



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI - *Leptospira* spp. EM EQUINOS
UTILIZADOS PARA TRACÇÃO NO DISTRITO FEDERAL**

FREDERICO TÔRRES BRAZ

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

BRASÍLIA/DF



FEVEREIRO 2019

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI - *Leptospira* spp. EM EQUINOS
UTILIZADOS PARA TRACÇÃO NO DISTRITO FEDERAL**

FREDERICO TÔRRES BRAZ

ORIENTADOR: PROF. DR. ANTÔNIO RAPHAEL TEIXEIRA NETO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 157/2019

BRASÍLIA/DF
FEVEREIRO 2019
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

BRAZ, F. T. Prevalência de anticorpos anti - *Leptospira* spp em equinos utilizados para tração no Distrito Federal, Brasil. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2019, 37 páginas. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando a reprodução dessa dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo o autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte dessa dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Tôrres Braz, Frederico

Prevalência de anticorpos anti - leptospira spp. em equinos utilizados para tração no Distrito Federal / Frederico Tôrres Braz

Orientação de Antônio Raphael Teixeira Neto.

Brasília, 2019, 34 p.

Dissertação (Mestrado - Mestrado em Saúde Animal) -- Universidade de Brasília / Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2019.

1. Leptospirose. 2. Equinos. 3. Saúde Pública. 4. Zoonoses. I. Teixeira Neto, A. R. II. Doutor.

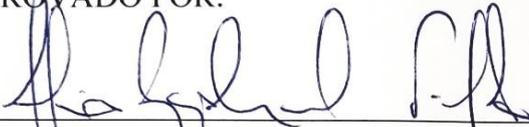
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- *Leptospira* spp. EM EQUINOS
UTILIZADOS PARA TRACÇÃO NO DISTRITO FEDERAL**

FREDERICO TÔRRES BRAZ

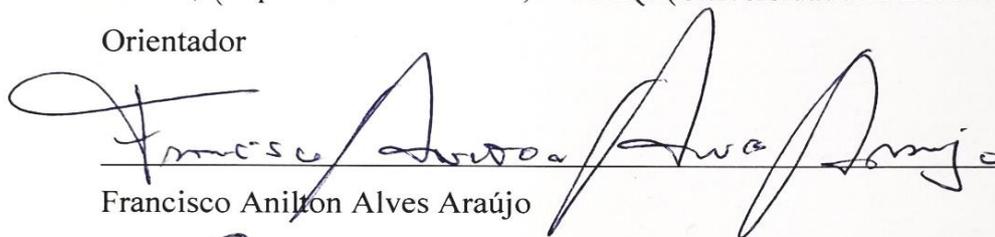
Dissertação de Mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Saúde Animal da Universidade de Brasília como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Saúde Animal. Orientador Prof. Dr. Antônio Raphael Teixeira Neto.

APROVADO POR:



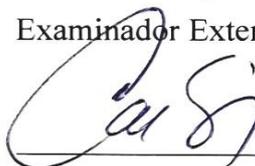
Antônio Raphael Teixeira Neto, Prof. Dr. (Universidade de Brasília)

Orientador



Francisco Anilton Alves Araújo

Examinador Externo



Jorge Caetano Júnior

Examinador Externo

BRASÍLIA/DF, 26 de fevereiro de 2019.

“Ninguém é suficientemente perfeito, que não possa aprender com o outro e ninguém é totalmente estruído de valores que não possa ensinar algo ao seu irmão”

(São Francisco de Assis)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de estudar e trabalhar com os animais e em prol da saúde pública.

À minha esposa Bruna pelo companheirismo em todos os momentos e o incentivo para sempre me tornar um profissional melhor.

À minha família pelo apoio incondicional de sempre.

Ao meu orientador Antônio Raphael Teixeira Neto por todo o apoio e incentivo desde os meus tempos de estagiário e por ter acreditado em mim em mais esta etapa.

Aos colegas da SEAGRI, em especial à Daniela Dianese e Eduardo por todo o apoio desde o início dos trabalhos.

Aos colegas da DIVAL pelo incentivo a continuar estudando e por todo o apoio em todas as fases do projeto.

À professora Valéria de Sá Jaime e à técnica de laboratório Lurdes pela acolhida na UFG, pelos ensinamentos e pela ajuda no processamento das amostras.

À médica veterinária Ana Lourdes Arrais de Alencar Mota e ao professor Vitor Salvador Picão Gonçalves pelo auxílio em estatística e epidemiologia.

Aos estagiários que ajudaram nos trabalhos de campo e nos laboratórios.

A todos os amigos que colaboraram para realização desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Distribuição dos locais de coleta de amostras no Distrito Federal em escalas de cinza.....20
- FIGURA 2.** Teste de microaglutinação. Na figura A, tem-se o soro de um animal reagente. Já na figura B, tem-se o soro de um animal não reagente.....22
- FIGURA 3.** Representação gráfica da proporção de equinos de tração no Distrito Federal reagentes e não reagentes ao teste de microaglutinação para leptospira spp.....23
- FIGURA 4.** Representação gráfica da prevalência de anticorpos anti-leptospira por idade em equinos de tração no Distrito Federal.....25

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Número de animais coletados por localidade.....21

TABELA 2. Distribuição da frequência de resultados reagentes dos exames de soroaglutinação microscópica para diferentes sorovares de *Leptospira spp.* em amostras de soro de equinos de tração do Distrito Federal.....24

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

μL – microlitro

DF – Distrito Federal

DIVAL - Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde

ETDA – ácido etileno-diamino-tetracético

GDF - Governo do Distrito Federal

GSA – Gerência de Saúde Animal

GVAZ - Gerência de Vigilância Ambiental em Zoonoses

LPI – Local Provável de Infecção

mL - mililitro

MS – Ministério da Saúde

°C – graus Celsius

rpm – rotações por minuto

SEAGRI – Secretaria de Estado de Agricultura

SES - Secretaria de Estado da Saúde

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SSTS – Solução Salina Tamponada de Sorensen

UFG – Universidade Federal de Goiás

UnB – Universidade de Brasília

VAS- Vigilância Ambiental em Saúde

VE – Vigilância Epidemiológica

RESUMO

A leptospirose é uma doença cosmopolita, de grande impacto na saúde pública e na vida animal. Os equinos utilizados para tração urbana no Distrito Federal, são submetidos a condições precárias de criação e manejo, permanecendo em currais comunitários sem infraestrutura e com ambiente favorável à permanência de roedores sinantrópicos, hospedeiros naturais de leptospiros. O presente estudo teve como objetivo descrever a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. nos equinos de tração urbana do Distrito Federal, além de descrever os sorovares mais envolvidos nas infecções. Os proprietários dos animais responderam questionário e termo de consentimento autorizando as coletas por meio de punção da veia jugular. As amostras de soro foram encaminhadas para o Laboratório de Diagnóstico de Leptospirose da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, onde foi realizado o teste de soroaglutinação microscópica (SAM/MAT). A análise estatística foi realizada com auxílio do programa STATA 12[®]. Revelou-se prevalência de 78,5% de animais infectados e o sorovar mais encontrado foi o da *L. icterohaemorrhagiae* em 56,18% dos equinos testados. Esse resultado sugere o contato dos equinos com ambientes infestados por roedores sinantrópicos, o que pôde ser confirmado pela presença de tocas, trilhas e fezes de roedores, além do depoimento dos proprietários. Outros sorovares com prevalência relevante foram: *L. patoc*, *L. cynopteri*, *L. castellanis*, *L. shermani*, *L. copenhageni*, *L. sentot* e *L. brastislava*, sugerindo contato dos equinos com ambientes onde existiam animais silvestres e outros animais domésticos contaminados.

Palavras-chave: leptospirose, equinos, saúde pública, zoonoses.

ABSTRACT

Leptospirosis is a cosmopolitan disease with a major impact on public health and animal life. The equines used for urban traction in the Federal District are submitted to the precarious conditions of breeding and management, remaining in community stables with no infrastructure and with a favorable environment to the permanence of synanthropic rodents, natural hosts of leptospira. The present study aimed to describe the prevalence of anti-*Leptospira* spp. in the urban traction equines of the Federal District, in addition to describing the serovars most involved in infections. The owners of the animals answered a questionnaire and a consent form authorizing the collections through puncture of the jugular vein. Serum samples were sent to the Veterinary and Zootechnical School of the Federal University of Goiás' Diagnosis laboratory of Leptospirosis, where the microscopic serum agglutination test (SAM / MAT) was performed. The statistical analysis was performed using the STATA 12® program. A prevalence of 78.5% of infected animals was revealed and the most common serovar was *L. icterohaemorrhagiae* in 56.18% of the equines tested. This result suggests the contact of horses with environments infested with synanthropic rodents, which could be confirmed by the presence of burrows, trails and feces of rodents, besides the testimony of the owners. Other serovars with relevant prevalence were: *L. patoc*, *L. cynopteri*, *L. castellanis*, *L. shermani*, *L. copenhageni*, *L. sentot* e *L. brastislava*, suggesting equine contact with environments where there were wild animals and other contaminated domestic animals.

Key words: leptospirosis, equines, public health, zoonoses.

1. INTRODUÇÃO

O cavalo teve fundamental importância na formação econômica, social e política do Brasil. No que tange à economia, foi utilizado para montaria nos trabalhos relacionados à pecuária, para a carga e para a tração (“motor” de veículos de carga e moendas). No aspecto social aparecia no exibicionismo, vaidade, orgulho e diferenciação social. Em registros oficiais, a chegada de cavalos no Brasil só foi registrada em 1549. Tomé de Souza (primeiro governador-geral) mandou vir alguns animais de Cabo Verde para a Bahia, na caravela Galga, dando início à sua criação ao lado do gado bovino. Quando D. João VI fugiu de Portugal (em 1808), trouxe consigo os cavalos da coudelaria do Alter Real introduzindo assim, no Rio de Janeiro, animais de melhor linhagem (BRASIL, 2006).

O uso da tração animal na agricultura proporcionou grande revolução na atividade de produção de comida. A tração animal permitiu o cultivo de extensas áreas de terra (BRASIL, 2006). De acordo com a Revisão do Estudo do Agronegócio Cavalo (2016), há no Brasil 3,9 milhões de equinos em atividade de lida, reforçando a relevância do equino na tração animal na atualidade. Por diversos motivos, destacando-se a escala de muitas propriedades e a declividade de algumas áreas, a tração animal representa, de acordo com o Censo Agropecuário de 2006, cerca de 25% da força total (animal e mecânica) utilizada nas propriedades rurais. Em mais da metade (55,11%) dos estabelecimentos rurais que utilizavam algum tipo de tração, empregavam animais (isoladamente ou acompanhada de tração mecânica).

Ainda hoje, os equinos são utilizados para tração no campo e nas cidades. No entanto, nas cidades, sua utilização tem sido cada vez menor e mais direcionada a pequenos fretes e transporte de lixo e material reciclável. No Distrito Federal quem monitora esta população animal é a Secretaria de Estado de Agricultura – SEAGRI que realiza rotineiros inquéritos para acompanhar a prevalência de enfermidades nos rebanhos. Nos registros da SEAGRI, no ano de 2018, constam 19.104 equinos no Distrito Federal utilizados para as mais diversas atividades, entre eles estão os animais de tração.

Os animais de tração normalmente se alojam em currais comunitários distribuídos por toda a região. Esses currais não possuem, em grande medida, condições adequadas para abrigar animais e mesmo assim tornaram-se moradia também para seus proprietários.

Normalmente os proprietários desses animais não detém conhecimento suficiente para cuidar de maneira adequada dos equinos, impingindo-lhes um manejo incorreto, alimentação baseada em resíduos de alimentos e carga de exercícios excessiva comprometendo sua saúde e bem-estar (ANDRADE, 2009; CASTRO, 2016). Devido às precárias condições de higiene e à grande quantidade de lixo, esses locais se tornaram totalmente propícios à permanência de roedores sinantrópicos. Esses roedores são os principais hospedeiros da leptospirose, que pode ser transmitida tanto para os equinos quanto para o ser humano, além de outras espécies animais criadas em conjunto.

A leptospirose é uma zoonose potencialmente fatal, que acomete todos os mamíferos, inclusive o homem, estando distribuída mundialmente, reservando para si grande importância no âmbito da medicina veterinária e da saúde pública (GENOVEZ, 2009; ADLER, 2015). Na saúde pública a leptospirose é relevante devido ao diagnóstico médico tardio e à elevada letalidade. No Distrito Federal, foram 464 casos em humanos entre os anos de 2000 e 2018, e 51 óbitos (11%). No entanto, acredita-se que esse número seja maior devido à grande subnotificação (BRASIL, 2018). Esta enfermidade consta na lista da Portaria Nº 204, de 17 de fevereiro de 2016, que atualizou a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças e agravos (BRASIL, 2016).

Por muito tempo não foi dada atenção aos estudos de soroprevalência de leptospirose em equinos. A situação se alterou quando se reconheceu o grande impacto econômico causado pelas infecções por leptospiras ,principalmente quando resultavam em perda de potros de maior valor e quando a uveíte recorrente acabava por abreviar a carreira de cavalos valiosos (ELLIS, 2015). Ademais, veterinários e tratadores podem se contaminar ao entrarem em contato com a urina, sangue, tecidos e órgãos de animais contaminados (BRASIL, 2018).

Considerando a importância para a saúde pública e a precária estrutura dos currais comunitários, esse trabalho teve como objetivo descrever a prevalência de anticorpos anti-*leptospira spp.* e os respectivos sorovares nos equinos de tração urbana do Distrito Federal.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Pertencentes à ordem das espiroquetas, e à família Leptospiraceae as bactérias do gênero *Leptospira*, tem uma forma de espiral com diâmetro médio de 0,1 μm e 6 a 20 μm de comprimento, amplitude helicoidal de 0,1-0,15 μm e comprimento de onda de 0,5 μm (CAMERON, E. C., 2014). Trata-se de uma bactéria helicoidal (espiroqueta) aeróbica obrigatória. Se conhecem atualmente 14 espécies patogênicas, sendo a mais importante a *L. interrogans*. A unidade taxonômica básica é o sorovar (sorotipo). Mais de 200 sorovares já foram identificados, e cada um tem o seu hospedeiro preferencial, ainda que uma espécie animal possa albergar mais de um sorovar. Qualquer sorovar pode determinar as diversas formas de apresentação clínica no homem. No Brasil, os sorovares *icterohaemorrhagiae* e *copenhageni* frequentemente estão relacionados aos casos mais graves. Dentre os fatores que favorecem a persistência dos focos de leptospirose, especial destaque deve ser dado ao elevado grau de variação antigênica, à capacidade de sobrevivência no meio ambiente (até 180 dias) e à ampla variedade de animais susceptíveis que podem hospedar o microrganismo (BRASIL, 2018).

A distribuição geográfica da leptospirose é cosmopolita. No entanto, sua ocorrência é favorecida pelas condições ambientais vigentes nas regiões de clima tropical e subtropical, onde a elevada temperatura e os períodos do ano com altos índices pluviométricos favorecem o aparecimento de surtos epidêmicos de caráter sazonal (BRASIL, 2018). O homem se infecta com a leptospira principalmente por contato direto ou indireto com a urina de roedores contaminados. De acordo com dados do Ministério da Saúde, a leptospirose apresenta alta incidência em determinadas áreas, alto custo hospitalar e perdas de dias de trabalho, além do risco de letalidade, que pode chegar a 40% nos casos mais graves. Ocorre principalmente em locais com precárias condições de higiene e saneamento básico, aliada a alta infestação de roedores infectados (BRASIL, 2018). No Distrito Federal existem ambientes propícios à infecção por leptospirose independentemente da condição sócio-econômica das diversas regiões administrativas (SANTOS, 2016). A umidade favorece a presença do agente causal, sendo os períodos de enchentes os mais propícios a disseminação e permanência da leptospira no ambiente.

Nos humanos, os principais sintomas são febre, cefaleia e mialgia, principalmente na região das panturrilhas, podendo ocorrer tosse, vômitos e diarreia. Nos casos mais graves

ocorre icterícia, hemorragias e alterações urinárias, normalmente demandando internação hospitalar. Em relação ao período de incubação, o mais comum é entre 7 a 14 dias após a exposição, podendo variar de 1 a 30 dias (BRASIL, 2018). Trata-se de um dos maiores problemas de saúde pública do Distrito Federal, onde se comparada à dengue, apresenta menor prevalência, no entanto, maior letalidade. (SANTOS, 2016).

Nos equinos, a leptospirose pode ser causada por diferentes sorovares de *Leptospira interrogans* (BEER, 1999; JONES et al., 2000). No Brasil, os sorovares mais importantes na clínica de equinos são *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *hardjo*, *canicola*, *bratislava* e *grippityphosa* que podem infectar os animais após hospedeiros como roedores, suínos, bovinos e animais silvestres, a eliminarem no ambiente (LEFEBVRE, 2003; THOMASSIAN, 2005). A leptospirose pode evoluir como doença aguda ou crônica, individual ou de grupo de animais, sendo que a maioria das infecções apresenta caráter inaparente (BEER, 1999; JONES et al., 2000; THOMASSIAN, 2005). Quando se manifestam, os sintomas são emagrecimento, queda no desempenho, uveíte recorrente ou distúrbios reprodutivos. Entre os distúrbios reprodutivos estão o aborto, (normalmente no 6º mês de gestação ou no terço final), nascimento de animais prematuros ou fracos e natimortos (LILENBAUM, 1998; LEFEBVRE, 2003; PESCADOR et al., 2004; THOMASSIAN, 2005). Diversas manifestações de alterações oculares foram relatadas. BRAGA et al., 2011 descreveram epífora, congestão ocular, blefarospasmo, fotofobia e despigmentação focal peripapilar em animais infectados pelo sorovar *icterohaemorrhagiae*, no Rio de Janeiro. Outros autores descreveram que a leptospirose pode causar hemólise intravascular, induzindo anemia, podendo levar a hemoglobinemia e hemoglobinúria (LANGSTON & HEUTER, 2003).

Pelo fato da leptospirose ser uma enfermidade na qual normalmente os sinais são leves e inaparentes, tem-se nos exames laboratoriais importantes instrumentos para a confirmação do diagnóstico (ELLIS, W. A. 2015). Entre os exames mais utilizados para os equinos, estão a microscopia de campo escuro (onde avalia-se amostra de sangue heparinizado ou urina), cultivo e isolamento da leptospira, pesquisa de anticorpos por meio da soroaglutinação microscópica e o teste imunoenzimático ELISA (ELLIS, 2015; GIRIO, 2007).

A microscopia de campo escuro é um método rápido para demonstrar leptospiras nos fluidos corporais, no entanto tem pouca sensibilidade e especificidade. É mais bem sucedida no exame da urina das espécies que podem produzir altas concentrações de leptospiras a esse nível, como roedores, mas isso o torna um exame com mais riscos para o técnico que o realiza (ELLIS, 2015). A cultura e o isolamento são difíceis devido à fragilidade do agente, não sendo utilizada quando a demanda é um resultado rápido, visto que, dependendo do sorovar envolvido o diagnóstico conclusivo pode demorar meses, ainda assim, ensejando informações valiosas para estudos epidemiológicos e orientação de medidas preventivas. Entre os meios de cultura mais utilizados estão os de Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris ou meio Fletcher (ELLIS, 2015).

O teste imunoenzimático (ELISA) apresenta a vantagem de detectar especificamente anticorpos de classe IgM ou IgG, permitindo estimar há quanto tempo ocorreu a infecção. Desta forma, pode ser útil nas infecções agudas em cães, quando se precisa de um diagnóstico rápido. Por outro lado, se mostra pouco eficiente nas infecções crônicas, como, por exemplo, no caso do sorovar *hardjo*, comum em bovinos, onde a resposta imunológica normalmente é fraca (ELLIS, 2015).

A pesquisa de anticorpos por meio da soroaglutinação microscópica (MAT) é considerada pela Organização Mundial de Saúde como o teste de referência para o diagnóstico em humanos e animais (BRASIL, 2018). Este método constata a aglutinação de leptospiras vivas, apresenta alta especificidade e sensibilidade. O requisito mínimo é que se deve utilizar cepas representativas dos sorovares conhecidos no país ou região específica (ELLIS, 2015).

O tratamento da leptospirose se baseia no uso de antibióticos e medicação de suporte (DIVERS, 2009; ELLIS, 2015). Nos casos agudos, recomenda-se a terapia associando-se estreptomicina (5 mg/kg) e penicilina benzatina (10.000 UI/kg) intramuscular, por 10 a 15 dias. Nos casos crônicos ou quando se deseja um tratamento profilático para éguas a serem utilizadas na reprodução, utiliza-se com sucesso estreptomicina em dose única (25 mg/kg) (THOMASSIAN, 2005; GIRIO, 2007). A utilização de cefalosporina tem apresentado bons resultados no tratamento da uveíte recorrente equina (ELLIS, 2015).

Em relação a profilaxia, é importante identificar qual o sorovar predominante na propriedade e de que forma a transmissão está ocorrendo. No caso de infecções incidentais causadas por leptospiras mantidas por outras espécies animais como bovinos, suínos e animais silvestres deve-se identificar como os equinos estão sendo expostos a essa contaminação. Deve-se adotar um rígido programa de controle de roedores, com o acondicionamento correto das rações e todas as medidas de antirratização e desratização. Animais oriundos de outras propriedades devem realizar os testes diagnósticos e passarem por um período de quarentena antes de se juntarem aos demais.

Ainda dentro do controle da leptospirose, pode-se atuar identificando e tratando os animais portadores ou por meio da vacinação. As vacinas fornecem uma imunidade baseada na resposta humoral, reduzindo a transmissão e a manutenção da leptospirose, diminuindo a gravidade da doença e sua prevalência. No entanto, nem sempre impedem que um animal seja portador crônico quando o mesmo já tem leptospiras instaladas no seu tecido renal (PINNA et al. 2014; RIBEIRO, 2015).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo soropidemiológico de leptospirose em equídeos utilizados para tração urbana no DF foi realizado em conjunto com a Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (GVAZ), Secretaria de Estado da Agricultura (GSA) e com o Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal de Goiás. Para a realização da pesquisa foram respeitados os princípios da bioética, sendo o projeto aprovado sob o número: 04/2018 pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Brasília – CEUA/UNB.

Trata-se de um estudo da prevalência de animais com anticorpos anti- *Leptospiras spp.* É um estudo descritivo transversal onde se objetivou estimar percentual de equinos com anticorpos a partir do contato com ambiente contaminado por *Leptospiras sp.* Portanto, a unidade de interesse (amostral) é o equino e a prevalência (frequência relativa) de reagentes é a estimativa do parâmetro que se deseja conhecer. Considerou-se que a população (N), equídeos de tração cadastrados no DF é de 1700 animais, mas estima-se que a população total é bem maior. O cadastro de equinos de tração no DF encontra-se desatualizado por que a partir de 2016, a SEAGRI deixou de cadastrar os equinos de tração, por ocasião da

publicação da lei 5.756 que trata da proibição de trânsito de carroças nas áreas urbanas do Distrito Federal, por isso para o cálculo se utilizou um quantitativo desconhecido de animais (população infinita).

A seguinte fórmula foi aplicada com base no programa Epitools® (SEARGENT, 2018) para se determinar o tamanho da amostra para estudos de incidência e prevalência:

$$n = (Z^2 \times P(1 - P))/d^2$$

onde “z” é o nível de confiança que se considera encontrar os valores representativos para a população referência. Nesse levantamento o valor utilizado é de 95% (valor da constante = 1,96, de acordo com a tabela Z), “p” representa a prevalência do fenômeno estudado e como sabe-se que a leptospirose é uma doença frequentemente encontrada nos rebanhos brasileiros, então, foi considerado o valor de 40, “d” representa a precisão ou erro de amostragem aceita, considerada para esse estudo como 5%. Foi utilizado o tamanho de população infinita, visto que o cadastro da SEAGRI se encontrava desatualizado.

Aplicados os valores à fórmula o resultado para o tamanho amostral alcançado foi de 369 animais considerando a população infinita. Prevendo-se uma perda de material, durante o processamento, foram coletadas amostras de 372 animais.

Como, nesse estudo, não houve a intenção de selecionar as unidades amostrais a partir de critérios clínicos, o critério de inclusão foi todo o equino de tração animal acompanhado pela Secretaria de Agricultura do Distrito Federal

Foram visitados diversos currais comunitários distribuídos por todo o Distrito Federal, totalizando vinte pontos de coleta, onde quando possível era realizado contato prévio para que os carroceiros aguardassem a equipe para as coletas antes de saírem para as suas atividades. Várias coletas ocorreram também nas vias do DF. Registrou-se também informações como: gênero, pelagem, idade e localização dos animais.

As amostras de sangue foram coletadas por punção da veia jugular por meio de agulhas esterilizadas e pelo sistema vacutainer para tubos de polipropileno sem anticoagulante (Vacurette®). Nos casos onde foi necessária contenção física utilizou-se o

cachimbo. Antes e imediatamente após o procedimento, algodão com álcool 70° era friccionado na região da veia jugular como forma de antisepsia.

Após a coleta, os tubos foram mantidos em repouso por cerca de uma hora para decantação e separação da fração soro/células sanguíneas. Em seguida as amostras eram centrifugadas a 4000 rpm no laboratório da GVAZ e alíquotas de 2 ml de soro acondicionadas em microtubos (*ependorf*) e armazenadas em freezer a -20°C .

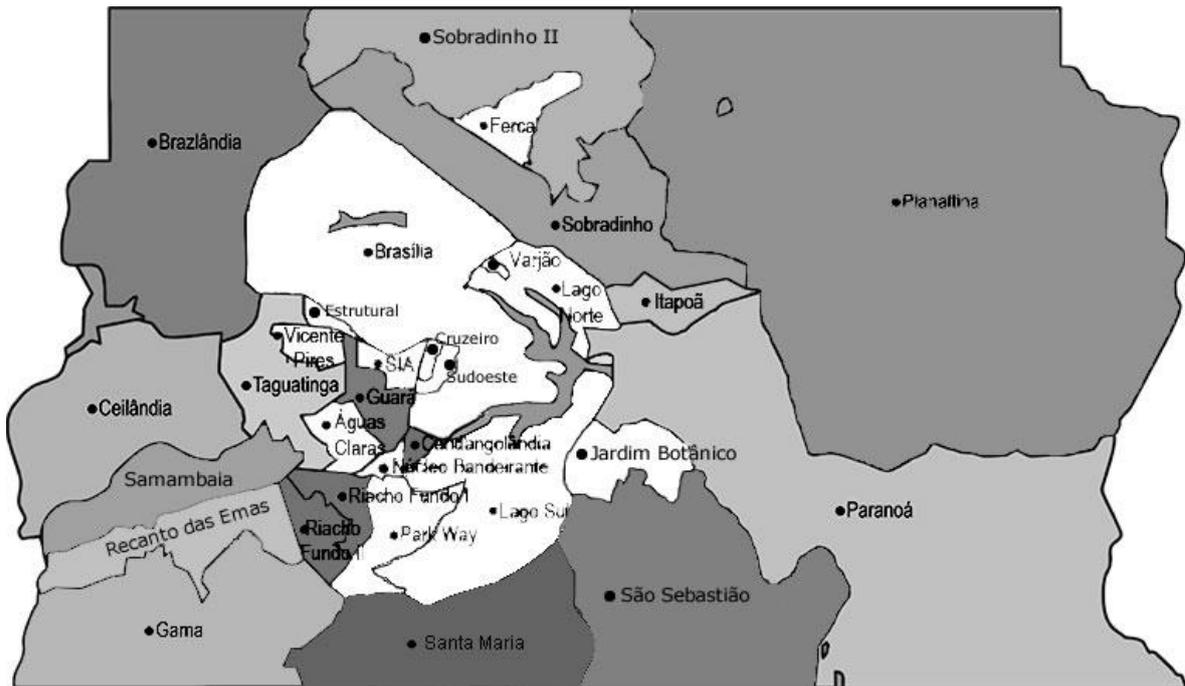


FIGURA 1. Distribuição dos locais de coleta de amostras no Distrito Federal em escalas de cinza.

TABELA 1. Número de animais coletados por localidade.

Localidade	Número de animais coletados	Percentual
26 de setembro	14	3,76 %
Brazlândia	16	4,30 %
Candangolândia	17	4,57 %
Ceilândia	65	17,47 %
Estrutural	5	1,34 %
Gama	16	4,30 %
Guará	15	4,03 %
Itapoã	14	3,76 %
M-Norte	15	4,03 %
Paranoá	23	6,18 %
Planaltina	35	9,41 %
Recanto das Emas	13	3,49 %
Riacho Fundo	2	0,54 %
Riacho Fundo II	9	2,42 %
SAAN	19	5,11 %
Samambaia	25	6,72 %
Santa Maria	35	9,41 %
Sobradinho	22	5,91 %
São Sebastião	2	0,54 %
Taguatinga	10	2,69%
Total	372	100 %

As amostras de soro foram encaminhadas para o Laboratório de Diagnóstico de Leptospirose da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG), acondicionadas em caixa térmica com gelo, para diagnóstico por soroglutinação microscópica (SAM/MAT) e identificação da presença ou ausência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. Foi adotada a metodologia descrita no Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (OIE, 2018).

Depois de descongeladas em temperatura ambiente, foram adicionadas às amostras de soro, culturas de sorovares de *Leptospira* spp., mantidas nos meios: Ellinghausen, McCullough, Johnson e Harris (EMJH) e o meio Fletcher semi-sólido. A adição dos sorovares ao soro, permitiu a observação da aglutinação de *Leptospira* ssp. em anticorpos da amostra testada. Realizou-se o teste de 25 sorovares de *Leptospira* spp. (*Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Butembo*, *Castellonis*, *Canicola*, *Cynopteri*, *Hebdomalis*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Sentot*, *Javanica*, *Hardjobovis*, *Hardjo p*, *Pyrogenes*, *Wolffi*, *Shermani*, *Tarassovi*, *Andamana*, *Witbconibi*, *Panama*, *Patoc*, *gryppotyphosa*, e *GR-6*).

Realizou-se primeiramente o teste de rastreamento, que consistiu em promover a junção das amostras de soro com o antígeno e observar a aglutinação das amostras reagentes.

Foram retirados 100 μL da amostra de soro de cada animal e homogeneizados em 4,9 mL de solução salina tamponada de Sorensen (SSTS), obtendo-se desta forma o soro de testagem diluído (STD). Ao mesmo tempo, era realizada a diluição do antígeno por meio da junção de uma parte de sorovar de *Leptospira spp.* mantido em meio EMJH com duas partes de solução SSTS, resultando na solução de antígeno diluído (SAD). Posteriormente, eram identificadas as amostras nas placas de ensaio sorológico (microplaca de fundo chato com 96 poços) no comprimento da placa e no diâmetro o número de identificação dos sorovares. Em seguida levava-se as microplacas à estufa a 37° C por uma hora nas quais foram inseridos 50 μL de soro STD e 50 μL de antígeno SAD. Em seguida, realizava-se a leitura em microscópio de campo escuro (Zeiss® - modelo Axioskop 40), observando-as na objetiva de 10X e ocular de 10X. Considerou-se amostras sororreativas aquelas que aglutinaram 50% ou mais de *Leptospiras* livres em relação ao controle (negativo) de cada sorovar testado.

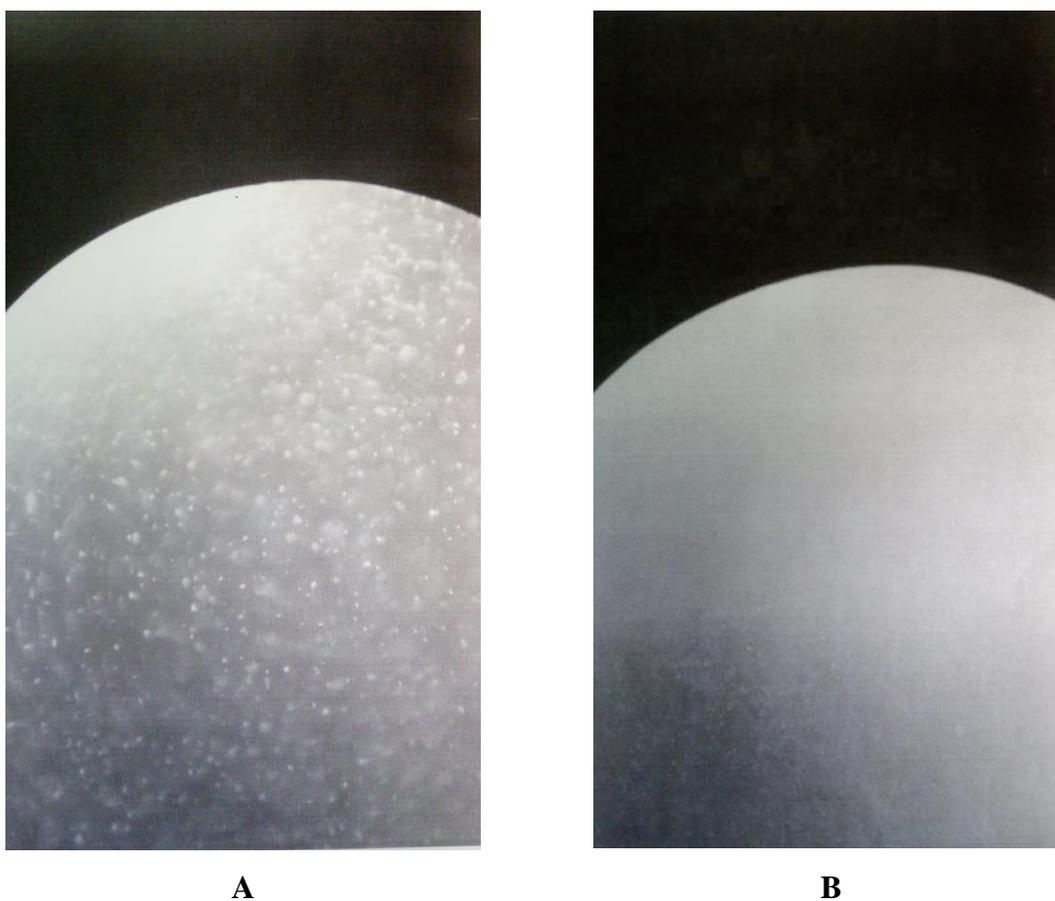


FIGURA 2. Teste de microaglutinação. Na figura A, tem-se o soro de um animal reagente. Já na figura B, tem-se o soro de um animal não reagente.

Identificadas as amostras que foram reagentes para cada sorovar no teste de triagem, era então realizado o teste de titulação. As amostras foram diluídas ao dobro (1:100, 1:200, 1:400 e 1:800) e testadas até não haver mais aglutinações ou atingir o valor máximo da titulação no teste (1:800). A última diluição titulada na qual houvesse aglutinação (50% ou mais) era considerada o título da amostra. Imediatamente após a diluição, as placas eram incubadas por uma hora. As titulações realizadas foram, portanto: 1:100 no primeiro poço, 1:200 no segundo poço, 1:400 no terceiro poço e 1:800 no quarto poço. O animal foi considerado positivo no teste de SAM/MAT quando apresentava reação maior ou igual ao título de 1:100.

A análise e organização dos dados foi realizada com auxílio do programa STATA 12® (Statacorp, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram testados 372 equinos, sendo 229 machos e 143 fêmeas sem raça definida com idades entre 2 e 30 anos (informações fornecidas pelos proprietários). Dos 372 animais testados, 292 (78,50%) foram reagentes, com títulos iguais ou superiores a 1:100, e 80 (21,50%) não reagentes no teste de soroaglutinação microscópica (SAM/MAT).

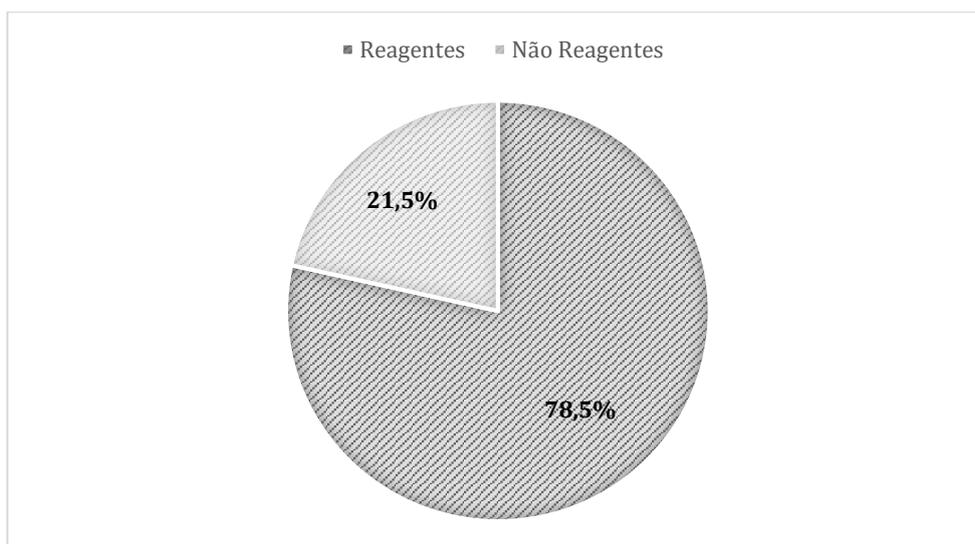


FIGURA 3. Representação gráfica da proporção de equinos de tração do Distrito Federal reagentes e não reagentes ao teste de microaglutinação para *Lepstopira* spp.

Os resultados dos testes de soroaglutinação microscópica com os sorovares avaliados e as frequências das reações positivas desses sorovares estão demonstrados na Tabela 2. Dentre os 25 sorovares testados 18 foram detectados, sendo 209 (56,18%) animais reagentes para o sorovar *icterohaemorrhagiae*, 193 (51,88%) *patoc*, 118 (31,72%) *cynopteri*, 98 (26,34%) *castellonis*, 90 (24,19%) *shermani*, 71 (19,08%) *copenhageni*, 47 (12,63%) *sentot*, 25 (6,72%) *bratislava*, 24 (6,45%) *andamana*, 12 (3,22%) *tarassovi*, 10 (2,68%) *pyrogenes*, 7 (1,88%) *grippotyphosa*, 7 (1,88%) *gr-6*, 6 (1,61%) *canicola*, 3 (0,80%) *autumnalis*, 2 (0,53%) *pomona*, 2 (0,53%) *australis*, 1 (0,26%) *wolffi*.

TABELA 2. Distribuição da frequência de resultados reagentes dos exames de soroaglutinação microscópica para diferentes sorovares de *Leptospira spp.* em amostras de soros de equinos de tração do Distrito Federal.

Sorovares	Resultados e títulos sorológicos				Total	(%)	IC* 95%
	1:100	1:200	1:400	1:800			
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	70	76	55	8	209	56,18	[51,11 – 61,24]
<i>Patoc</i>	60	84	44	5	193	51,88	[46,78 – 56,98]
<i>Cynopteri</i>	51	51	13	3	118	31,72	[26,96 – 36,47]
<i>Castellonis</i>	54	32	9	3	98	26,34	[21,84 – 30,84]
<i>Shermani</i>	5	26	44	15	90	24,19	[19,82 – 28,56]
<i>Copenhageni</i>	28	25	14	4	71	19,08	[15,07 – 23,09]
<i>Sentot</i>	25	16	4	2	47	12,63	[9,24 – 16,02]
<i>Bratislava</i>	9	7	9	-	25	6,72	[4,16 – 9,27]
<i>Andamana</i>	19	4	-	1	24	6,45	[3,94 – 8,95]
<i>Tarassovi</i>	10	2	-	-	12	3,22	[1,42 – 5,02]
<i>Pyrogenes</i>	3	2	1	4	10	2,68	[1,03 – 4,33]
<i>Grippotyphosa</i>	3	-	4	-	7	1,88	[0,49 – 3,26]
<i>Gr-6</i>	3	3	-	1	7	1,88	[0,49 – 3,26]
<i>Canicola</i>	5	-	1	-	6	1,61	[0,32 – 2,89]
<i>Autumnalis</i>	3	-	-	-	3	0,80	[0 – 1,71]
<i>Pomona</i>	2	-	-	-	2	0,53	[0 – 1,28]
<i>Australis</i>	1	1	-	-	2	0,53	[0 – 1,28]
<i>Wolffi</i>	-	1	-	-	1	0,26	[0 – 0,79]
<i>Butembo</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hebdomalis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Javanica</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hardjobovis</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hardjo p</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Witbconibi</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Panama</i>	-	-	-	-	-	-	-
Total	351	330	198	46	925		

*Intervalo de confiança.

Ocorreram 228 coaglutinações, o que indica que os animais foram infectados por mais de um sorovar, tendo sido observadas coaglutinações com até 8 sorovares.

Provavelmente os animais com idade mais avançada estiveram mais tempo em contato com os ambientes contaminados com *leptospiras spp.* e por causa disso apresentaram maior taxa de reações positivas no exame de microaglutinação, como pode ser observado na figura 4.

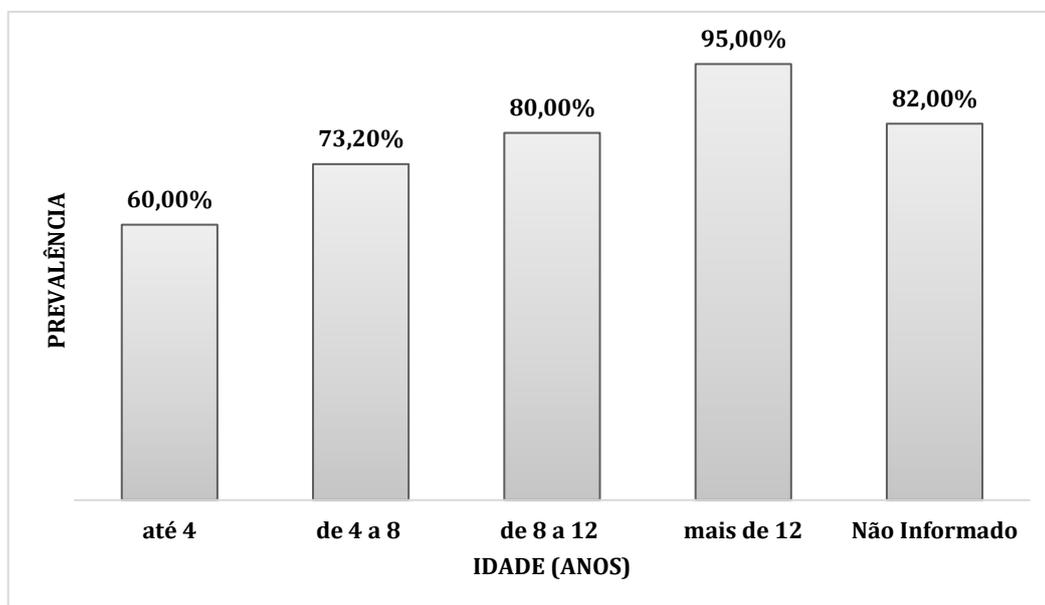


FIGURA 4. Representação gráfica da prevalência de anticorpos anti-leptospira por idade de equinos de tração do Distrito Federal.

No Brasil, CORREA et al. (1957) foram entre os primeiros a confirmar a ocorrência de infecções por leptospiras em equinos quando testaram cavalos do exército no estado de São Paulo. Seus resultados registraram uma taxa de 16,9% de soropositividade mediante a técnica de soroaglutinação microscópica, em que 35% dos animais foram reagentes para o sorovar *australis*, 30% para *icterohaemorrhagiae* e *sejröe*, 20% para *canicola*, 10% para *grippotyphosa* e 5% para *Pomona*.

Posteriormente, diversos estudos foram desenvolvidos sobre o tema em estados como São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul e Pará, os quais têm descrito como mais frequentes os sorotipos: *icterohaemorrhagie*, *pomona*, *wolffi*, *hardjo*, *canicola*, *australis*, *autumnalis*, *ballum*, *batavie*, *grippotyphosa*, *javanica*, *panamá*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *castelloni*, *hebdomadis*, *serjõe*, *bratislava* e *butembo* (CORRÊA et al., 1957; FREITAS et al., 1960; BARBOSA, 1962; SANTA ROSA et al., 1968; SILVA et al., 1972;

CORDEIRO et al., 1974; TERUYA et al, 1974; JARDIM et al., 1978; GIORGI et al., 1981; ABUCHAIM, 1991; MOLNAR et al., 2001).

Os trabalhos desenvolvidos em diferentes regiões do Brasil, demonstraram prevalências entre 4,5% (Giorgi et al., 1981) e 100% (Moraes et al., 2010), sendo que nesse último foram testados 37 animais localizados em uma pequena ilha, portanto inevitavelmente, compartilhavam os mesmos espaços entre si e outras espécies.

A prevalência encontrada no presente estudo (78,50%), se comparada a outros trabalhos na região Centro-Oeste foi superior à descrita por Linhares et al., 2005 (45%) em Goiás e semelhante à descrita por Jorge et al., 2011 (74,1%) no Mato Grosso. Em seu trabalho, BEZERRA et al., 2010, testaram asininos de tração da cidade de São Luís do Maranhão, resultando em 85% dos animais com reações positivas para um ou mais sorovares. No entanto, só foram testados animais com relatos de sintomatologia compatível com a leptospirose.

O sorovar *icterohaemorrhagiae* foi o mais prevalente (56,18%), assim como nos trabalhos de Silva et al. (2010) em São Paulo, Caselani et al. (2012) em Minas Gerais, Finger et al. (2014) no Paraná, Lasta et al. (2013) no Rio Grande do Sul, Jorge et al (2011) no Mato Grosso, Linhares et al (2005) em Goiás, Gomes et al. (2007) na Bahia e Souza (2012) em Pernambuco.

De acordo com Aguiar et al. (2008) e Araújo (2010), a identificação deste sorovar sugere a presença de roedores sinantrópicos na transmissão da infecção, visto que as leptospirosas são mantidas no ambiente pela urina contaminada desses animais que são portadores renais. No presente estudo, a maior incidência do sorovar corrobora o estudo anterior visto que nos currais que abrigavam os equinos testados ocorria grande infestação de roedores, descrita pelos proprietários dos animais e constatado pela identificação de tocas, trilhas e fezes. Esses locais possuíam precárias condições de higiene e grande acúmulo de lixo e restos de alimentos.

O sorovar *patoc* foi o segundo mais prevalente (51,88%). Este é um sorovar do grupo da *Leptospira biflexa*, considerado saprófita de vida livre. No entanto, utiliza-se esse sorovar como indicador sorológico, visto que costuma reagir precocemente e pode

apresentar reações cruzadas com sorovares patogênicos, indicando o envolvimento de outro sorogrupo na infecção (Aguiar et al., 2008).

O sorovar *cynopteri* foi o terceiro mais encontrado. Apesar de a maioria dos relatos sobre a ocorrência desse sorovar ter sido em animais silvestres como gambás e morcegos, alguns trabalhos foram realizados com animais domésticos, como o de Tealdo (2007) que o apontou como o mais encontrado em cães de rua de Buenos Aires. O mesmo trabalho relatava ainda a presença de equinos de tração nos bairros de onde foram recolhidos os cães.

A identificação do sorovar *castellonis* sugere a presença de animais silvestres no ambiente, visto que os mesmos são reservatórios e fonte de infecção para diversos animais e para o homem (SANTA ROSA et al., 1970; JONES et al., 2000).

O sorovar *shermani*, já foi identificado em estudos com diferentes espécies animais. Chadsuthi (2017), descreveu que foi o sorovar mais encontrado nos humanos, búfalos, bovinos e suínos na Tailândia em análises realizadas entre 2010 e 2015. Agudelo (2009) identificou roedores sinantrópicos infectados com esse sorovar, reafirmando a importância desses animais na transmissão da leptospirose.

O sexto sorovar mais encontrado foi o *copenhageni*, que é membro do mesmo sorogrupo do sorovar *icterohaemorrhagiae*, sendo morfológica e geneticamente semelhante e também tendo como seu hospedeiro natural, segundo Santos (2015) a ratazana (*rattus norvegicus*). De acordo com Pescador et al. (2004), esse sorovar é um importante agente etiológico da leptospirose tanto em casos assintomáticos quanto em casos de distúrbios reprodutivos em fêmeas.

Os testes reagentes para o sorovar *sentot*, sugerem que os equinos tiveram contato com ambientes onde estão presentes animais silvestres, já que esses são considerados os responsáveis pela manutenção desse agente na natureza (CARVALHO et al., 2015). A primeira identificação desse sorovar em animais domésticos no Brasil foi relatada por Herrmann et al., em 2004 quando testou ovinos no Rio Grande do Sul. A partir de então tem-se incluído esse agente nas baterias de antígenos dos laboratórios.

Em oitavo lugar (6,72%), foi encontrado o sorovar *bratislava*. Este é considerado um sorovar adaptado ao hospedeiro equino (ELLIS, 2014; PINNA et al. 2014). Santos et. al,

(2012) em estudo realizado no Rio de Janeiro, detectou esse sorovar como o mais prevalente (29,2%).

Em relação aos outros sorovares considerados de importância na clínica de equinos, o *hardjo*, considerado o sorovar mais adaptado a espécie bovina (ELLIS, 2014), não foi encontrado em nenhum animal desse estudo, provavelmente pelo raro contato entre essas espécies nos currais visitados. O sorovar *grippotyphosa*, comumente associado a alterações oftálmicas em equinos (ELLIS, 2014), teve apenas 7 animais (1,88%) reagentes. O sorovar *canicola*, que tem como seu principal hospedeiro os cães (ELLIS, 2014), foi pouco relevante em número de animais reagentes, apenas seis, o que equivale a 1,61%. O sorovar *pomona*, que é considerado o mais adaptado à espécie suína (LEFEBVRE, 2003), também foi pouco representativo, apenas 2 animais foram reagentes. O contato entre essas espécies nos currais também era pequeno, apesar de terem sido observados alguns exemplares.

Pôde-se observar com isso que provavelmente nesses locais estão presentes diversos sorovares de leptospira spp. o que coloca em risco os animais e os humanos.

Diante do exposto, tornam-se ainda mais importantes as ações de vigilância e atenção às notificações de casos suspeitos de leptospirose em humanos e animais nas regiões testadas. No tocante à prevenção, devem ser realizadas ações de educação em saúde, limpeza e recolhimento de lixo periódicas, acondicionamento correto dos alimentos, remoção de entulho e material em desuso para que não sirvam de abrigo para roedores, além das demais técnicas de antirratização e desratização. Recomenda-se ainda uma melhora no manejo dos equinos, além da vacinação periódica desses animais contra leptospirose.

CONCLUSÃO

Por meio desse trabalho, pôde-se concluir que o ambiente onde estão alojados os equinos de tração urbana do Distrito Federal e as condições de manejo as quais eles são submetidos, contribuem para a alta prevalência de infecção por *Leptospira* spp., em especial pelo sorovar *icterohaemorrhagiae*, representando elevado risco aos animais e à saúde pública na região.

Sugere-se o estudo da prevalência da leptospirose nos equinos utilizados para outras atividades de trabalho, esporte e reprodução no Distrito Federal bem como de outras espécies animais e de pessoas com sintomatologia compatível com leptospirose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUCHAIM, D.M. Presença de aglutininas antileptospira em soro de equinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 19, n. 1, p.9-14,1991.
- AGUDELO-FLÓREZ P, LONDOÑO AF, QUIROZ VH, ÁNGEL JC, MORENO N, LOAIZA ET, MUÑOZ LF, RODAS JD. Prevalence of *Leptospira* spp. in urban rodents from a groceries trade center of Medellín, Colombia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 81(5):906–910, 2009.
- AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; LARA, M.C.C.S.H.; et al. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Braz. J. Vet. Res. An. Sci.**, v. 45, n. 4, p. 269-276, 2008.
- ANDRADE, R. L. F. S.; SOBRAL, J. C.; SILVA, K. M. H. Avaliação Clínica, hematológica e parasitária em equinos de tração na cidade de Aracaju, Sergipe. **Acta Veterinaria Brasilica**. v.3, n-3, p. 138-142, 2009.
- ARAÚJO BM. Soroepidemiologia da infecção por *Leptospira* spp. em bovinos, equídeos, caninos e trabalhadores rurais em assentamento no município de Aragominas, Tocantins, Brasil [Tese]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2010.
- BARBOSA, N. Aglutininas e lisinas anti-leptospira em soros de bovinos, equinos e suínos em Minas Gerais. **Arquivos da Escola de Veterinária**, v. 14, p. 1-26, 1962.
- BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1999. 394p.
- BEZERRA, D. C. et al. Pesquisa de aglutininas antileptospira em soros sanguíneos de asininos (*Equus Asinus*) e de condutores de veículos de tração animal na cidade de São Luís, MA, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 4, p. 931-937, 2010.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/informacoes-tecnicas>>. Acesso em 29/01/2019.
- BRASIL. Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo. Ministério da Agricultura, 2016.
- CAMERON, E. C., **Leptospiral structure, physiology, and metabolism** In: ADLER. B. ed. Current Topics in Microbiology and Immunology, editora SPRINGER, p. 21-38, 2014.
- CASELANI K, OLIVEIRA PR, FERRAUDO AS, LIMA-RIBEIRO AMC, GIRIO RJS. Estudo soroepidemiológico de leptospirose em equinos utilizados para tração urbana. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 71 (3): 582-587, 2012.
- CARVALHO OS, GONZAGA LNR, ALBUQUERQUE AS, BEZERRA DC, CHAVES NP. Occurrence of *Brucella abortus*, *Leptospira interrogans* and bovine herpesvirus type 1 in

buffalo (*Bubalus bubalis*) herd under extensive breeding system. **African Journal of Microbiology Research**. 9 (9): 598-603, 2015.

CASTRO et al. Incidência de síndrome cólica ocasionadas por corpos estranhos em cavalos carroceiros de Curitiba. **Archives of Veterinary Science**, v.21, n.3, p.77-81, 2016.

CHADSUTHI S, BICOUT DJ, WIRATSUDAKUL A, SUWANCHAROEN D, PETKANCHANAPONG W, MODCHANG C, et al. (2017) Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010-2015. **PLoS Negl Trop Dis** 11(2): e0005228, 2017.

CORDEIRO, F.; RAMOS, A.A.R.; JÚNIOR, J.A.B. Aglutininas antileptospira em soros de equinos de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Série. Veterinária, v. 9, n. 1, p. 45-48, 1974.

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

DIVERS, THOMAS, J.: CHANG, Y, **Leptospirosis**. In: Current therapy in equine medicine / [edited by] N. Edward Robinson, Kim A. Sprayberry. 6th ed., p.145-147, 2009.

Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos, CEPEA/ESALQ/USP, Piracicaba, 2006.

ELLIS, WILLIAN, A. **Animal Leptospirosis**. In: ADLER. B. ed. Current Topics in Microbiology and Immunology, editora SPRINGER, p. 99-137, 2014.

FINGER MAP, BARROS FILHO IV, LEUTENEGGER C, ESTRADA M, ULLMANN LS, LANGONI H, KIKUTI M, DORNBUSH PT, DECONTO I, BIONDO AW. Serological and molecular survey of *Leptospira* spp. among cart horses from an endemic area of human leptospirosis in Curitiba, Southern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 56 (6): 473-476, 2014.

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

GIRIO, R. J. S; LEMOS R. A. A. **Leptospirose**. In: Doenças de ruminantes e equídeos / Franklin Riet – Correa...] et al.] – Santa Maria: Palloti, p.331-342, 2007.

GENOVEZ, M.E. Leptospirose: uma doença de ocorrência além da época das chuvas. **Biológico**, São Paulo, v.71, n.1, p.1-3, 2009.

GIORGI, W.; TERUYA, J.M.; MACRUZ, R.; GENOVEZ, M.E.; SILVA, A.S.; BORGIO, F. Leptospirose em equinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **O Biológico**, São Paulo, v. 47, n.2, p. 47-53, 1981.

GOMES AHB, OLIVEIRA FCS, CAVALCANTI LA, CONCEIÇÃO IR, SANTOS GR, RAMALHO EJ, VIEGAS SARA. Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de

equinos no estado da Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*. 8 (3): 144-151, 2007.

JARDIM, E.C.; SILVA, R.L.; ALMEIDA, M.N.R.; FICHTNER, S.S.; CANDIDA, M.F. Aglutininas antileptospira em equinos no Estado de Goiás. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária da UFG**, v. 8, n. 1, p. 142-149, 1978.

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

JORGE RSP, FERREIRA F, FERREIRA-NETO JS, VASCONCELLOS SA, LIMA ES, MORAIS ZM, SOUZA GO. Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to *Leptospira* spp in the northern Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 106 (4): 441-444, 2011.

BRAGA J et. al. Ophthalmic alterations in horses with leptospirosis by serovar Icterohaemorrhagiae in Rio de Janeiro, Brazil. **Pesq. Vet. Bras**. 31(2):147-150, fevereiro 2011.

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

LANGSTON, C.E., HEUTER, K.J. Leptospirosis. A re-emerging zoonotic disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.3, p. 791-807, 2003.

LASTA CS, OLIVEIRA ST, MERINI LP, DASSO MG, PEDRALLI V, GONZÁLEZ FHD. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em soros de equinos de tração em Porto Alegre, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. 20 (1): 23-25, 2013.

LEFEBVRE, B. R. **Leptospiras**. In: *Microbiologia Veterinária / Dwigth C. Hirsh...] et al.]* – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.174-178, 2003.

LILENBAUM W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro (1993-1996). **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, 35:61-63, 1998.

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

LINHARES, G.F.C. et al. – Sorovares de *leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da microrregião de Goiânia, GO, **Ciência Animal Brasileira** v. 6, n. 4, p. 255-259, 2005.

MOLNAR, E.; DIAS, H.L.T.; MOLNAR, L. Estudo comparativo entre o teste da soroglutinação microscópica (SAM) e o imunoensaio ligado à enzima (ELISA) para o diagnóstico da leptospirose equina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 151-155, 2001.

MORAES CCG, KURODA RBS, PINHO APVB, YWASAKI F, MENESES AMC, MARTINS AV, AMARAL JUNIOR JM, DIAS HLT, VASCONCELLOS SA. Pesquisa de anticorpos para sorovares de *Leptospira interrogans* patogênicas em equídeos criados na ilha de Algodal, Estado do Pará. **Revista de Ciências Agrárias**. 53 (2): 188-194, 2010.

PESCADOR et. al. Aborto equino por *Leptospiras sp.* **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.271-274, 2004.

PINNA A, MARTINS G, HAMOND C, MEDEIROS MA, DE SOUZA GN, LILENBAUM W. Potential differences between *Leptospira* serovars, host-adapted (Bratislava) and incidental (Copenhageni), in determining reproductive disorders in embryo transfer recipient mares in Brazil. **Veterinary Record**. 174 (21): 531, 2014.

RIBEIRO, T.M.P. **Soroepidemiologia da infecção por leptospira spp. em Equinos do município de Rorainópolis, Estado de Roraima**. 2015, 84f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Goiás.

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

SANTOS CS, GUEDES JUNIOR DS, PEREIRA RCG, SANTOS CCA, CASTRO V, JESUS VLT. Inquérito sorológico da ocorrência de leptospirose em equídeos da microrregião de Itaguaí no estado do Rio de Janeiro-RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. 34 (2): 96-100, 2012.

SANTOS, I.O.C. **Caracterização Ecoepidemiológica da Leptospirose Humana no Distrito Federal**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília. Tese de Doutorado. 64 p, 2016.

SANTOS, L.A. **Leptospira interrogans sorovar Copenhageni e Icterohaemorrhagiae: relação evolutiva, diferenças genéticas e associação com desfecho clínico**. 95 f. il. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz, Salvador, 2015.

SERGEANT, ESG, 2018. Epitools epidemiological calculators. AusVet Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research Centre for Emerging Infectious Disease. Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au>.

Sergeant, ESG, 2017. Epitools epidemiological calculators. **Ausvet Pty Ltd**. Disponível em: <http://epitools.ausvet.com.au>. Acesso em 20/01/2017.

SILVA, A.S.; CASTRO, A.F.P.; GIORGI, W.; SANTA ROSA, C.A. Pesquisa de aglutininas antileptospira em soros de equinos. **Revista de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 2, n. 8, p. 196-205, 1972.

SILVA FJ, MATHIAS LA, MAGAJEVSKI FS, WERTHER K, ASSIS NA, GIRIO RJS. Anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais domésticos e silvestres presentes no campus universitário da FCAV, UNESP, Jaboticabal/SP. **Ars Veterinaria**. 26 (1): 17-25, 2010.

SOUZA NM. Pesquisa de Aglutininas Anti Leptospira spp. em Equinos na Região da Zona da Mata e Ilha de Fernando de Noronha no Estado de Pernambuco [Dissertação]. Recife: Universidade Federal Rural do Pernambuco; 2012.

StataCorp. 2011. Stata: Release 12. Statistical Software. College Station, TX: StataCorp LP.

TEALDO, M. S, ROMERO, G. N; AUTREY, C. D; SAMARTINO, L. Serología positiva a Leptospira interrogans, serovar cynopteri en caninos de la Ciudad de Buenos Aires, Argentina. **InVet** v.9 n.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2007.

THOMASSIAN, ARMEN. **Enfermidades dos cavalos**, 4ed. São Paulo: Livraria Varela, p. 478-479, 2005.