diethylene diamino tetraacetic acid (EDTA), cooled to 4 °C until the analysis was carried out, within a maximum of 12 hours after collection. For serum separation, blood samples (in test tubes without anticoagulant) were centrifuged at 1,000 g x 15 min, followed by aliquotation into individual microtubes and frozen at 20 °C for subsequent serology.

Serologic assay

The serological diagnosis of leptospirosis was carried out in the Leptospirosis Diagnostic Laboratory at the Federal University of Santa Maria (UFSM). Serum samples were tested for anti-*Leptospira* antibodies by microscopic agglutination test (MAT) (Cole et al., 1973;

Galton et al., 1965), using live antigens grown in liquid medium Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) free from contamination or self-agglutination, as recommended by the World Health Organization (2012). A complete panel of ten serogroups (including 13 reference serovars) was used as test antigens, namely: serogroup Sejroe (serovars Hardjo [subtype Hardjo-prajitno] and Wolffi), serogroup Grippotyphosa (serovar Grippotyphosa), serogroup Canicola (serovar Canicola), serogroup Icterohaemorrhagiae (serovars Icterohaemorrhagiae and Copenhageni), serogroup Australis (serovars Australis and Bratislava), serogroup Pomona (serovar Pomona) and serogroup Autumnalis (serovar Butembo), serogroup Pyrogenes (serovar Pyrogenes), serogroup Ballum (serovar Ballum) and serogroup Tarassovi (serovar Tarassovi). Briefly, live suspensions of leptospires representing the 13 serovars were added to serum samples diluted in series in a microtiter plate (96 wells), incubated at room temperature for 2-4 h. The presence or absence of agglutination was examined using dark field microscopy at 100 × magnification. Titers were obtained in a sequence of double dilutions and expressed as the reciprocal of the highest serum dilution that agglutinated at least 50% of leptospires (Cole et al., 1973; Galton et al., 1965).

Hematological analysis

To determine fibrinogen, the thermal precipitation technique described by Schalm (1970) was used, while hematocrit was assessed through the microcentrifugation technique. Based on hematocrit values and fibrinogen concentration, animals were classified as anemic (hematocrit <32%), borderline (hematocrit 32-33%) and non-anemic (hematocrit > 32%), with hyperfibrinogenemia (fibrinogen > 400 g/dL) and normal fibrinogen (fibrinogen <400 g/dL).

Data analysis

The data were analyzed using Excel® 2016 software for the preparation of spreadsheets, being presented with their absolute and relative distribution.

Results

The obtained results demonstrated that from 198 evaluated horses, 92 were positive for one or more *Leptospira* serovars (46.46%). There is a high frequency of animals reacting to serogroups Icterohaemorrhagiae and Pyrogenes, as shown in Table 1. Table 2 brings the results of hematocrit and fibrinogen, where 19 (20.65%) seropositive animals presented anemia, while 14 (15.22%) had borderline hematocrit. Still, 15 (16.30%) of the seropositive animals had hyperfibrinogenesis.

Table 1 – Antibody titers for serogroup and serovars of *Leptospira* spp. in horses in the State of Amazonas, Brazil. Blood collection was performed from August 2018 to July 2019

Serogroup	Serovar	Titration				N. of Animals
		100	200	400	800	
ICT	ICT	35	10	1	-	46
	COP	9	9	1	-	19
PYR	PYR	20	18	5	1	44
BAL	BAL	10	7	2	-	19
TAR	TAR	5	8	3	-	16
CAN	CAN	10	3	1	-	14
AUS	AUS	3	2	-	-	5
	BRA	1	-	-	-	1
SEJ	HAR	-	2	1	-	3
	WOL	1	-	1	-	2
GRI	GRI	1	1	-	-	2
Total		95	60	15	1	-

Obs. AUS: Australis; BAL: Ballum; BRA: Bratislava; CAN: Canicola; COP: Copenhageni; GRI: Grippotyphosa; HAR: Hardjo-prajitno; ICT: Icterohaemorrhagiae; PYR: Pyrogenes; SEJ: Sejroe; TAR: Tarassovi; WOL: Wolffi.

Table 2 – Hematocrit values and fibrinogen assessment of horses with positive serum agglutination and negative values for *Leptospira* spp. in Manaus - AM

Animals	Serum agglutination*	Serum agglutination	Total
	Positive	Negative	
Anemic (<32%)	19	25	44
Borderline (32-33%)	14	18	32
Non-Anemic (≥34%)	59	63	122
Hyperfibrinogenemia	15	17	32
Normal fibrinogen	77	89	166

*Cut-off titer: 100.

Discussion

Research conducted in the last decade in Brazil has shown great variation in the seroprevalence of leptospirosis in horses. The prevalence in the different regions of Brazil varies between 45 and 74.1% (Central West), 8 and 62.5% (Northeast), 79.3 and 100% (North), 17.9 and 71.9% (Southeast), and 60 and 87.1% (South) (Ribeiro, 2015). Of the 198 animals tested, 40 showed positive anti-leptospira agglutinins for only one serovar, 16 for Icterohaemorrhagiae (40%), 15 for Pyrogenes (37.5%), two for Copenhageni (5%), two for Ballum (5%), three for Tarassovi (7.5%) and two for Canicola (5%), while the other positive animals (52) presented coagglutination that could be infection by more than a serovar or crossed reactions between serovars (Levett, 2001). In a study carried out in the state of Pará of the 37 serum samples evaluated, 100% (37/37) showed a reaction against one or more serovars of *Leptospira* spp. Only the Copenhageni serovar did not react with any of the tested samples (Morais et al., 2010).

A survey and serological analysis study carried out with horses in the Rio Grande do Sul (2003) found that in

1,169 analyzed samples, 871 (74.51%) were reactive and 298 (25.49%) did not react with the tested serovars. The most prevalent serovar was: Bratislava (19.92%), followed by Copenhageni (15.06%), (Pires et al., 2005), while in the state of Pernambuco, the analysis of 100 equine sera showed the prevalence of serovars Patoc (35.71%), Butembo (32.14%) and Sentot (14.20%) (Alves et al., 2016). These studies partially corroborate the results reached by Pires et al. (2005), since the serological predominance of serogroup Icterohaemorrhagiae (where it is included the serovar Copenhageni) was observed. However, another main serological result was linked to serogroup Pyrogenes, which is completely different when compared to the other studies mentioned above. This draws attention to the epidemiological variation of leptospirosis across Brazilian territory.

L. interrogans serotype Icterohaemorrhagiae, belonging to Icterohaemorrhagiae serogroup, have synanthropic rodents as their main maintenance host and other non-synanthropic wild animals such as Brazilian guinea pig (Monte et al., 2013) and capybaras (Langoni et al., 2016). The Icterohaemorrhagiae serovar has been described as the most prevalent in horses in several seroepidemiological studies in Brazil, such as Lilenbaum (1998) in the State of Rio de Janeiro; Fávero et al. (2002) in animals from different Brazilian regions; Langoni et al. (2004) in the States of São Paulo, Goiás, and Mato Grosso do Sul; and Hashimoto et al. (2007) in the State of Paraná, which corroborates our results. It is important to emphasize that Icterohaemorrhagiae is the most frequent serovar found in horses and one of the main serovars responsible for the majority of infections in humans observed in tropical urban areas worldwide (Faria et al., 2008). It should be noted that the increase in the occurrence of this serovar can justify the settlement of special practices for rodent control in horse farms (Megid et al., 2016).

Serovar Pyrogenes, belonging to serogroup Pyrogenes, has a low prevalence in horses from other regions of Brazil. However, in Pará State (Morais et al., 2010), as in this study, a high prevalence of Pyrogenes was observed, which may suggest the maintenance of this serovar by other domestic or wild animals living in the Amazon region. The Pyrogenes serovar was isolated for the first time in Brazil from wild mammals (*Nectomys squamipes*) in areas close to São Paulo (Santa Rosa et al., 1980) and later detected in dogs from several states (Aguilar et al., 2007; Magalhães et al., 2006; Querino et al., 2003). In the Amazon region, a serological study of dogs in the municipality of Monte Negro (RO) showed that the Pyrogenes serovar was the second most prevalent in dogs (Aguilar et al., 2007), which may suggest

the transmission of this serovar between dogs and horses in this region.

In addition to participation in the transmission chain, it is important to correlate seroreactivity with clinical signs, or changes in the animals' physiological patterns. In this sense, within the seropositive group (92 animals), 19 presented anemia, with hematocrit between 27-31%, 14 with borderline hematocrit between 32-33%, and 59 animals with normal hematocrit with values ranging from 34-52%. Although the animals' seropositivity for *Leptospira* does not indicate that the animal has an acute clinical picture of the disease, but that at some point in his life he had contact with the bacteria, in the most severe forms, anemia, hyperfibrinogenemia, hemorrhagic petechiae in the mucosa, jaundice, liver damage, hematuria, hemoglobinuria, leukocytosis with neutrophilia or lymphocytosis, azotemia, isotenuria, general depression, neurological signs, renal failure (mainly in foals) and death (Donahue, 1995; Lilenbaum, 1998; Pinheiro et al., 1985; Radostits et al., 2007). Based on this, the presence of anemia and acute-phase protein (fibrinogen) was evaluated to verify the health of the horses studied. Leptospirosis provokes clinical abnormalities that can lead to significant changes in hematological and other laboratory findings. Decreased erythrocyte count, low Hb concentration, PCV, and lymphocytes are common lab findings (Tonin et al., 2012). Leucocytosis, neutrophilia, eosinopenia, and lymphopenia, along with high serum bilirubin concentration have also been reported in equine leptospirosis (Pinna et al., 2010). Laboratory evaluation of animals affected by leptospirosis can reveal hyperfibrinogenemia. Concerning this parameter, among the animals positive for *Leptospira*, 15 had hyperfibrinogenemia, with 60% of the cases having the involvement of serovar Pyrogenes isolated or in coagglutination. Unlike our results, concerning anemia and fibrinogen levels, in a serological study in horses, Farias (2019) showed that there was no difference in the blood count, fibrinogen concentration, and biochemistry between seropositive and seronegative animals for *Leptospira*.

Conclusion

The results obtained in the study indicated a high frequency of seropositivity for *Leptospira* spp. in horses in the state of Amazonas, Brazil, indicating the existence of a high frequency of reaction to serogroups Icterohaemorrhagiae and Pyrogenes. With the increase in the equine herd in the region and, consequently, greater interaction between breeders and animals, the identification of reagents serogroups of

Leptospira spp. signals the possible existence of reservoirs of pathogenic strains for other animals and man.

Conflict of Interest

The authors declare they have no conflicts of interest.

Ethics Statement

The procedures involving animals were approved by the Ethics committee on the use of animals at the Federal Institute of Education, Science, and Technology of Amazonas, under the identification number CEUA.008.02.1417.2404/2020.

References

Aguiar DM, Cavalcante GT, Marvulo MFV, Silva JCR, Pinter A, Vasconcellos SA, Moraes ZM, Labruna MB, Camargo LMA, Gennari SM. Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007;59(1):70. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000100012>.

Alves JRA, Oliveira KDS, Costa DF, Fernandes LG, Higino SSS, Alves CJ, Santos CSAB, Azevedo SS. Caracterização epidemiológica da leptospirose em equinos do estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. *Arq Inst Biol.* 2016;83:1-5. <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657001032014>.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo. Brasília: MAPA; 2016. 54 p.

Cole JR Jr, Sulzer CR, Pursell AR. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl Microbiol.* 1973;25(6):976-80. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.25.6.976-980.1973>. PMID:4736794.

Donahue M. Equine leptospirosis. *Equine Dis Quarterl.* 1995;3(4):4-5.

Faria MT, Calderwood MS, Athanzio DA, McBride AJA, Hartskeerl RA, Pereira MM, Ko AI, Reis MG. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. *Acta Trop.* 2008;108(1):1-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.07.005>. PMID:18721789.

Farias DK. Aspectos soroepidemiológicos e laboratoriais da leptospirose em equinos [tese]. Lages: Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade do Estado de Santa Catarina; 2019.

Acknowledgements

We thank the Pro-Rector of Research, Graduate Studies, and Technological Innovation of the Federal Institute of Education, Science, and Technology of Amazonas (IFAM). We also thank the Institutional Program of Scientific Initiation Scholarships – PIBIC (PPGI/IFAM). Funding to conduct the study was provided by IFAM by Scientific Development and Technological Innovation Support Program (PADCIT) - Edict No. 001/2018/PR-PPGI/IFAM.

Favero ACM, Pinheiro SR, Vasconcellos AS, Moraes ZM, Ferreira F, Ferreira Neto JS. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Cienc Rur.* 2002;32:613-619. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000400011>

Galton MM, Sulzer CR, Santa Rosa CA, Fields MJ. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Appl Microbiol.* 1965;13(1):81-5. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.13.1.81-85.1965>. PMID:14264852.

Hamond C, Martins G, Lawson-Ferreira R, Medeiros MA, Lilenbaum W. The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. *Epidemiol Infect.* 2013;141(1):33-5. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268812000416>. PMID:22417781.

Hashimoto VY, Gonçalves DD, Silva FG, Oliveira RC, Alves LA, Reichmann P, Muller EE, Freitas JC. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Paraná, Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2007;49(5):327-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652007000500010>. PMID:18026641.

Hong CB, Donahue JM, Giles JRRC Jr, Petrites-Murphy MB, Poonacha KB, Roberts AW, Smith BJ, Tramontin RR, Tuttle PA, Swerczek TW. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 following seasons. *J Vet Diagn Invest.* 1993;5(4):560-6. <http://dx.doi.org/10.1177/104063879300500410>. PMID:8286455.

Hunter P, Herr S. Leptospirosis. In: Cortez JAW, Thomson GR, Tustin RC, editors. *Infectious diseases of Livestock*. Oxford: Oxford University; 1994. p. 997-1008.

- Jesus MS, Silva LA, Lima KMS, Fernandes OCC. Cases distribution of leptospirosis in City of Manaus, State of Amazonas, Brazil, 2000-2010. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;45(6):713-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822012000600011>. PMID:23295874.
- Langoni H, Kuribara IY, Correa APFL, Ullmann LS, Sánchez GP, Lucheis SB. Anti-leptospirosis agglutinins in Brazilian capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2016;22(1):4. <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-016-0059-6>. PMID:26819575.
- Langoni H, Silva AV, Pezerico SB, Lima VY. Anti-Leptospire agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. *J Venom Anim Toxins.* 2004;10(3):207-18. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992004000300003>.
- Levett PN. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14(2):296-326. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.14.2.296-326.2001>. PMID:11292640.
- 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.* 1998;35(2):61-3. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-95961998000200002>.
- Magalhães DE, Silva JA, Moreira EC, Wilke VML, Haddad JPA, Meneses JNC. Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2006;58(2):167-74. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352006000200004>.
- Megid M, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. Rio de Janeiro: Roca; 2016.
- Miot HA. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras.* 2011;10(4):275-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-54492011000400001>.
- Monte LG, Jorge S, Xavier MA, Leal FMA, Amaral MG, Seixas FK, Dellagostin AO, Hartleben CP. Molecular characterization of virulent *Leptospira interrogans* serogroup Icterohaemorrhagiae isolated from *Cavia aperea*. *Acta Trop.* 2013;126(2):164-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.02.009>. PMID:23435256.
- Morais CCG, Kuroda RBS, Pinho APVB, Ywasaki F, Meneses AMC, Martins AV, Amaral JM Jr. Pesquisa de anticorpos para sorovares de *Leptospira interrogans* patogênicas em equídeos criados na ilha de Algodão, Estado do Pará. *Rev Cienc Agrária.* 2010;53(2):188-94. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.2011.027>.
- Pinheiro HH, Silveira W, Oliveira VC. Pesquisas de aglutininas anti-leptospiras em soros eqüinos abatidos no frigorífico Xavante – Araguari, MG. *Hora Vet.* 1985;5(27):42-4.
- Pinna M, Martins G, Freire I, Lilenbaum W. Seropositivity to *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associated to reproductive problems without significant biochemical or hematological alterations in horses. *Cienc Rural.* 2010;40(10):2214-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010005000178>.
- Pires JAS No, Hesse F, Oliveira MAM. Leptospirose eqüina: aspectos clínicos, tratamento, prevenção e levantamento sorológico. *Vet Foco.* 2005;2(2):165.
- Querino AMV, Delbem ÁCB, Oliveira RC, Silva FG, Müller EE, Freire RL, Freitas JC. Fatores de risco associados à leptospirose em cães do município de Londrina-PR. *Semina.* 2003;24(1):27-34. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2003v24n1p27>.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary medicine.* 10th ed. London: Elsevier Saunders; 2007. 2156 p.
- Ribeiro TMP. Soroepidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em equinos do município de Rorainópolis, estado de Roraima, Brasil [dissertação]. Goiânia: Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás; 2015.
- Santa Rosa CA, Sulzer CR, Yanaguita RM, Silva AS. Leptospirosis in wildlife in Brazil: Isolation of serovars Canicola, Pyrogenes and Grippotyphosa. *Int J Zoonoses.* 1980;7:40-3.
- Schalm OW. Clinical significance of plasma protein concentration. *J Am Vet Med Assoc.* 1970;157(11):1672-3. PMID:5530370.
- Silva LA, Lima KMS, Fernandes OCC, Balassiano IT, Avelar KE, Jesus MS. Seroprevalence of and risk factors for leptospirosis in the City of Manaus, State of Amazonas, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016;49(5):628-31. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0115-2016>. PMID:27812660.
- Timoney JE, Kalimthusamy N, Velineni S, Donahue JM, Artiushin SC, Fettingner M. A unique genotype of *Leptospira interrogans* serovar Pomona type Kennewicki is

associated with equine abortion. *Vet Microbiol.* 2011;150(3-4):349-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.049>. PMID:21450416.

Tonin AA, Silva ASD, Azevedo MID, França RT, Paim FC, Schaefer PC, Martins JLR, Badke MRT, Lopes STDA. Hematologic and biochemical alterations in Wistar rats experimentally infected by *Leptospira interrogans*. *Comp Clin Pathol.* 2012;21(5):833-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00580-011-1186-7>.

World Health Organization – WHO. Leptospirosis [Internet]. Geneva: WHO; 2012 [cited 2020 July 20]. Available

from: http://www.wpro.who.int/mediacentre/factsheets/fs_13082012_leptospirosis/en/

Yan W, Faisal SM, Divers T, McDonough SP, Akey B, Chang YE. Experimental *Leptospira interrogans* sorovar Kennewicki infection of horses. *J Vet Intern Med.* 2010;24(4):912-7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.00507.x>. PMID:20649749.

Financial Support: Funding to conduct the study was provided by IFAM by Scientific Development and Technological Innovation Support Program (PADCIT) - Edict No. 001/2018/PR-PPGI/IFAM.

5. CONCLUSÃO

Os resultados do capítulo I desta tese demonstram que houve uma notificação regular e constante de leptospirose em humanos no período de 2010-2019 no estado do Amazonas. As maiores casuísticas relacionadas à infecção por *Leptospira* spp. foram residentes na capital, ou seja, um padrão urbano. Pode-se também se observar o fundamental papel das influências climáticas (chuva, calor e umidade) e sanitárias sobre o aumento dos casos, mas baseado na especificidade da doença e dados de países vizinhos existe na uma possível subnotificação da doença no estado do Amazonas. O processo de urbanização sem o devido planejamento (muito influenciado pelos processos migratórios) levou a um aumento das ocupações populacionais em torno dos rios e igarapés, em aglomerados subnormais, com infraestrutura e saneamento precários, e, como consequência, a instalação de um quadro de vulnerabilidade, reflexo da dimensão socioeconômica da leptospirose. Desta forma, pode-se constatar que a infecção ocorreu com maior frequência no ambiente domiciliar no estado do Amazonas, sendo, portanto, o ambiente domiciliar um determinante importante da transmissão, e uma consequência, provavelmente, das precárias condições ambientais existentes no domicílio e peridomicílio.

No capítulo II, tratando de leptospirose em equinos, destacou-se que ela é uma enfermidade subdiagnosticada, já que a doença pode ocorrer de forma inaparente, mas com queda no desempenho atlético dos animais de esporte, além de significativas perdas econômicas como abortos tardios ou natimortos, cegueira após uveítes recorrentes. Associando-se os resultados apresentados no capítulo III, revelou-se uma alta frequência de soropositividade para *Leptospira* spp. em cavalos no estado do Amazonas, Brasil, indicando a existência de uma alta frequência de reação aos sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. Com o aumento do rebanho equino na região e, conseqüentemente, maior interação entre criadores e animais, a identificação de sorogrupos reagentes de *Leptospira* spp. sinaliza a possível existência de reservatórios e de cepas patogênicas para outros animais e para o homem.

Dessa forma, em uma conclusão ampla, constatou-se a necessidade de melhorias significativas das condições de saneamento básico para populações vulneráveis, implantação de medidas de controle (especialmente de roedores) e a importância de medidas sócio profiláticas, como algumas apresentadas nesta tese, em especial a identificação dos fatores de risco para as populações, mas também o diagnóstico diferencial mais preciso para a leptospirose em humanos, a realização de sorologias periódicas para a identificação dos sorvares envolvidos nas infecções nos equinos, bem como o tratamento dos animais

infectados, mesmo que assintomáticos. Para os equinos, ainda, indica-se a vacinação, de acordo com os sorovares identificados nas propriedades.

Ademais, percebe-se no estado do Amazonas a mesma carência de informações epidemiológicas mais precisas tanto para dados humanos como para animais, o que compromete a compreensão epidemiológica da enfermidade no estado. Fazem-se, portanto, necessários maiores e contínuos esforços no sentido de melhorar a notificação, coleta e disponibilização de dados para que se possam ampliar as estratégias de prevenção e controle em nível estadual.

REFERÊNCIAS

- AHMED, N.; DEVI, S. M.; VALVERDE, M.; VIJAYACHARI, P.; MACHANGU, R. S.; ELLIS, W. A.; HARTSKEERL, R. A. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 5, p. 1-10, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavallo**. Brasília-DF: MAPA, 2016. 54p.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2nd ed. Melbourne - Austrália: Medicine Science, 1999. 272p.
- FAINE, S.; STALLMAN, N. D. Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Wolbach and Binger 1914) Noguchi 1918. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 32, p. 461-463, 1982.
- HAAKE, D. A.; LEVETT, P. N. Leptospirosis in humans. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 387, p. 65-97, 2015.
- HAMOND, C.; MARTINS, G.; LILENBAUM, W. Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, p. 1927– 1930, 2012
- LEVETT, P. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Review**, v. 14, p. 296–326, 2001.
- PINNA, M.; MARTINS, G.; FREIRE, I.; LILENBAUM, W. Seropositivity to *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associated to reproductive problems without significant biochemical or hematological alterations in horses. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2214-2217, 2010.
- SEGURADO, A. C.; CASSENOTE, A. J.; LUNA, E. A. Saúde nas metrópoles – Doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, v. 30, p. 29-49, 2016.