

**INCIDÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS E EM SERES
HUMANOS EM REGIÃO REPRESENTATIVA DO NOROESTE DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

LÍVIA GONÇALVES DA SILVA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
SETEMBRO – 2007**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INCIDÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS E EM SERES
HUMANOS EM REGIÃO REPRESENTATIVA DO NOROESTE DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

LÍVIA GONÇALVES DA SILVA

**Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Produção Animal.**

Orientador: Prof. Márcio Manhães Folly

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
SETEMBRO – 2007**

**INCIDÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS E EM SERES
HUMANOS EM REGIÃO REPRESENTATIVA DO NOROESTE DO
ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

LÍVIA GONÇALVES DA SILVA

**Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte
Fluminense, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Produção Animal.**

Aprovada em 05 de setembro de 2007.

Comissão Examinadora:

Prof. Milton Masahiko Kanashiro (Doutor, Biociências e Biotecnologia) - UENF

Dr^a. Kátia Eliane Santos Avelar (Doutora, Ciências) – IOC / FIOCRUZ

Prof. José Tarcísio Lima Thiébaud (Doutor, Produção Animal) - UENF

Prof. Márcio Manhães Folly (Doutor, Medicina Veterinária) - UENF
(Orientador)

"A vida é um milhão de novos começos, movidos pelo desafio sempre novo de viver e fazer todo sonho brilhar".

Autor desconhecido

Aos meus pais, Carlos Moacyr e Regina Helena, por todo amor e dedicação em todos os momentos da minha vida.

Aos meus irmãos, Gisele e Marcelo, que sempre torceram por mim e que muito mais que irmãos, sempre foram fiéis amigos.

Ao meu noivo, Guilherme, que sempre me apoiou em minhas decisões e que sempre se faz presente nas horas mais importantes da minha vida.

A todos os animais que me fazem cada vez mais ter orgulho da minha profissão.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado forças para finalizar este trabalho e por sempre estar presente para que eu pudesse superar os obstáculos encontrados nesta minha caminhada.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), pelo oferecimento deste curso.

À Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, por permitir que grande parte deste trabalho pudesse vir a ser realizado.

Ao meu orientador, Professor Márcio Manhães Folly, pela confiança, auxílio e dedicação, durante a realização deste trabalho.

Ao meu noivo, Guilherme Valente, pelas horas em que estive ao meu lado pronto para me ajudar em tudo aquilo em que eu pudesse vir a precisar.

À Coordenadora do Centro de Referência Nacional para Leptospirose / IOC/FIOCRUZ – RJ, Martha Maria Pereira, pela colaboração nesta tese e por disponibilizar o Laboratório no qual é coordenadora.

Ao produtor de leite de Itaperuna, Sr. Décio Boechat Filho, por todo o apoio e atenção dado durante o período de coleta das amostras.

Ao veterinário da Defesa Sanitária de Itaperuna, Dr. Antônio, pelo amparo durante a realização deste trabalho.

A todos os trabalhadores rurais e proprietários das propriedades relacionadas a este estudo pela colaboração.

Ao amigo Josias, técnico do laboratório de Sanidade Animal - Patologia Clínica da UENF, por sempre estar disponível sem medir esforços a cooperar com este trabalho.

Ao técnico Ernandi, pela participação neste estudo onde realizou a coleta de amostras de sangue dos seres humanos, com muita humanidade e carinho.

Ao Superintendente da Defesa Sanitária, Dr. Luís Victor Pereira e ao coordenador estadual de Defesa Sanitária, Dr. Rúsivel, por terem atendido a todas as nossas solicitações para que pudesse ser concluída esta pesquisa.

A Cláudia Maria Costa de Almeida, pela colaboração na realização do trabalho.

As técnicas do Laboratório de Sanidade Animal, Gina e Lourdes, pela perfeita manutenção do laboratório, o que tornou possível a realização deste trabalho.

Ao amigo de Mestrado Thiago, por dividir todo o entusiasmo e dificuldades durante a realização deste trabalho.

Aos amigos de graduação Suzana, Weller, Tatiana, Carlos Magno e Luis, pela amizade.

Aos demais alunos da Pós-graduação da UENF, pela atenção e cooperação.

BIOGRAFIA

LÍVIA GONÇALVES DA SILVA, filha de Carlos Moacyr Ferreira da Silva e Regina Helena Gonçalves da Silva, nasceu em 13 de fevereiro de 1981, na cidade de Campos dos Goytacazes - RJ.

Em março de 2000 iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes - RJ e finalizou em 2005.

Começou a Iniciação Científica na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) em outubro de 2002, submetendo-se ao relatório final em março de 2005.

Em março de 2005, deu início ao curso de Pós-Graduação Animal, ao nível de Mestrado, na área de Sanidade Animal, na Universidade estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), submetendo-se a defesa de tese, para conclusão do curso, em setembro de 2007.

RESUMO

Silva, Livia Gonçalves da; MSc; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; setembro/2007 Incidência de leptospirose em animais e em seres humanos em região representativa do noroeste do estado do Rio de Janeiro; Professor orientador: Márcio Manhães Folly.

Foi realizado um estudo sorológico da leptospirose em 32 seres humanos, 120 fêmeas da espécie bovina e 10 cães de propriedades leiteiras de Itaperuna/RJ, Brasil. A prevalência da leptospirose bovina na região foi de 14% ($0,14 \pm 0,06$) de acordo com o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Em 6,67% ($0,07 \pm 0,05$) do rebanho bovino testado, o sorovar Tarassovi foi o mais encontrado, seguido do sorovar Hardjo 5% ($0,05 \pm 0,04$). A porcentagem de seres humanos com leptospirose foi de 16% ($0,16 \pm 0,13$), sendo identificado os sorovares mais presentes o Icterohaemorrhagiae 6.25% ($0,06 \pm 0,09$) e Australis 6.25% ($0,06 \pm 0,09$). De acordo com o ELISA-IgM os humanos não apresentavam títulos de IgM indicativos de infecção recente. A porcentagem de cães soropositivos foi de 20% ($0,20 \pm 0,30$) para o sorovar Canicola.

Palavras-chave: diagnóstico sorológico, leptospirose, sanidade animal

ABSTRACT

Silva, Lívia Gonçalves da; MSc; Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro; setembro/2007 Incidence of leptospirosis in animals and humans in representativeness region of northwest of estado in Rio de Janeiro; Adviser: Márcio Manhães Folly.

The serology study for leptospirosis in 32 humans, 120 cow and 10 canines was realized in farms of Itaperuna/RJ, Brazil. The prevalence of bovine leptospirosis was 14% (0.14 ± 0.06) according to microscopic agglutination test. In 6.67% (0.07 ± 0.05) of the tested dairy cattle, the Tarassovi serovar was the most common, followed by the Hardjo serovar 5% (0.05 ± 0.04). The prevalence of leptospirosis in humans was 16% (0.16 ± 0.13), and the serovars identified were: Icterohaemorrhagiae 6.25% (0.06 ± 0.09) and Hardjo 6.25% (0.06 ± 0.09). According with ELISA the results not found title for reactive-IgM. The percentage of canines was 20% (0.20 ± 0.30) for Canicola serovar.

Key-words: serology diagnostic, leptospirosis, animal sondness

SUMÁRIO

	RESUMO	vii
	ABSTRACT	viii
1	INTRODUÇÃO	01
2	REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1	<i>Leptospira</i> spp.	04
2.1.1	Classificação taxonômica	04
2.1.2	Característica da <i>Leptospira</i> spp.	04
2.2	Histórico	11
2.3	Epidemiologia	12
2.4	Situação da leptospirose no Brasil	14
2.5	Patogenia	15
2.6	Leptospirose	16
2.6.1	Leptospirose em humanos	16
2.6.2	Leptospirose em caninos	17
2.6.3	Leptospirose em bovinos	18
2.7	Diagnósticos Específicos	20
2.7.1	Exame direto	20
2.7.2	Cultura	21
2.7.3	Inoculação em animais de laboratório	22
2.7.4	Reação em Cadeia de Polimerase – PCR	22
2.7.5	Testes sorológicos	23
2.7.5.1	Reação de Soroaglutinação Macroscópica – SAT	23
2.7.5.2	Reação de Soroaglutinação Microscópica – SAM	24
2.7.5.3	Ensaio Imunoenzimático - ELISA	25
2.8	Medidas profiláticas gerais	26
2.9	Tratamento	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	Região Estudada	28
3.2	Amostras	29
3.3	Material de estudo	29
3.4	Desenvolvimento do experimento	29
3.5	Obtenção de amostras	30

3.6	Testes diagnósticos	30
3.6.1	Soroaglutinação Microscópica – SAM	31
3.6.2	Ensaio Imunoenzimático ELISA-IgM – Humanos	32
3.7	Estatística	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5	CONCLUSÕES	46
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
7	ANEXOS	55

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose causada por uma bactéria do gênero *Leptospira* na qual os animais são hospedeiros primários essenciais para a persistência dos focos da infecção e os seres humanos hospedeiros acidentais.

A distribuição geográfica da leptospirose é cosmopolita, no entanto a sua ocorrência é favorecida por condições ambientais vigentes nas regiões de clima tropical e subtropical, onde a elevada temperatura e os altos índices pluviométricos, favorecem o aparecimento de surtos epidêmicos de caráter estacional. Ocorre em áreas urbanas e rurais, estando livres somente as regiões polares do planeta. O estado do Rio de Janeiro possui clima tropical atlântico e o seu relevo é formado de terras situadas em geral abaixo de 200m de altitude na Baixada Fluminense ou acima de 200 metros no Planalto ou Serra Fluminense. Assim, o estado do Rio de Janeiro possui condições que favorecem a persistência das leptospirosas viáveis no meio ambiente. A microrregião de Itaperuna é marcada por episódios de enchentes, principalmente nos períodos de maior índice pluviométrico.

A doença é causada por sorovares da *Leptospira* spp., uma espiroqueta móvel devido ao seu axóstilo (estrutura semelhante a flagelo e filamentosos). A bacteriose acomete roedores e outros mamíferos silvestres e constitui um problema veterinário de grande relevância, atingindo animais domésticos, como caninos e felinos, além de outros animais de importância econômica, como bovinos, eqüinos, suínos, caprinos e ovinos. A bactéria tem como principais reservatórios roedores silvestres e urbanos.

Em países em desenvolvimento, como o Brasil, a maioria das infecções ocorre por falta de estruturas que criam condições sanitárias adequadas como: drenagem de águas pluviais, redes de esgoto e coletas de lixo. As inundações, observadas após períodos prolongados de chuvas, são propícias à disseminação e permanência das leptospirosas no ambiente, pois desse modo não ocorre a evaporação ou absorção, pelo solo, da urina proveniente de animais infectados, servindo assim como fonte de infecção para animais e humanos que anteriormente não albergavam estes microrganismos.

A leptospira é transmitida de animal a animal e de animal ao homem. A transmissão homem a homem, porém, é rara, além da transmissão transplacentária, que é comum entre animais.

Todos os casos suspeitos de leptospirose, humana, devem ser notificados com base nos critérios clínicos e epidemiológicos e confirmados através de testes laboratoriais.

O diagnóstico da leptospirose se baseia em informações clínico-epidemiológicas, juntamente com os resultados dos exames laboratoriais. As provas laboratoriais específicas para diagnóstico da leptospirose compreendem, além da pesquisa de anticorpos específicos, a microscopia direta (como auxílio) e o cultivo do agente etiológico a partir de sangue, urina, líquido e em determinadas situações, tecidos de órgãos afetados ou até mesmo fetos abortados. A escolha do material a ser enviado ao laboratório dependerá da fase da doença e da disponibilidade de laboratório capacitado para execução dos testes.

Os danos causados pela leptospirose à saúde animal e à humana, fazem desta uma das doenças de maior importância zoonótica. São de grande importância estudos epidemiológicos sobre a leptospirose em diferentes regiões para que possam ser identificados os sorovares mais frequentes, e deste modo poder controlar a doença.

Neste estudo objetivou-se, através da realização do teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM): identificar a ocorrência da leptospirose e os sorovares predominantes em fêmeas da espécie bovina de aptidão leiteira; identificar a presença de leptospirose em caninos e trabalhadores da zona rural, que mantém contato com os bovinos; avaliar a relação dos sorovares existentes nestas diferentes espécies da microrregião de Itaperuna, estado do Rio de Janeiro; identificar através

do Ensaio Imunoenzimático (ELISA), a fase da doença em que se encontravam os humanos.

A partir dos resultados obtidos poderá ser possível melhorar, através da vigilância sanitária, a sanidade do homem e dos animais, alertar aos produtores rurais sobre a incidência da doença na região e, deste modo, obter uma maior produtividade dos animais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Leptospira* spp.

2.1.1. Classificação taxonômica

Reino Bacteria

Ordem *Síirochaetales*

Família *Leptospiraceae*

Filo *Spirochaetes*

Classe *Spirochaetes*

Gênero *Leptospira*

2.1.2. Característica da *Leptospira* spp.

Leptospiras são bactérias aeróbicas ou microaeróbicas, compreendem 17 espécies, entre estas encontram-se espécies patogênicas (Tabela 1) e saprófitas, tendo mais de 300 sorovares (> 230 patogênicos); a global distribuição de espécies e sorovares varia largamente, com diferenças na virulência entre sorovares patogênicos (PAPPAS e CASCIO, 2006).

ELLIS, 1984 após analisar a prevalência, patogênese e controle da leptospirose bovina, classificou a doença em dois grupos etiológicos: um de cepas

adaptadas ao hospedeiro e um segundo grupo de cepas incidentes, compostos por sorovares comuns em causar a doença em outros animais.

A unidade taxonômica básica é o sorotipo ou sorovar, representado por uma amostra de referência.

A *Leptospira* é um microrganismo helicoidal, apresenta uma ou ambas as extremidades encurvadas, ou em forma de gancho, dotada de grande motilidade conferida por um axóstilo, bacilos finos (0,1 x 6 a 12µm) e espiralados. Os *Spirochaetes* são delgados, móveis, flexíveis e unicelulares. O período de sobrevivência das leptospirosas patogênicas, na água, varia segundo a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição; sua multiplicação é ótima em pH compreendido entre 7,2 a 7,4 (MANUAL DE LEPTOSPIROSE, 1997).

Tabela 1. Leptospirosas patogênicas mais comuns em infecções.

Espécie	Sorovar	Amostra de Referência	Sorogrupo
<i>interrogans</i>	Australis	Ballico	1
<i>interrogans</i>	Bangkok	Bangkok-D92	1
<i>interrogans</i>	Bratislava	Jez-Bratislava	1
<i>interrogans</i>	Fugis	Fudge	1
<i>interrogans</i>	Hawain	LT 62-68	1
<i>interrogans</i>	Jalna	Jalna	1
<i>interrogans</i>	Lora	Lora	1
<i>interrogans</i>	Muenchen	Munchen C 90	1
<i>interrogans</i>	Wewak	LT 65-68	1
<i>interrogans</i>	Autumnalis	Akiyami A	2
<i>interrogans</i>	Bankinang	Bangkinang I	2
<i>interrogans</i>	Bulgarica	Mallika	2
<i>interrogans</i>	Carlos	C-3	2
<i>interrogans</i>	Mooris	Moores	2
<i>interrogans</i>	Rachmati	Rachmat	2
<i>interrogans</i>	Weerasinghe	Weerasinghe	2
<i>interrogans</i>	Bataviae	Van Tienen	4
<i>interrogans</i>	Losbanos	LT 101-69	4
<i>interrogans</i>	Paidjan	Paidjan	4
<i>interrogans</i>	21-74	21-74	4
<i>interrogans</i>	26-73	3859	4
<i>interrogans</i>	Benjamin	Benjamin	5
<i>interrogans</i>	Bindjei	Bindjei	5
<i>interrogans</i>	Broomi	Patane	5
<i>interrogans</i>	Canicola	Hond Utrecht IV	5

<i>interrogans</i>	Canicola	Ruebush	5
<i>interrogans</i>	Dukou	83194	5
<i>interrogans</i>	Jonsis	Jones	5
<i>interrogans</i>	Kuwait	136/2/2	5
<i>interrogans</i>	Portlandvere	MY 1039	5
<i>interrogans</i>	Qunjian	7957	5
<i>interrogans</i>	Schueffneri	Vleermuis 90C	5
<i>interrogans</i>	Sumneri	Sumner	5
<i>interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	8
<i>interrogans</i>	Gurungi	Gurung	8
<i>interrogans</i>	Sentot	Sentot	8
<i>interrogans</i>	Grippotyphosa	Andaman	9
<i>interrogans</i>	Liangguang	1880	9
<i>interrogans</i>	Muelleri	RM 2	9
<i>interrogans</i>	Valbuzzi	Valbuzzi	9
<i>interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	10
<i>interrogans</i>	Kremastos	Kremastos	10
<i>interrogans</i>	Birkin	Birkin	11
<i>interrogans</i>	Budapest	PV-1	11
<i>interrogans</i>	Copenhageni	M20	11
<i>interrogans</i>	Copenhageni	"virulent"	11
<i>interrogans</i>	Copenhageni	Wijnberg	11
<i>interrogans</i>	Gem	Simon	11
<i>interrogans</i>	Honghe	H2	11
<i>interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	RGA	11
<i>interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	1 (sourceA)	11
<i>interrogans</i>	Lai	Lai	11
<i>interrogans</i>	Mankarso	Mankarso	11
<i>interrogans</i>	Monymusk	LT 75-68	11
<i>interrogans</i>	Monymusk	81552	11
<i>interrogans</i>	Mwogolo	Korea	11
<i>interrogans</i>	Naam	Naam	11
<i>interrogans</i>	Nanxi	HK6	11
<i>interrogans</i>	Smithi	Smith	11
<i>interrogans</i>	82224	82224	11
<i>interrogans</i>	Lanka	R 740	13
<i>interrogans</i>	Szwajizak	Szwajizak	16
<i>interrogans</i>	Cornelli	CB	18
<i>interrogans</i>	Kennewicki	LT 1026	18
<i>interrogans</i>	Monjakov	Monjakov	18
<i>interrogans</i>	Pomona	Pomona	18
<i>interrogans</i>	Pomona	164	18
<i>interrogans</i>	Pomona	S91	18
<i>interrogans</i>	Pomona	Wickard	18
<i>interrogans</i>	Pomona	Johnson	18
<i>interrogans</i>	Abramis	Abraham	19
<i>interrogans</i>	Biggis	Biggs	19
<i>interrogans</i>	Camlo	LT 64-67	19
<i>interrogans</i>	Guaratuba	An 7705	19
<i>interrogans</i>	Manilae	LT 398	19
<i>interrogans</i>	Pyrogenes	Salinem	19

<i>interrogans</i>	Robinsoni	Robinson	19
<i>interrogans</i>	Zanoni	Zanoni	19
<i>interrogans</i>	Evansi	267-1348	20
<i>interrogans</i>	Waskurin	LT 63-68	21
<i>interrogans</i>	Geyaweera	Geyaweera	22
<i>interrogans</i>	Haemolytica	Marsh	22
<i>interrogans</i>	Hardjo	Hardjoprajitno	22
<i>interrogans</i>	Jin	A81	22
<i>interrogans</i>	Medanensis	Hond HC	22
<i>interrogans</i>	Recreo	380	22
<i>interrogans</i>	Ricardi	Richardson	22
<i>interrogans</i>	Roumanica	LM 294	22
<i>interrogans</i>	Saxkoebing	Mus 24	22
<i>interrogans</i>	Wolffi	3705	22
<i>interrogans</i>	Agc	AGC	25
<i>borgpetersenii</i>	Pina	LT 932	1
<i>borgpetersenii</i>	Srebarna	1409/69	2
<i>borgpetersenii</i>	Arborea	Arborea	3
<i>borgpetersenii</i>	Ballum	Mus 127	3
<i>borgpetersenii</i>	Ballum	S102	3
<i>borgpetersenii</i>	Castellonis	Castellon 3	3
<i>borgpetersenii</i>	Guangdong	1853	3
<i>borgpetersenii</i>	Kenya	Njenga	3
<i>borgpetersenii</i>	Soccoestomes	78-082387	3
<i>borgpetersenii</i>	Moldaviae	114-2	4
<i>borgpetersenii</i>	Anhoa	LT 90-68	6
<i>borgpetersenii</i>	Whitcombi	Whitcomb	6
<i>borgpetersenii</i>	Jules	Jules	10
<i>borgpetersenii</i>	Nona	Nona	10
<i>borgpetersenii</i>	Worsfoldi	Worsfold	10
<i>borgpetersenii</i>	Tonkini	LT 96-68	11
<i>borgpetersenii</i>	Ceylonica	Piyasena	12
<i>borgpetersenii</i>	Dehong	De 10	12
<i>borgpetersenii</i>	Harbola	Harabola 20	12
<i>borgpetersenii</i>	Javanica	Veldrat Batavia 46	12
<i>borgpetersenii</i>	Menoni	Kerala	12
<i>borgpetersenii</i>	Poi	Poi	12
<i>borgpetersenii</i>	Sorexjalna	Sorex jalna	12
<i>borgpetersenii</i>	Yaan	80-27/td>	12
<i>borgpetersenii</i>	Zhenkang	L 82	12
<i>borgpetersenii</i>	52-73	457	12
<i>borgpetersenii</i>	Mini	Sari	16
<i>borgpetersenii</i>	Hamptoni	Hampton	19
<i>borgpetersenii</i>	Kwale	Julu	19
<i>borgpetersenii</i>	Balcanica	1627 Burgas	22
<i>borgpetersenii</i>	Balcanica	New Zealand	22
<i>borgpetersenii</i>	Dikkeni	Mannuthi	22
<i>borgpetersenii</i>	Hardjo	K-125	22
<i>borgpetersenii</i>	Hardjo	T-20	22
<i>borgpetersenii</i>	Hardjo (Hardjobovis)	Sponselee	22
<i>borgpetersenii</i>	Istrica	Bratislava	22

<i>borgpetersenii</i>	Nero	Gamsulin	22
<i>borgpetersenii</i>	Nyanza	Kibos	22
<i>borgpetersenii</i>	Polonica	493 Poland	22
<i>borgpetersenii</i>	Sejroe	M 84	22
<i>borgpetersenii</i>	Gengma	M 48	24
<i>borgpetersenii</i>	Guidae	RP 29	24
<i>borgpetersenii</i>	Kanana	Kanana	24
<i>borgpetersenii</i>	Kisuba	Kisuba	24
<i>borgpetersenii</i>	Tarassovi	Perepelitsin	24
<i>borgpetersenii</i>	Tunis	P 2/65	24
<i>borgpetersenii</i>	Yunxian	L 100	24
<i>weilii</i>	Celledoni	Celledoni	6
<i>weilii</i>	Hainan (Also Known As Hainan-Whitcombi)	6712	6
<i>weilii</i>	Mengdeng	M6906	6
<i>weilii</i>	Longnan	L573	10
<i>weilii</i>	Coxi	Cox	12
<i>weilii</i>	Mengma	S 590	12
<i>weilii</i>	Menrun	A 102	12
<i>weilii</i>	Qingshui (Also Known As Manhao 2)	L105	15
<i>weilii</i>	Hekou	H 27	16
<i>weilii</i>	Menglian	S 621	19
<i>weilii</i>	Sarmin	Sarmin	21
<i>weilii</i>	Unipertama	K2-1	22
<i>weilii</i>	Langati	M 39090	24
<i>weilii</i>	Mogdeni	Compton 746	24
<i>weilii</i>	Vughia	LT 89-68	24
<i>noguchii</i>	Bajan	Toad 60	1
<i>noguchii</i>	Barbudensis	Toad 67	1
<i>noguchii</i>	Nicaragua	1011	1
<i>noguchii</i>	Peruviana	V 42	1
<i>noguchii</i>	Rushan	507	1
<i>noguchii</i>	Fortbragg	Fort Bragg	2
<i>noguchii</i>	Argentiniensis	Peludo	4
<i>noguchii</i>	Claytoni	1348 U	4
<i>noguchii</i>	Huallaga	M 7	8
<i>noguchii</i>	Louisiana	LSU 1945	13
<i>noguchii</i>	Orleans	LSU 2580	13
<i>noguchii</i>	Cristobali	1996 K	17
<i>noguchii</i>	Panama	CZ 214 K	17
<i>noguchii</i>	Pomona	24K	18
<i>noguchii</i>	Proechimys	1161 U	18
<i>noguchii</i>	Myocastoris	LSU 1551	19
<i>noguchii</i>	Carimagua	9160	23
<i>noguchii</i>	Bac 1376	Bac 1376	24
<i>noguchii</i>	83-015437	W16K	25
<i>noguchii</i>	84-011370	2050	25
<i>inadai</i>	Malaya	H 6	5
<i>inadai</i>	Icterohaemorrhagiae	1 (Source B)	11
<i>inadai</i>	27-75	Azalia	12

<i>inadai</i>	Lyme	10	14
<i>inadai</i>	Lichuan (Also Known As Manhao 4)	Li 130	15
<i>inadai</i>	Lincang	L 14	15
<i>inadai</i>	Mangus	TRVL/CAREC 137774	17
<i>inadai</i>	Aguaruna	MW 4	23
<i>inadai</i>	Kaup	LT 64-68	24
<i>inadai</i>	Biflexa Serovar	LT 430	29
<i>santarosai</i>	Rioja	MR 12	4
<i>santarosai</i>	Naparuca	NN-1	7
<i>santarosai</i>	Tingomaria	M 13	7
<i>santarosai</i>	Canalzonae	CZ 188	9
<i>santarosai</i>	Abrahamson	Abrahamson	10
<i>santarosai</i>	Borincana	HS 622	10
<i>santarosai</i>	Borincana	Norland	10
<i>santarosai</i>	Borincana	Samson	10
<i>santarosai</i>	Borincana	Woerner	10
<i>santarosai</i>	Figeiro	Figeiro	10
<i>santarosai</i>	Goiano	Bovino 131	10
<i>santarosai</i>	Kremastos	2414 VAB	10
<i>santarosai</i>	Maru	CZ 285	10
<i>santarosai</i>	Maru	Brinkman	10
<i>santarosai</i>	Maru	Clark	10
<i>santarosai</i>	Sanmartini	CT 63	10
<i>santarosai</i>	87-029496	KF001	10
<i>santarosai</i>	Fluminense	Aa 3	12
<i>santarosai</i>	May	May	12
<i>santarosai</i>	Vargonicas	24	12
<i>santarosai</i>	Beye	1537 U	16
<i>santarosai</i>	Georgia	LT 117	16
<i>santarosai</i>	Ruparupae	M 3	16
<i>santarosai</i>	Szwajizak	Oregon	16
<i>santarosai</i>	Tabaquite	TRVL 3214	16
<i>santarosai</i>	Dania	K1	18
<i>santarosai</i>	Tropica	CZ 299	18
<i>santarosai</i>	Alexi	HS 616	19
<i>santarosai</i>	Alexi	Linares	19
<i>santarosai</i>	Bagua	MW 12	19
<i>santarosai</i>	Cenepa	MW 2	19
<i>santarosai</i>	Prinkestown	TRVL 112499	19
<i>santarosai</i>	Pyrogenes	Northrup	19
<i>santarosai</i>	Varela	1019	19
<i>santarosai</i>	Machiguenga	MMD 3	21
<i>santarosai</i>	Weaveri	CZ 390	21
<i>santarosai</i>	Rio	Rr 5	21
<i>santarosai</i>	Caribe	TRVL 61866	22
<i>santarosai</i>	Gorgas	1413 U	22
<i>santarosai</i>	Guaricura	Bov.G.	22
<i>santarosai</i>	Trinidad	TRVL 34056	22
<i>santarosai</i>	X 47	X 47	22
<i>santarosai</i>	Babudieri	CI 40	23

<i>santarosai</i>	Luis	M 6	23
<i>santarosai</i>	Shermani	1342 K	23
<i>santarosai</i>	Aguatica	45-74	24
<i>santarosai</i>	Atchafalaya	LSU 1013	24
<i>santarosai</i>	Atlantae	LT 81	24
<i>santarosai</i>	Bakeri	LT 79	24
<i>santarosai</i>	Bravo	Bravo	24
<i>santarosai</i>	Chagres	1913 K	24
<i>santarosai</i>	Darien	637 K	24
<i>santarosai</i>	Gatuni	1473 K	24
<i>santarosai</i>	Navet	TRVL 109873	24
<i>santarosai</i>	Rama	316	24
<i>santarosai</i>	Sulzeræe	LT 82	24
<i>santarosai</i>	83-011457	M01K	24
<i>santarosai</i>	Banana1	Aa 14	25
<i>santarosai</i>	Peru	MW 10	25
<i>santarosai</i>	Wawain	MW 6	25
<i>meyeri</i>	Sofia	Sofia 874	12
<i>meyeri</i>	Perameles	Bandicoot 343	16
<i>meyeri</i>	Ranarum	Iowa City Frgo (ICF)	22
<i>meyeri</i>	Hardjo	Went 5	22
<i>meyeri</i>	Semarang	Veldrat Semarang 173	28
<i>kirshneri</i>	Ramisi	Musa	1
<i>kirshneri</i>	Bim	1051	2
<i>kirshneri</i>	Bulgarica	Nicolævo	2
<i>kirshneri</i>	Butembo	Butembo	2
<i>kirshneri</i>	Erinaceiauriti	Erinaceus auritus 670	2
<i>kirshneri</i>	Lambwe	Lambwe	2
<i>kirshneri</i>	Djatzi	HS 26	4
<i>kirshneri</i>	Bafani	Bafani	4
<i>kirshneri</i>	Galtoni	LT 1014	5
<i>kirshneri</i>	Kamituga	Kamituga	5
<i>kirshneri</i>	Cynopteri	3522C	7
<i>kirshneri</i>	Agogo	Agogo	8
<i>kirshneri</i>	Grippotyphosa	Moskva V.	9
<i>kirshneri</i>	Grippotyphosa	DF	9
<i>kirshneri</i>	Grippotyphosa	GG	9
<i>kirshneri</i>	Grippotyphosa	STP	9
<i>kirshneri</i>	Ratnapura	Wumalasena	9
<i>kirshneri</i>	Valbuzzi	Duyster	9
<i>kirshneri</i>	Vanderhoedeni	Kipod 179	8
<i>kirshneri</i>	Kabura	Kabura	10
<i>kirshneri</i>	Kambale	Kambale	10
<i>kirshneri</i>	Bogvere	LT 60-69	11
<i>kirshneri</i>	Dakota	Grand River	11
<i>kirshneri</i>	Mwogolo	Mwogolo	11
<i>kirshneri</i>	Ndahambukuje	Ndahambukuje	11
<i>kirshneri</i>	Ndambari	Ndambari	11
<i>kirshneri</i>	Kunming	K 5	18
<i>kirshneri</i>	Mozdok	5621	18

<i>kirshneri</i>	Tsaratsovo	B 81/7	18
<i>fainei</i>	Hurstbridge	BUT 6 ^T ATCC	
<i>fainei</i>	Hurstbridge	BKID 6	
genomospecies 1	Pingchang	80-412	20
genomospecies 1	Sichuan	79601	25
genomospecies 2	Manzhuang	A 23	10
genomospecies 2	Nanding	M6901	10
genomospecies 2	Mengla	A 85	12
genomospecies 2	Lushui (Also Known As Manhao 1)	L70	15
genomospecies 2	Manhao 3	L60	15
genomospecies 2	Yunnan	A 10	16
genomospecies 4	Hualin	LT 11-33	11

Fontes: <http://www.pasteur.fr/recherche/leptospira/leptospira.htm>, WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS (2003) e MOREY et al., 2006.

2.2. Histórico

De acordo com o MANUAL DE LEPTOSPIROSE, (1997) a doença foi descrita pela primeira vez em 1880, no Cairo, por LARREY sendo posteriormente mencionado por ADOLF WEIL em 1886, quatro casos de leptospirose em humanos, tendo o seu nome, ainda hoje, associado às formas graves da doença, denominada Síndrome de Weil. O agente etiológico da leptospirose foi isolado pela primeira vez em 1915, no Japão (INADA et al., 1915). Infecções por *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* foram relatadas pela primeira vez no Brasil, por Aragão, em ratos no Rio de Janeiro (MANUAL DE LEPTOSPIROSE, 1997). Em 1918, NOGUCHI criou o gênero *Leptospira*, pelo fato da bactéria possuir forma espiralada (SELLARDS, 1940).

No Rio de Janeiro, em 1940, onze cães com manifestações clínicas compatíveis com leptospirose foram submetidos à necropsia para confirmar a presença do agente causador da leptospirose em cães no Brasil (DACORSO, 1940, citado por BROD et al., 2005).

2.3. Epidemiologia

A leptospirose é uma doença febril aguda que pode apresentar-se de várias formas, desde um quadro simples, até formas graves que podem levar a morte. É uma zoonose de distribuição global, causada pela infecção com espécies patogênicas de *Leptospiras* (LEVETT, 2001). A distribuição global de espécies e sorovares variam largamente, diferenças no potencial de virulência entre espécies patogênicas têm sido consideradas (PAPPAS e CASCIO, 2006).

Não é incomum a doença se tornar endêmica em uma região geográfica em particular; podendo ser causada por um ou vários sorovares. Existem no mundo grandes oportunidades para indivíduos adquirirem leptospirose (EDWARDS e DOMM, 1960). A ocorrência da leptospirose é significativamente maior em países de clima tropical do que nos de clima temperado, devido principalmente às condições de temperatura e umidade, que favorece à longa sobrevivência das leptospiras. A doença é sazonal, com pico no verão ou outubro, nas regiões de clima temperado e durante as estações de chuva nas regiões de clima tropical. Enchentes e chuvas fortes contribuem para o contato do homem com água e lama contaminada pela urina de roedores, favorecendo a infecção. Apesar da leptospirose não ser considerada uma doença tipicamente ocupacional em nosso país, algumas profissões propiciam o contato com as leptospiras; como trabalhadores de limpeza, desentupimento de esgotos, agricultores, veterinários, tratadores de animais, pescadores, magarefes, laboratoristas e bombeiros, dentre outras (ARSKY e ARRUDA, 2004).

A doença está incluída na lista B da Office International des Epizooties (OIE) de doenças a serem observadas nos animais e seus produtos (TERRESTRIAL, 2005). *Leptospira* sp. tem como reservatório natural animais selvagens, vertebrados, principalmente mamíferos (MCDONOUGH, 2001). Dentre os mamíferos, os da ordem *Rodentia* são os mais importantes; estes incluem ratazanas, ratos, dentre outros (TURNER, 1967). O rato é o principal animal reservatório da leptospirose, pois é capaz de permanecer eliminando o microrganismo pela urina por toda sua vida, constituindo-se num portador assintomático universal; sua ocorrência no mundo inteiro faz com que a leptospirose não conheça limites geográficos. Outros animais podem estar envolvidos na cadeia epidemiológica. O cão, pelo seu hábito domiciliar, foi identificado por FEIGIN et al., (1973), como causador de leptospirose

em vários humanos e atribuíram a infecção dos cães ao contato com ratos em áreas peridomiciliares. Existe uma soroprevalência maior em cães errantes em relação a cães domiciliados, uma vez que os animais soltos nas ruas tendem a ficar mais expostos a inúmeras fontes de infecção e/ou vias de transmissão, representadas por outros animais, portadores sadios ou assintomáticos, e águas contaminadas com urina dos mesmos (BATISTA et al., 2004). A leptospirose tem sido evidenciada em bovinos, ovinos, caprinos e eqüinos. O bovino infectado elimina a *Leptospira* pela urina por um tempo prolongado, determinando a contaminação de outros indivíduos. Atualmente, o papel de Hardjo como a principal sorovariante patogênica para bovinos é aceito universalmente, a sua presença independe da região e do índice pluviométrico (ELLIS, 1984). Em relação aos animais silvestres, é grande a variedade de espécies entre roedores e carnívoros, incluindo raposas, chacais, ouriços, guaxinins, gambás, doninha e gatos selvagens. Estudos em zoológicos indicam uma grande soroprevalência de anticorpos anti-leptospira em animais mantidos em cativeiro, apresentando estes sintomas e sinais clínicos semelhantes aos animais domésticos. Em estudos realizados por ESTEVES et al.; (2005), dos 167 animais analisados, 17 foram positivos (9,82%) para leptospirose, pelo teste de Soroglutinação Microscópica, incluindo entre os animais positivos espécies de *Leopardus pardalis* (Jaguaritica), *Chrysocyon brachyurus* (Lobo-Guará), *Oreochromis niloticus* (Tilápia-do-Nilo), dentre outras; indicando que a infecção por *Leptospira* spp. existe nos animais de cativeiro e pode se perpetuar neles sendo um potencial de disseminação da doença.

Seres humanos envolvidos em serviços de saneamento ambiental apresentam alto risco de contrair a leptospirose, devido ao contato direto com ambientes contaminados por urina de roedores e carnívoros domésticos (BROD et al., 2005). No trabalho de Garcia e Navarro, 2001 indica que a população da zona rural encontrava-se mais exposta à infecção por Leptospiras, e que o auxílio a partos em animais pode ser um grande fator de risco.

Sorovares presentes em uma determinada região estão associados com a presença de grande número de hospedeiros, como os reservatórios naturais da infecção. Hospedeiros de manutenção são muitas vezes animais selvagens e, algumas vezes, animais domésticos. O contato direto ou indireto com urina de hospedeiros de manutenção serve de fonte de infecção para outros animais (MCDONOUGH, 2001). Em regiões tropicais, um programa de controle de

leptospirose bem sucedido está diretamente relacionado a vacinações e investigações práticas de manejo do rebanho bovino e a identificação de fatores que favoreçam a prevalência da doença (LILENBAUM e SOUZA, 2003).

A sobrevivência de leptospiras no ambiente depende principalmente de condições ambientais apropriadas como temperatura alta, elevado grau de umidade e pH levemente alcalino. A prevalência de leptospiras dependerá, portanto, de um animal portador que é o disseminador, da contaminação e sobrevivência do agente no ambiente e do contato de indivíduos susceptíveis com o agente (BLAZIUS et al., 2005).

Os resultados dos exames sorológicos dependem da técnica empregada, da coleção de antígenos empregada, do ponto de corte da reação e também de variáveis relacionadas ao tamanho dos rebanhos, localização das propriedades e período dos anos que a coleta de amostras foi realizada. A dinâmica destes fatores torna necessária a existência de um sistema permanente de vigilância epidemiológica que possibilite o monitoramento da distribuição espacial das variantes sorológicas de leptospiras presentes na população bovina do País (FAVERO et al., 2001).

2.4. Situação da leptospirose no Brasil

No Brasil, a leptospirose é considerada uma doença endêmica e constitui um sério risco a saúde pública (FIGUEIREDO et al., 2001).

Em 2003, no estado do Rio de Janeiro, foram confirmados 199 casos de leptospirose e 45 óbitos. O coeficiente de incidência foi de 1,3/100 mil hab. e a letalidade 23%, maior que a média nacional (12%) (SISTEMA NACIONAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2005).

Em 2005, o estado de São Paulo liderou a lista dos casos confirmados de leptospirose no país, com 858 casos. Pernambuco e Rio de Janeiro também estiveram no topo da relação, com 407 e 409 pacientes, respectivamente. No total, foram 431 mortes em decorrência da leptospirose no Brasil no ano de 2005 (<http://64.233.169.104/search?q=cache:3k36gyovkcmj:gl.globo.com/Noticias/brasil/o>)

A maior parte dos casos de leptospirose no Brasil está ligada às condições de vida e infra-estrutura sanitária, principalmente em nível domiciliar. A leptospirose

ocorre em áreas urbanas e rurais, mas a maioria dos casos notificados provém das capitais e regiões metropolitanas. No Brasil, a maioria dos casos ocorre nas grandes cidades, pelo contato com águas de enchente (http://portal.saude.gov.br/portal/svs/visualizar_texto.cfm?idtxt=21733).

2.5. Patogenia

A leptospirose é uma doença bifásica (GSELL, 1952, citado por EDWARDS e DOMM, 1960).

A transmissão da leptospirose ocorre através do contato direto com solo, água fresca contaminada com urina de animal infectado ou contato direto com tecido animal infectado (PAPPAS e CASCIO, 2006). A *Leptospira* sp. penetra de forma ativa através de mucosas (ocular, digestiva, respiratória, genital), pele escarificada e inclusive pele íntegra, em condições que favoreçam a dilatação dos poros (MANUAL DE LEPTOSPIROSE, 1997).

Após penetração no organismo, as leptospirosas multiplicam-se ativamente a nível intersticial e nos humores orgânicos (sangue, linfa e liquor), caracterizando um quadro agudo septicêmico denominado de leptospiremia. O período de incubação da doença dura em média 10 dias, sendo observado por CAMARGO et al., (1992), uma variação entre 6 e 30 dias. As lesões primárias ocorrem em decorrência da ação mecânica do microrganismo ao nível das células endoteliais de revestimento vascular. A consequência direta da lesão dos pequenos vasos é o derrame sangüíneo para os tecidos, levando a formação de trombos e o bloqueio do aporte sanguíneo nas áreas acometidas. Os sinais clínicos são variados, de acordo com a extensão das lesões e o tipo de órgão atingido. A primeira fase da doença em geral dura de 4 a 7 dias e termina com melhora dos sintomas (EDWARDS e DOMM, 1960).

Caso os mecanismos de defesa dos hospedeiros possibilitem que os mesmos ultrapassem a primeira fase da infecção, atinge-se a segunda fase clínica, dito de imunidade e leptospirúria, pois são demonstrados níveis variáveis de anticorpos circulantes e de leptospirúria, caracterizando a colonização das leptospirosas nos túbulos contornados renais dos animais acometidos, local privilegiado, onde os anticorpos são observados em níveis muito reduzidos. A excreção urinária de

leptospira passa a ser intermitente, podendo persistir por períodos de tempo de longa duração, podendo variar de acordo com as espécies animais e a variante sorológica da leptospira envolvida. Nos roedores, a presença de leptospira pode ser registrada permanentemente na urina. A leptospirose é dividida, portanto, em duas fases, a leptospirose e fase de leptospirose e imunidade (TURNER, 1969 e EDWARDS e DOMM, 1960).

2.6. Leptospirose

2.6.1. Leptospirose em humanos

A maioria dos pacientes com leptospirose, especialmente em áreas endêmicas, não desenvolve a síndrome clínica. Em 90% dos pacientes com a doença, são observados sinais clínicos semelhantes ao da influenza, passando a doença muitas vezes despercebida (PAPPAS e CASCIO, 2003). Dentre os sorovares da espécie *interrogans*, no Brasil, o sorovar *Icterohaemorrhagiae* parece ser o mais comum em humanos (BLAZIUS et al., 2005). Em estudos realizados por ROMERO et al., (2003) em São Paulo, Brasil foi observado 54,8% de amostras positivas para este sorovar, no período entre 1969 e 1997. Em Recife, Salvador e São Paulo este sorovar foi identificado como agente causal em mais de 50,0% dos casos descritos (SILVA et al., 2003).

A leptospirose em crianças muitas vezes é subestimada, porque é geralmente inespecífico ou similar a um resfriado comum (SILVA et al, 2003), passando assim muitas vezes despercebida pelos médicos, devido esta se apresentar de forma não característica e se assemelhar à maioria das infecções virais causadas pelo vírus da influenza. Alguns autores (CHILDS et al, 1992 e CRUZ, 1992, citado por SILVA et al, 2003), em inquéritos soropidemiológicos, observaram soro-positividade crescente com o aumento da idade da população em estudo.

A leptospirose em crianças pode ser adquirida intra-útero quando a mãe encontra-se infectada durante a gravidez, podendo ser o feto abortado geralmente nos últimos meses de gestação ou nascerem saudáveis (SHAKED et al, 1993). A infecção pela leptospira no período neonatal é rara e ocorre por transmissão vertical.

A transmissão pode ocorrer através do leite de lactante com leptospirose a lactentes (BOLIN e KOELLNER, 1988). Neonatos com leptospirose podem ser tratados com antibióticos e em geral apresentam melhora clínica. Em 2003, foram confirmados 199 casos de leptospirose e 45 óbitos no estado do Rio de Janeiro. O coeficiente de incidência foi de 1,3/100 mil hab. e a letalidade, 23%, maior que a média nacional (12%) de acordo com o Sistema Nacional de Vigilância em saúde, 2005.

Os grupos populacionais mais acometidos pela leptospirose são aqueles que trabalham ou vivem em áreas sujeitas a enchentes, em precárias condições de moradia e/ou sem saneamento básico, em contato com água ou lama e/ou esgotos contaminados pela urina de roedores (MANUAL DE LEPTOSPIROSE, 1997). A leptospirose constitui um preocupante problema sócio-econômico. Em trabalho realizado por GARCIA et al., 2001, foi observado relação significativa de leptospirose nos pacientes de área rural, que relataram ter contato com animais, sugerindo que a população da zona rural encontra-se exposta à infecção por leptospira, e que o auxílio a partos em animais pode ser um fator de risco. BLACKMORE e SCHOLLUM, (1982) observaram como fatores relevantes para a soropositividade de trabalhadores rurais: o sexo, casos confirmados da doença no trabalho, história clínica da doença no gado, tipo de manejo do gado de leite, local de ordenha e vacinação do gado contra leptospirose e também indicaram como forma de controle da incidência da doença nos trabalhadores o controle da infecção no gado.

2.6.2. Leptospirose em caninos

A prevalência da leptospirose em cães de uma determinada região varia consideravelmente entre áreas e entre países, sendo mais elevada em regiões tropicais. Os caninos podem adquirir a infecção pela convivência com outros cães contaminados, bem como ratos que urinam em áreas comuns (BLAZIUS, et al.; 2005). O cão é considerado o hospedeiro natural do sorovar *Canicola* e o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*), o hospedeiro natural dos sorovares *Icterohaemorrhagiae*, *Copenhageni* e *Pyrogenes*, que comumente infectam os cães. É sabido que os sorovares mais comumente associados e conhecidos da leptospirose canina clássica são *Icterohaemorrhagiae* e *Canicola*.

Os cães domiciliares podem adquirir a leptospirose pela convivência com outros cães e ratos que urinam em áreas comuns (VIEGAS et al., 2001). Animais que vivem em áreas urbanas periféricas, cujas condições sanitárias e de infraestrutura são precárias, se constituem particularmente em populações de risco (GENOVEZ, 1996, citado por VIEGAS et al., 2001).

Os cães domésticos são considerados a principal fonte de infecção da leptospirose humana, pois vivem em estreito contato com o homem e podem eliminar *Leptospiras* vivas através da urina durante vários meses, mesmo sem apresentar nenhum sinal clínico característico (BABUDIARI, 1958 e EVERARD et al, 1987, citado por JOUGLARD e BROD, 2000). Em artigo escrito por FEIGIN et al, 1973 onde relataram casos de transmissão de leptospirose por cães saudáveis e vacinados para seres humanos que mantinham contato com estes animais, foi questionado a eficácia da vacina quanto à persistência do estado de portador e disseminador da doença nos animais vacinados, já que foi observado que os cães mesmo vacinados puderam vir a abrigar leptospiras nos rins e eliminá-las pela urina, contaminando os seus proprietários; os autores concluíram que animais saudáveis imunizados podem adquirir infecção subclínica e abrigar *L. interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae.

Nos cães os sintomas predominantes são aqueles relacionados com insuficiência renal progressiva e uremia: perda de peso, poliúria, desidratação, emese, diarreia, ulcerações na cavidade oral e necrose da língua nos casos mais avançados ou pode apresentar uma infecção inaparente. As leptospiras alcançam o interstício renal onde permanecem por longo tempo, causando nefrite intersticial crônica, com a eliminação das leptospiras para o meio ambiente e instalação de falência renal (HAGIWARA, 2003). A leptospirose é a doença que mais causa falência renal em cães (BOLIN, 2002).

2.6.3. Leptospirose em bovinos

Desde o primeiro relato da doença em bovinos por MICHIN e AZHINOV, (1935) a leptospirose bovina tem sido identificada em todo o mundo (ELLIS e MICHINA, 1976). No Brasil, a leptospirose nos bovinos, além de não ser doença de notificação compulsória, não está submetida ao combate organizado por órgãos e

entidades públicas ou privadas de sanidade animal. Esse fato dificulta conhecer a verdadeira extensão das infecções por *Leptospira* spp. em bovinos em diferentes regiões do país (ARAÚJO et al., 2005). A leptospirose em bovinos está relacionada principalmente com problemas na esfera reprodutiva (COGHLAN ET AL., 1969 e LILENBAUM, 1996); causando abortos principalmente no terço final da gestação, natimortos, reabsorção fetal, nascimento de animais debilitados e infertilidade, podendo a fêmea precisar de 3-6 coberturas para conceber. Pode ocorrer mastite clínica e subclínica, com presença de flacidez de úbere e leite amarelado com estrias de sangue, ocasionando elevada redução na produção, segundo SULLIVAN et al., (1970), citado por RODRIGUES et al., (1999). Em vacas adultas das raças com aptidão leiteira, pode haver a infecção da glândula mamária e o quadro clínico é o de uma mastite atípica, com sensível diminuição da secreção láctea, úbere flácido e o leite manchado com coágulos de sangue (MANUAL DE LEPTOSPIROSE, 1997). Vacas infectadas com leptospira abrigam o microrganismo viável no leite (ELLIS et al., 1976, citado por BOLIN e KOELLNER, 1988), podendo transmitir a doença para seres humanos e animais que consumam este leite *in natura*.

Em trabalho realizado por ELLIS et al., (1982) foi observado que animais soropositivos a leptospirose que abortaram fetos infectados possuíam títulos maiores do que aqueles que abortaram fetos não infectados; quando não for possível realizar exame no feto abortado a sorologia da mãe poderá ser proveitosa para se chegar ao diagnóstico da causa que levou ao abortamento, mesmo com título materno baixo, é indicativo da doença. Segundo COGHLAN et al., (1969) os pesquisadores FENNESTAND, (1956) e BORG-PETERSEN, (1958) encontraram muitas dificuldades no isolamento de leptospirose em fetos abortados de bovinos, chegando a concluir que a *Leptospira* sp. em determinadas fases da doença na vaca atravessa a barreira placentária, infecta o feto e após poucos dias morre; levando assim a dificuldade no diagnóstico fetal. Em trabalho realizado por, LILENBAUM e SANTOS, (1996) foi analisado o efeito do manejo sobre a ocorrência de leptospirose em 405 vacas de propriedades rurais localizadas em diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro, municípios: São Fidélis, Miracema, São Pedro da Aldeia, Casimiro de Abreu, Macaé, Itaperuna, Campos dos Goytacazes, Marica, Cachoeiras, Teresópolis, Petrópolis, Magé, Três Rios, Vassouras, Resende, Barra do Piraí e Paraíba do Sul, em rebanhos que apresentavam desordens reprodutivas e encontraram 68% de positividade para pelo menos uma variante sorológica com

reações mais presentes para as variantes: Hardjo (21%), Wolffi (14%), Bratislava (9%) e Pomona (5%).

Dentre os animais de produção explorados em ecossistemas rurais, as manifestações clínicas mais freqüentes atingem a esfera reprodutiva, incluindo o abortamento, usualmente no terço final da gestação. Em algumas ocasiões, as reprodutoras atingidas podem apresentar infertilidade ou mesmo esterilidade. Diferentemente de outros animais e do homem, o quadro de insuficiência renal no bovino é raro (SALLES e LILENBAUM, 2000).

2.7. Diagnósticos Específicos

Os exames laboratoriais são de grande importância para a elucidação diagnóstica, uma vez que as variadas manifestações clínicas da leptospirose aguda podem ocorrer em diferentes combinações (TURNER, 1967), sendo confundida constantemente com outras infecções. Para a solicitação dos exames específicos é de grande importância o conhecimento de que a doença apresenta comportamento bifásico. Na fase inicial, septicemia, as leptospiras podem ser encontradas no sangue, líquido, sêmen e na maioria dos tecidos. Na segunda fase, a imunológica, há o aparecimento dos anticorpos séricos específicos e a eliminação das leptospiras na urina. O diagnóstico laboratorial é difícil quando a amostra adequada não é enviada ao laboratório (TURNER, 1967).

2.7.1. Exame direto

A visualização das espiroquetas em microscopia de campo escuro é muito difícil, porém pode ser feito a partir de amostras de urina, sangue, sêmen e líquidos resultantes do conteúdo gástrico do feto abortado (SALLES e LILENBAUM, 2000).

2.7.2. Cultura

O crescimento de leptospiiras pode ocorrer em meios contendo soro ou albumina, ou em meios sintéticos livre de proteínas (TURNER, 1970). As leptospiiras podem ser cultivadas a partir de sangue, líquido, urina, sêmen, secreção uterina de vacas que abortaram e líquido gástrico de bezerros recém-abortados (LILENBAUM, 1996a), geralmente na primeira e no início da segunda semana da doença. Os meios líquidos mais utilizados são o de Stuart e semi-sólido de Fletcher, ambos contendo soro de coelho, ou, ainda, o meio EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris), contendo albumina e ácidos graxos. O meio Tween 80/40/LH é capaz de recuperar a concentração de células e motilidade de leptospira que diminuíram esta capacidade após serem cultivadas em meio EMJH sem antibióticos (FREITAS et al., 2004), além de também ser usado com grande sucesso no cultivo de sorovares como Hardjo e Brastislava (ELLIS e THIERMANN 1986).

A cultura das leptospiiras apresenta várias limitações, como a complexidade dos meios de cultura, a necessidade de semear o material imediatamente após a coleta, o longo tempo de geração da espiroqueta e, finalmente, a dificuldade encontrada pelos laboratórios em obter a amostra livre de contaminantes (LILENBAUM, 1996). O isolamento e identificação de leptospiiras consomem bastante tempo e necessitam de laboratórios de referência especializados (ASLANTAS e ÖZEDEMIR, 2005). O crescimento de leptospiiras é freqüentemente vagaroso no primeiro isolamento, sendo as culturas retidas por mais de 13 semanas antes de serem descartadas, mas subculturas puras em meio líquido crescem normalmente entre 10 a 14 dias. Meio Agar em baixas concentrações (0,1 a 0,2%) pode ser adicionado ao meio de cultura. Em meios contendo Agar, chamado de meio semi-sólido, o crescimento das leptospiiras alcança a densidade máxima em uma zona abaixo da superfície do meio do tubo de ensaio, isto ocorre devido à tensão ótima de crescimento e é conhecido como anel ou disco de Dinger.

De acordo com CAMARGO et al.; (1992), vários fatores estão relacionados a baixa sensibilidade das hemoculturas, entre eles, a interferência de anticorpos específicos presentes no sangue, a dificuldade de crescimento "in vitro" do microrganismo, mesmo em meios enriquecidos e o uso precoce e indiscriminado de antibióticos.

O isolamento da leptospira permite o diagnóstico definitivo da infecção e proporciona estudos epidemiológicos e profiláticos da leptospirose nas regiões acometidas (FREITAS et al., 2004).

2.7.3. Inoculação em animais de laboratório

Não oferece vantagens sob o ponto de vista clínico, para o isolamento das leptospiras, quando comparado com os métodos de cultivo do sangue, liquor ou urina obtidos assepticamente. Algumas vezes, têm sido utilizadas as técnicas de inoculação de microrganismos em animais de laboratório, como meio de manutenção em laboratório de cepas que não se adaptam bem aos meios de cultura. Os animais mais usados para esta finalidade são as cobaias e os hamsters (LOMAR et al., 2002).

2.7.4. Reação em Cadeia de Polimerase - PCR

Essa técnica de biologia molecular baseia-se na detecção e amplificação do DNA de *Leptospira* sp. em tecidos ou fluidos do corpo. No Brasil, ainda está sendo implantada em alguns Centros de Pesquisa (SALLES e LILENBAUM, 2000) e tem sido cada vez mais utilizada devido a sua precisão, seletividade e elevada sensibilidade na detecção de bactérias (SONG et al., 2003). De acordo com a WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS (2003), amostras de sangue, urina, fluido cerebrospinal e amostras de tecidos podem ser aplicados ao PCR, para diagnóstico antes ou pós-morte.

Para o diagnóstico da leptospirose através de sêmen em cães destinados à reprodução, é considerada mais fácil que outros métodos (KIM et al., 2006). DIAS et al., (2006), avaliou a sensibilidade e especificidade da técnica de PCR, aliada a eletroforese capilar, para detecção de *L. pomona* em sêmen bovino, contaminado experimentalmente; concluindo que a técnica é uma valiosa ferramenta, por permitir rapidez e sensibilidade. De acordo com SONG et al., (2003) a alta velocidade e sensibilidade são os mais importantes fatores a serem considerados na detecção de

bactérias porque a presença de até mesmo um único organismo patogênico pode resultar em infecção.

As limitações desse método estão, por exemplo, nos “primers” que podem amplificar fragmentos tanto de leptospiros patogênicas como de não-patogênicas.

2.7.5. Testes sorológicos

Os testes sorológicos visam à identificação de anticorpos anti-leptospira, em soros humanos e de animais com leptospirose. Tais provas podem ainda ser realizada em líquido cefalorraquidiano, pleural, sinovial e humor aquoso (LOMAR et al., 2002). São várias as provas sorológicas utilizadas para o diagnóstico da leptospirose, pode-se citar a reação de soroaglutinação microscópica, reação de soroaglutinação macroscópica, reação de fixação de complemento, reação de hemaglutinação em látex, reação de contra-imunoeletoforese, reação de imunofluorescência, ensaio imunoenzimático e radioimunoensaio.

2.7.5.1. Reação de Soroaglutinação Macroscópica - SAT

É uma reação considerada gênero-específica e deve ser interpretada como prova de triagem. Os antígenos utilizados constam de suspensões concentradas de leptospiros inativadas. Nesta prova são obtidos resultados rápidos, é de fácil execução e econômico. Devido a sua inespecificidade em nível de sorovar, essa reação poderá mostrar resultados positivos mais precocemente que a de microaglutinação. Por outro lado, no caso de anticorpos residuais, a tendência é mostrar-se negativa (MANUAL DE LEPTOSPIROSE, 1997). Como a doença no bovino é normalmente crônica, ela não funciona bem porque detecta melhor a doença na fase aguda (SALLES e LILENBAUM, 2000).

2.7.5.2. Reação de Soroaglutinação Microscópica - SAM

A Reação de Soroaglutinação Microscópica - SAM é o exame recomendado pela Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS 2003), para o diagnóstico da leptospirose. É considerado o “padrão de ouro” ou pedra fundamental para o diagnóstico da leptospirose porque é incomparável a outros testes devido a sua alta especificidade (sorovar/sorogrupo), de acordo com WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS, (2003).

É o teste mais utilizado por pesquisadores de todo o mundo. São utilizados antígenos vivos ou formalizados, das sorovariantes presentes na região estudada e procura-se incluir representantes de cada sorogrupo. Baseia-se na adição do soro suspeito em diluições crescentes a culturas de diversas soroviedades de *Leptospira* sp. Anticorpos aglutinantes podem ser tanto da classe IgM quanto IgG.

Sua maior dificuldade encontra-se na interpretação dos resultados. A presença de títulos altos em soros positivos para diferentes sorovares, pode ser considerada reações cruzadas, característica da fase aguda da doença (OLIVEIRA et al., 2005). Títulos baixos podem indicar a fase muito adiantada ou muito atrasada da resposta imune, assim como respostas não específicas podem ocorrer em casos severos de pacientes imunossuprimidos ou tratados com antibióticos logo no início da infecção (WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS, 2003). Pacientes normalmente produzem anticorpos aglutinantes contra o sorovar infectante, entretanto muitas vezes é observada reação cruzada com outros sorovares, isto é particularmente visível no início do curso da infecção. Nas primeiras semanas da doença também é comum encontrar reação heteróloga com outros sorovares, podendo ser tão forte quanto a reação homóloga com o sorovar infeccioso. Ocasionalmente, a reação heteróloga pode ser positiva enquanto a reação homóloga poderá ser ou permanecer negativa, um fenômeno chamado de reação paradoxal. Esta reação pode ocorrer devido muitos sorovares poderem circular e causar doença em uma determinada área, devido a certos anticorpos reagirem somente com certos sorovares ou sorogrupos, novos sorovares poderem ser incluídos ou da prevalência de diferentes sorovares poderem mudar como resultado da introdução de novos hospedeiros de manutenção, práticas agrícolas, etc (WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS, 2003). Caso não seja incluído no teste o sorovar infectante poderá ocorrer um falso negativo.

De acordo com SEYFFERT ET et al. (2003) fatores como temperatura, tempo de incubação, densidade do antígeno e idade da cultura podem interferir na interpretação do resultado da SAM.

Apesar de não existir obrigatoriamente uma relação entre título sorológico e infecção, tradicionalmente considera-se positivo quando o título for igual ou superior a 1:200, embora diluições com títulos positivos de 1:100 já suscitem suspeitas quanto à saúde do rebanho (LILENBAUM, 1996), apesar de muitos autores contestarem esta idéia, aceitando diferentes valores de título; como 1:200, 1:400 e 1:800 (WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS, 2003).

2.7.5.3. Ensaio Imunoenzimático - ELISA

É um teste amplamente reativo, também chamado antígeno gênero-específico e geralmente utilizado para detectar IgM, e algumas vezes também anticorpos IgG (WORLD HEALTH ORGANIZATION – ILS, 2003). São inúmeras as publicações sobre o uso do ELISA - IgM como teste para detectar anticorpos da leptospira em animais e em humanos. Este teste tem sido considerado como mais sensível que o SAM, mas com desvantagens que inclui a sua falta de especificidade e a relação entre níveis de anticorpos e estado imune do animal (YAN et al., 1999).

É um teste sensível que permite a detecção de anticorpos já na primeira semana da doença. Porém, o exame deve ser feito a partir do 7º dia da doença, momento em que os níveis de anticorpos estarão aumentados, e até 2 meses do início dos sintomas

(http://portalweb02.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=21737).

Em trabalho realizado com ratos e que se comparou à utilização do ELISA com o SAM, não foram observadas diferenças significativas entre os testes nas diluições 1:20 e 1:40 dos soros, embora tenha sido observada a maior especificidade do SAM em relação ao ELISA; os autores propõem a utilização do ELISA por ser um teste rápido, cômodo e simples de ser realizado (VANASCO et al., 2001).

Este ensaio consiste na reação de soros a serem testados com antígenos solúveis e purificados de leptospira obtidos a partir de cultura “*in vitro*”, que são previamente adsorvidos às cavidades de microplacas/strips (fase sólida).

2.8. Medidas profiláticas gerais

A prevenção da leptospirose baseia-se em medidas sanitárias gerais, como o controle de roedores, limpeza do ambiente, com a remoção dos resíduos sólidos e líquidos, além de vacinas existentes para algumas espécies. A vacinação animal deve ser realizada, mas é necessário o conhecimento da doença na região. A constante modificação da prevalência de espécies e serovares de *Leptospira* em certas regiões impedem a total proteção dos animais (TALPADA et al., 2003). A vacinação não pode prevenir a leptospirose animal e conseqüentemente a contaminação ambiental e o risco humano (TALPADA et al., 2003).

As medidas que devem ser tomadas com os cães incluem a imunoprofilaxia, medidas sanitárias gerais, restrição de acesso dos animais ao ambiente externo ao domicílio, principalmente nos períodos de maior precipitação pluviométrica, onde a presença de áreas alagadas contribui para a persistência de leptospirosas viáveis (HAGIWARA, 2003).

Em trabalho realizado por ARDUINO et al., (2004) observou-se que bovinos vacinados não diferem sorologicamente, de forma significativa, com a produção de anticorpos quando comparados com animais não vacinados. As vacinas para bovinos têm sido testadas por vários anos, porém alguns autores relatam baixo ou quase nenhuma resposta sorológica, após a vacinação com vacinas comerciais (FAINE et al., 1999 citado por ARDUINO et al., 2004). Em bovinos, o controle deve ser feito a partir do isolamento dos animais doentes. Os animais devem ser retirados de áreas alagadas e os depósitos de alimentos devem ser protegidos. O material resultante do abortamento deve ser retirado do pasto e enterrado (SALLES e LILENBAUM, 2000).

2.9. Tratamento

Devido à grande sensibilidade das leptospirosas à terapêutica da leptospirose, o tratamento atualmente encontra-se sem novas informações clínicas e experimentais; além do inadequado entendimento da fisiopatologia da doença que não favorece o seu avanço (PAPPAS e CASCIO, 2003).

Tratamento com antibióticos específicos deve ser introduzido logo que o diagnóstico da leptospirose seja suspeitado e preferivelmente antes do quinto dia após o início da doença, já que o uso de antibióticos após o quinto dia da doença é controverso devido à possibilidade de ocorrência da reação de Jarish-Herxheimer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003), que pode ocorrer após o uso de antibióticos como a penicilina, eritromicina, amoxicilina, tetraciclina e quinolonas; causando clinicamente exarcebação das lesões, sintomatologia sistêmica e alterações laboratoriais (AVELLEIRA et al.; 2006). A doxiciclina é eficiente na redução da severidade e duração da sintomatologia clínica na leptospirose quando administrada precocemente; assim como penicilina e amoxicilina, quando usados nas formas suaves da leptospirose. Literaturas emergentes têm sustentado o uso de cefalosporinas de terceira geração como ceftriaxone e cefotaxione favorecendo o seu uso quando comparado com antibióticos como a penicilina que levam o paciente ao risco de desenvolver a reação de Jarish-Herxheimer (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Região Estudada

O estudo foi realizado em propriedades rurais localizadas na microrregião de Itaperuna, situada entre as latitudes 21° 12' 23" S e os meridianos 41° 53' 25 W, numa altitude de 113m; pertencente a mesorregião do Noroeste Fluminense, no estado do Rio de Janeiro, Brasil. O clima é classificado como tropical quente com temperatura mínima variando de 16 a 12°C e máxima entre 24 a 42°C (Wikipédia, 2007). As particularidades geográficas da região imprimem características de continentalidade no clima local, marcada por um período seco de abril até setembro, onde os índices começam com 74,8 mm em abril e declinam para 16,5 mm em julho e 15,1 mm em agosto. Em outubro, há retomado dos índices pluviométricos, alcançando o máximo de 247,5 mm em dezembro. Alternam-se, assim, dois períodos nítidos: de outubro a março, o período chuvoso: e de abril a setembro, o de estiagem. A localização do município explica essa distribuição de chuvas, uma vez que se encontra protegido dos ventos úmidos litorâneos, nos meses de inverno, e sob a ação de instabilidade da massa continental, no verão (ITAPERUNAONLINE, 2007). Segundo IBGE (2005), esta microrregião possui pecuária com 108.000 bovinos efetivo dos rebanhos, dentre estes, 23.100 é composto por vacas ordenhadas.

A Microrregião de Itaperuna foi investigada quanto à presença de aglutininas anti-leptospira em diferentes espécies, por ser comum casos de enchentes na região

e por ter sido constatado casos da doença em humanos e em bovinos de uma mesma propriedade, em 2004 (comunicação verbal com o administrador da fazenda onde ocorreram casos de leptospirose animal e humana).

3.2. Amostras

O número de amostras foi estipulado ao acaso. Estabeleceu-se um número de 10 vacas de aptidão leiteira por propriedade, em um total de 12 propriedades, localizadas na microrregião de Itaperuna onde nenhuma delas vacinava os animais, contra leptospirose. Para este estudo também foi coletada amostra de sangue de todos os trabalhadores rurais e caninos pertencentes às estas propriedades. As propriedades foram escolhidas aleatoriamente, de acordo com a disponibilidade dos produtores rurais. O período de coleta foi de agosto a novembro de 2006. Foi aplicado um questionário epidemiológico (Anexo I) para cada propriedade rural para recolher registros das técnicas usadas no manejo dos animais, alimentação, reprodução e sanidade, com o intuito de obter informações epidemiológicas da doença na região.

3.3. Material de estudo

O material consistiu de hemossoros de 120 bovinos, 10 caninos e 32 humanos (trabalhadores rurais) de propriedades de criação de gado com aptidão leiteira, localizado no Município de Itaperuna, RJ- Brasil.

3.4. Desenvolvimento do experimento

Amostras de sangue foram processadas na seção de Bacteriologia Veterinária do setor de Doenças Infecto-contagiosas - Laboratório de Sanidade Animal (UENF), para serem submetidas posteriormente aos diagnósticos sorológicos de Soroaglutinação microscópica (hemossoros de fêmeas da espécie bovina, cães e

humanos de propriedades rurais) e Ensaio Imunoenzimático (EIE) – IgM – Leptospirose Bio-Manguinhos (hemosoros de humanos).

O teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) foi realizado no Laboratório do Centro Nacional de Referência para Leptospirose, na Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ.

3.5. Obtenção de amostras

O sangue foi coletado assepticamente por meio de punção venosa em bovinos, caninos e humanos, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis. A veia de escolha, assim com tipo de agulha, seringa e a quantidade de sangue coletado variou de acordo com a espécie, a idade e a massa corporal. O sangue permaneceu em temperatura ambiente por duas a seis horas e a 4°C *over-night* para retração do coágulo e máximo aproveitamento do soro. As amostras de sangue foram centrifugadas a 800 G por 10 minutos, no setor de Patologia Clínica do laboratório de Sanidade Animal - UENF. Após a separação dos soros, foram estocados a -20°C até a realização dos testes diagnósticos.

3.6. Testes diagnósticos

O teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) foi realizado com 22 diferentes antígenos vivos (Tabela 2).

O Ensaio Imunoenzimático (ELISA) foi realizado para os hemosoros de seres humanos, testadas pela SAM, utilizando o Kit fabricado pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos – RJ, denominado Ensaio Imunoenzimático (EIE) - IgM - Leptospirose Bio-Manguinhos.

3.6.1. Soroaglutinação Microscópica - SAM

A técnica de soroaglutinação microscópica em tubos com antígenos vivos e leitura em campo escuro foi realizada, segundo recomendações da Organização Mundial de Saúde e Escritório Internacional de Epizootias. Foram utilizadas culturas de cepas-padrão de *Leptospira*, mantidas por repiques semanais em meio líquido de Ellinghausen (EMJH), sendo vinte variantes sorológicas de leptospiros patogênicas e duas de leptospiros saprófitas. A suspensão de *Leptospira* foi então diluída a 1:2 em PBS 0,001 molar de pH 7,2 e examinada em microscopia de campo escuro, com objetiva 10x e ocular 10 a 16x, entre lâmina e lamínula para a verificação de uma concentração satisfatória, estando às espiroquetas individualizadas e preenchendo todo o campo microscópico. Na triagem, o soro foi diluído 1:50 em PBS e filtrado em membrana de 0,45 µm. Alíquotas de 50 µL foram distribuídas em tubos de uma estante. Em outra estante foi distribuído 50 µL de PBS, que serviu de controle. Aos tubos foram acrescentados 50 µL da suspensão antigênica correspondente. Os tubos foram incubados por 2 horas em temperatura entre 25°C e 28°C. Gotas destes tubos foram colocadas em lâmina numa fileira para observação de aglutinação em microscopia em campo escuro.

Os soros que aglutinaram mais de 50% das leptospiros foram submetidos à prova de titulação. A partir da diluição 1:50 utilizada na prova de triagem, foram preparadas mais nove diluições do soro, consecutivos e em duplicatas (títulos de 1:100 a 1:25600). Foram distribuídos 50 µL de cada diluição em respectivos poços de placa de ELISA, além dos poços controle utilizando PBS. Aos poços, foram acrescentados 50 µL do antígeno a cada poço das respectivas fileiras e ao controle. A placa foi incubada por 2 horas em temperatura entre 25°C e 28°C e a leitura realizada conforme descrita para a prova de triagem. O título foi dado como a recíproca da maior diluição em que houve aglutinação.

Tabela 2. Bateria de antígenos utilizados para a realização da Soroaglutinação Microscópica – SAM

Espécie	Sorogrupo	Sorovar	Amostra de referência
<i>interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	RGA
<i>interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni	M20
<i>interrogans</i>	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
<i>kirshneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>interrogans</i>	Pomona	Pomona	Pomona
<i>interrogans</i>	Australis	Australis	Ballico
<i>interrogans</i>	Bataviae	Bataviae	Van Tienen
<i>weillii</i>	Celledoni	Celledoni	Celledoni
<i>kirshneri</i>	Cynopteri	Cynopteri	3522 C
<i>borgpetersenii</i>	Javanica	Javanica	Veldrat Batavia 46
<i>knoguchii</i>	Panama	Panama	CZ 214
<i>interrogans</i>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<i>interrogans</i>	Sejroe	Hardjo	Hardjoprajitno
<i>interrogans</i>	Sejroe	Saxkoebing	Mus 24
<i>santarosai</i>	Shermani	Shermani	LT 821
<i>borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi	Pereperlicin
<i>interrogans</i>	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
<i>interrogans</i>	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>interrogans</i>	Djasiman	Djasiman	Djasiman
<i>interrogans</i>	Sejroe	Wolffi	3705
<i>biflexa</i>	Semarang	Patoc	Patoc 1
<i>biflexa</i>	Andamana	Andamana	CH 11

3.6.2. Ensaio Imunoenzimático ELISA-IgM – Humanos

O protocolo utilizado para a realização do teste imunoenzimático ELISA-IgM, para a detecção de anticorpos específicos da classe IgM para a leptospirose humana foi realizado de acordo com o recomendado pelo Kit EIE - IgM - Leptospirose - Bio-Manguinhos, conforme especificado abaixo.

Este ensaio consiste na reação de soros humanos com antígenos solúveis e purificados de leptospira (pool de proteínas obtido de lisado de *Leptospira interrogans*) obtidos a partir de cultura “in vitro”, que são previamente adsorvidos nas cavidades de microplacas/strips (fase sólida). A seguir dilui-se em tubos 5 µL dos soros controle e das amostras de soros a serem analisadas, previamente homogeneizadas, em 500 µL do diluente de amostra/conjugado (1:100). Foi distribuído na microplaca, 100 µL da diluição das amostras em duplicatas. Em

seguida, a placa foi selada com folha adesiva e incubada a 37°C por 60 minutos. Após o tempo de incubação, a folha adesiva foi retirada, o conteúdo aspirado, a placa lavada 5 vezes com tampão de lavagem (200 µL/orifício) e agitada levemente a placa após a última lavagem. O conjugado utilizado foi diluído no diluente de amostra/conjugado na diluição de acordo com o número de reações utilizadas (exemplo: para 16 reações é usado 25 µL do conjugado em 2,5 mL de diluente de amostras/conjugado diluído). O conjugado preparado foi previamente homogeneizado e em seguida 100 µL da diluição foi distribuído em cada orifício dos strips. A placa após a distribuição da diluição do conjugado foi selada e novamente incubada em estufa 37°C por 30 minutos. Seguida a incubação, a placa foi lavada como descrito anteriormente. Para evidenciação da reação, utilizou-se 100 µL do substrato diluído (exemplo: para 16 reações utilizou-se 2,5 ml do diluente de substrato, 25 µL do tetrametilbenzidina - TMB e 5 µL de peróxido de hidrogênio – H₂O₂). As reações positivas formam compostos de coloração azul turquesa que ao adicionar-se 50 µL de ácido sulfúrico 2 M para interromper a reação, passa a apresentar uma coloração amarela, em caso positivo (reagente). Os resultados foram avaliados por meio de um espectrofotômetro para microplaca em comprimento de onda de 450 nm.

Cálculo do Cut-Off: $CO = \Sigma X/2 \text{ CN} \times 2,3$

CO = “Cut – Off”

$\Sigma X/2$ = média da densidade ótica dos orifícios do Controle Negativo

Resultados ELISA –IgM:

- Amostras reagentes = As que apresentam densidade ótica igual ou superior ao “Cut-Off”.
- Amostras não reagentes = As que apresentam densidade ótica inferior ao Cut-Off.

Cálculo da Faixa Cinza (FC):

$FC = CO \times 1,2$

3.7. Estatística

Os dados foram analisados considerando o método de amostragem simples ao acaso, com nível de significância igual a 5%. Para o dimensionamento amostral foi utilizado um desvio de 5% em torno da proporção média, para mais e para menos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos pela Soroaglutinação Microscópica (SAM), a proporção de vacas de aptidão leiteira soronegativas para leptospirose na microrregião de Itaperuna é de $0,860 \pm 0,064$, com 95% de probabilidade de o intervalo de confiança conter a proporção em uma população infinita de animais. Os resultados revelam uma prevalência de $0,14 \pm 0,064$ de animais reagentes na região, apresentando títulos de anticorpos maiores ou iguais a 1:100. A proporção encontrada nos animais soropositivos pela SAM, indica que a leptospirose em vacas de Itaperuna não ocorre ao acaso, existindo fatores, na região, que predispõem a sua ocorrência.

A porcentagem de 14% de animais soropositivos, na região estudada, se assemelha à encontrada por RODRIGUES et al., (1999), os quais encontraram 13,25% de animais reagentes, na bacia leiteira da região de Londrina, Paraná, Brasil, os autores utilizaram amostras aleatórias na região estudada, assim como realizado neste trabalho; no entanto as porcentagens encontradas, no presente trabalho, diferem das descritas no estado do Rio de Janeiro por LILENBAUM et al., (1996), que constataram uma soropositividade de 68%. O diferente resultado encontrado pode ter ocorrido devido os autores terem selecionado animais com problemas reprodutivos e suspeita clínica de leptospirose, enquanto que neste trabalho os animais foram escolhidos ao acaso, oriundos de propriedades também selecionadas ao acaso e, portanto, sem suspeita da doença. A leptospirose em bovinos está amplamente relacionada a problemas reprodutivos, por esta razão

quando são selecionadas amostras de animais com este problema, a probabilidade de encontrar animais soropositivos pode ser maior do que em amostras de animais sem a suspeita clínica. JULIANO et al., (2000) encontraram uma porcentagem de 81,90% de animais soropositivos no rebanho amostrado da microrregião de Goiânia. Este resultado indica que, mesmo utilizando amostras aleatórias, os autores encontraram uma alta porcentagem de animais soropositivos e provavelmente este resultado seria ainda maior caso os autores selecionassem os animais.

Das propriedades estudadas, 9 (75%) apresentaram pelo menos um bovino sororeativo para *Leptospira* spp. (Figura 1 e Anexo II), com títulos variando de 1:100 a 1:3200. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por RODRIGUES et al., 1999, os quais encontraram 10 (71,47%) propriedades soropositivas, das 14 propriedades estudadas em Londrina, Paraná.

De acordo com relatos fornecidos pelos trabalhadores rurais (tratadores dos bovinos), 35% dos bovinos amostrados apresentavam algum tipo de problema reprodutivo (Anexo I). Foram observados pela SAM que apenas 6,67% destes animais eram soropositivos e 28,33% soronegativos. A maior porcentagem de animais com problemas reprodutivos soronegativos indica que existem outras doenças na região que também são responsáveis para a ocorrência destas alterações.

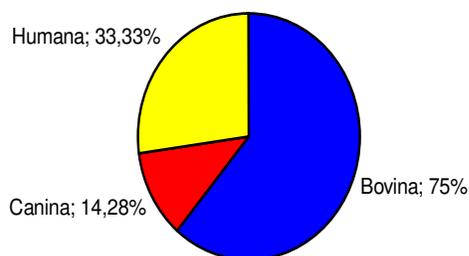


Figura 1. Avaliação de propriedades com pelo menos um soropositivo por espécie, para *Leptospira* spp., com títulos ≥ 100 , pela SAM.

Os resultados obtidos na SAM indicam a presença dos sorovares Tarassovi 6,67% ($0,067 \pm 0,045$), Hardjo 5% ($0,05 \pm 0,039$), Wolffi 2,5% ($0,025 \pm 0,028$), Saxkoebing 2,5% ($0,025 \pm 0,028$), Copenhageni 0,83% ($0,008 \pm 0,017$) e Hebdomadis 0,83% ($0,008 \pm 0,017$) em vacas leiteiras de Itaperuna, com 95% de probabilidade de o intervalo de confiança conter esta proporção (Figura 2 e Anexo III). As proporções representativas da ocorrência dos sorovares Tarassovi e Hardjo são estatisticamente diferentes de zero, indicando a sua ocorrência não ser devido ao acaso, tendo grande importância na infecção dos animais. MAGAJEVSKI et al., (2007) também encontraram predominância do sorovar Hardjo (44,7%) em vacas prenhas de abatedouro em São Paulo, Brasil, seguidos por Wolffi (28,5%), Icterohaemorrhagiae (22,9%), Pomona (2,2%) e Grippotyphosa (1,7%) e RODRIGUES et al., (1999) em bovinos na bacia leiteira de Londrina, Brasil encontraram predominância dos sorovares Icterohaemorrhagiae (28,91%), Pomona (21,08%), Batavie (16,87), Autumnalis (14,46%), Canicola (11,44%), Hardjo (10,84%), Bratislava (10,24%), Butembo (7,83%), Pyrogenes (7,22%), Hebdomadis (6,63%) e Wolffi (6,02). É possível observar a variação que há de uma região para outra quanto à predominância de sorovares.

A identificação dos sorovares presentes em diferentes regiões é importante para que no caso de surtos da doença, sejam realizados testes diagnósticos utilizando sorovares presentes na região e evitando assim a ocorrência de falsos negativos; para estabelecer os possíveis transmissores da leptospirose de acordo com a suspeita dos hospedeiros de manutenção e para realizar o controle e prevenção adequada da doença utilizando vacinas que contenham os sorotipos presentes na região.

As vacinas contra leptospirose utilizadas para imunizar bovinos da microrregião de Itaperuna devem conter principalmente os sorovares Tarassovi e Hardjo, que foram os mais presentes neste estudo e, portanto mais prováveis de infectarem bovinos, desta região. Caso sejam utilizadas vacinas sem estas variantes e os animais venham a ser infectado por estes sorovares, eles poderão desenvolver a doença por não estarem perfeitamente imunizados.

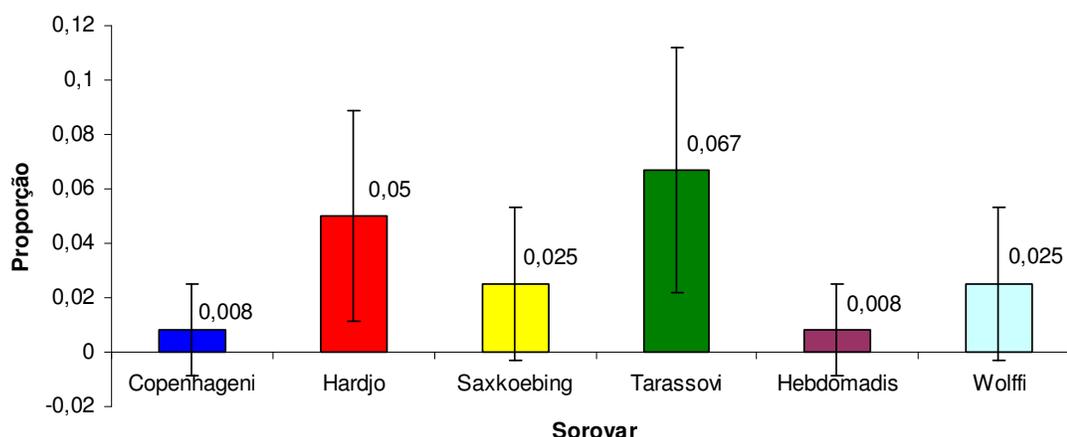


Figura 2. Distribuição de sorovares em hemossoros bovinos amostrados (títulos de anticorpos ≥ 100).

O sorovar Tarassovi, o mais presente em bovinos neste estudo, é o mais extenso e mais diverso sorogrupo do gênero *Leptospira*. Cepas de referência deste sorovar foram isoladas de animais selvagens, humanos, pingüim e esgoto humano, entretanto nunca foi isolado de bovinos. Em diversos países títulos do sorogrupo Tarassovi tem sido detectado em bovinos, todavia, foram isoladas 2 cepas de leptospira, de rins de bovinos de matadouro, pertencente ao sorogrupo Tarassovi, ambas cepas pertencem a um novo sorovar Ngavi, mostrando-se ser antigenicamente similar ao sorovar Gatuni (FERESU et al., 1998).

A presença do sorovar Tarassovi em bovinos foi descrita no estado do Rio de Janeiro por CORDEIRO et al., (1975), apresentando 2,62% de reagentes; já em Goiânia, Brasil, VIEGAS et al., (2001), encontraram 4,90% de soropositivos em rebanho leiteiro. Estes resultados indicam a ocorrência deste sorovar em bovinos de diferentes regiões, embora não seja considerado o mais prevalente. De acordo com estudos realizados por LILENBAUM, 1996 as sorovariantes mais prevalentes em bovinos no Brasil são: Pomona, Wolffi, Sejroe, Hardjo e Bratislava.

Os sorovares causadores de infecção no gado têm sido classificados em dois grupos: aqueles adaptados e mantido por outros bovinos (sorovar Hardjo), e incidental causado por cepas mantidas por outros domésticos e animais de vida livre (ELLIS, 1994, citado por ASLANTAS e ÖZDEMIR, 2005).

O sorovar Hardjo, o segundo mais freqüente nos soros bovinos deste estudo, por muitos anos não foi incluído na bateria de antígenos, deixando de ser identificado. Em uma ampla revisão bibliográfica realizada por LILENBAUM, (1996), foi observado que antes da década de 80, autores publicaram resultados de suas pesquisas sem incluir a sorovariante Hardjo. Após esta época, a sorovariante foi incluída nos exames sorológicos, representando uma alta positividade e evidenciando sua importância na pesquisa da doença em bovinos.

Até o presente momento não foram relatados casos de isolamento do sorovar Wolffi em bovinos, este fato faz com que autores considerem as altas porcentagens encontradas em rebanhos bovinos, relacionado a sua afinidade antigênica com as sorovariantes Hardjo, revelada pela alta taxa de reações cruzadas (ARAÚJO et al., 2005 e COSTA et al., 1998). Neste trabalho todas as amostras que apresentaram o sorovar Wolffi também continham o sorovar Hardjo, o que, de acordo com os autores acima citados, pode indicar reação cruzada entre estes sorovares.

Em 12 hemossoros bovinos foram detectados anticorpos contra 1 sorovar e em 5 amostras anticorpos contra 2 sorovares simultaneamente, com associação dos sorovares Hardjo + Wolffi 2,5% ($0,025 \pm 0,028$), Hardjo + Tarassovi 0,83% ($0,008 \pm 0,017$) e Hardjo + Saxkoebing 0,83% ($0,008 \pm 0,017$) (Figura 3 e Anexo IV). As proporções referentes às associações de mais de dois sorovares em uma determinada amostra foi igual a zero em todas as 5, indicando ocorrerem ao acaso, na espécie amostrada. A presença de dois ou mais sorovares em uma mesma amostra pode indicar a ocorrência de reação cruzada (BLAZIUS et al., 2005), portanto para identificar o sorovar mais provável de causar a infecção consideramos o que apresentou o maior título. Os sorovares mais prováveis de terem causado a infecção nas 17 vacas soropositivas foram Tarassovi (8) e Saxkoebing (3) seguidos por Wolffi (2), Hardjo (2), Copenhageni (1) e Hebdomadis (1). De acordo com este estudo, Tarassovi foi o sorovar mais provável de causar infecção em fêmeas bovinas de aptidão leiteira em Itaperuna.

São de grande importância medidas de controle e prevenção da leptospirose em bovinos para que sejam minimizados os prejuízos causados por esta doença na pecuária. Estão relacionados: baixa produtividade animal com diminuição da produção de leite e ganho de massa corporal, além dos problemas relacionados à esfera reprodutiva, que levam a prejuízos devido à diminuição ou não nascimento de filhotes nas propriedades acometidas.

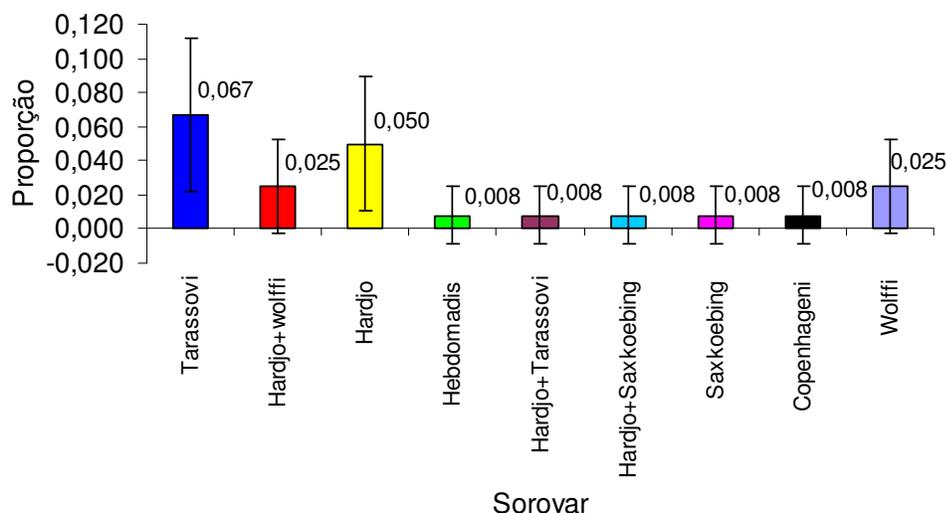


Figura 3. Proporção da distribuição dos resultados de Soroaglutinação Microscópica de amostras reagentes para o diagnóstico de leptospirose bovinos em Itaperuna – 2006.

Para humanos e caninos, o número de amostras utilizadas não foram representativa para o nível de significância ($\alpha = 5\%$) e para o desvio ($\alpha = 0,05 p$), fixados no presente trabalho. Sendo assim, a inferência na população destas espécies ficou prejudicada. Os dados obtidos, neste caso, servem apenas para indicar ou não a ocorrência significativa da presença de leptospirosas. Mais resultados deverá ser incorporado à amostra para a inferência, estatisticamente validada, em populações do Norte Fluminense.

A proporção de caninos não reagentes na SAM foi $0,800 \pm 0,301$. Os resultados indicam que a proporção de ocorrência da doença em cães é estatisticamente nula, ou seja, a presença da doença na região ocorre ao acaso. Entretanto, de acordo com os resultados podemos afirmar que, a leptospirose ocorre em cães de zona rural na Microrregião de Itaperuna e o intervalo de confiança da proporção, referente a soropositividade dos animais, possui um limite que passa pelo positivo. A presença do sorovar Canicola nos cães testados, pelo SAM, alerta para o risco da transmissão da doença para humanos e outros animais. Este fato foi discutido por MASCOLLI et al., (2002) em seu trabalho quando relataram a importância do cão como fonte de infecção para o homem e o fato de ser este o principal hospedeiro do sorovar Canicola, que apresenta uma adaptação ao tecido renal canino, podendo ser eliminado por um longo período de tempo.

Do total hemossoros analisados pela SAM, $0,200 \pm 0,301$ foram soropositivos para o sorotipo Canicola (Figura 4 e Anexo V).

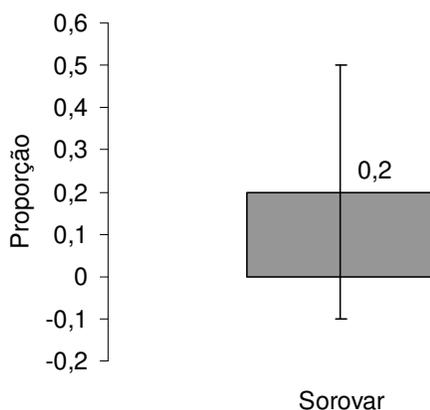


Figura 4. Proporção de aglutininas anti-leptospira em soros sanguíneos de caninos (títulos de anticorpos ≥ 100).

Foi observada por BLAZIUS, et al., (2005) uma taxa de 10,5% de soropositividade para *Leptospira* spp. em cães errantes em Itapema, Santa Catarina, tendo o sorotipo Canicola presente em 13,8% dos animais analisados. Em São Paulo, MASCOLLI et al., 2002 encontraram uma taxa de 15% de positividade pela SAM em cães errantes, com maior freqüência para os sorovares Copenhageni (24%), Canicola (16%) e Hardjo (16). Na Bahia, VIEGAS et al., 2001 identificaram como mais freqüentes em cães errantes os sorovares Autumnalis, Icterohaemorrhagiae e Canicola, com 85% de soropositividade, concluindo que mesmo com o aumento da freqüência de outros sorotipos na determinação da doença, *L. interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae e *L. interrogans* sorovar Canicola continuam com altos índices de prevalência em caninos. AGUIAR et al., 2007 encontrou 30,6% de animais de área rural reagentes, tendo como sorovares mais presentes, Autumnalis (22%), Pyrogenes (12%) e Canicola (10%). MAGALHÃES et al., (2006), observaram em Belo Horizonte, Minas Gerais uma sorovariedade de *Leptospira interrogans* mais prevalente do sorovar Canicola (7,0%) em 13,1% de positividade dos animais do Centro de Controle de Zoonoses, estes resultados se assemelham aos encontrados neste trabalho, embora não seja conclusivo, necessitando posteriormente de maiores análises.

Das propriedades observadas e que possuíam cães, apenas uma continha os animais soropositivos (Figura 1 e Anexo II).

A proporção de trabalhadores rurais não reagentes foi de $0,844 \pm 0,132$, dos 32 hemossoros investigados quanto à presença de aglutininas anti-leptospira; logo o número de reagentes foi de aproximadamente $0,156 \pm 0,132$, com probabilidade de 95% do intervalo conter esta proporção. Os nossos resultados demonstram a existência de soropositividade em trabalhadores rurais de propriedades rurais da Microrregião de Itaperuna, alertando para a presença da doença na população estudada. Os trabalhadores deste estudo tinham contato direto com bovinos de aptidão leiteira. Dentre os sorovares encontrados o Icterohaemorrhagiae 6,25% ($0,062 \pm 0,088$) e Australis 6,25% ($0,062 \pm 0,088$) foram os mais presentes em humanos, identificados neste estudo, seguido por Djasiman 3,125% ($0,0312 \pm 0,063$), Hardjo 3,125% ($0,0312 \pm 0,063$) e Hebdomadis 3,125% ($0,0312 \pm 0,063$) (Figura 5 e Anexo VI). A proporção de ocorrência destes sorovares na espécie humana foi estatisticamente nula, sendo a sua presença determinada ao acaso na região estudada.

Em Recife, Salvador e São Paulo o sorotipo Icterohaemorrhagiae foi identificado como agente causal em mais de 50,0% dos casos em humanos descritos (SILVA et al., 2003).

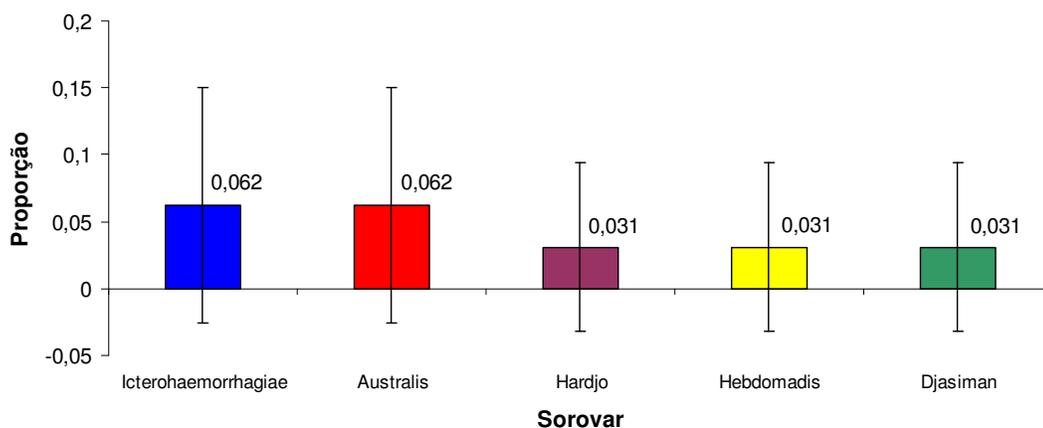


Figura 5. Proporção de aglutininas anti-leptospira em soros sanguíneos de humanos (títulos de anticorpos ≥ 100)

Alguns dos sorotipos encontrados em bovinos foram os mesmos encontrados em humanos de propriedades vizinhas como os sorotipos: Hardjo e Hebdomadis.

A proporção de ocorrer o sorovar Hardjo em humanos e bovinos é igual, devido ao intervalo de confiança ser sobrepostos. A proporção, nestas espécies, é diferente de zero, indicando que a ocorrência do sorovar Hardjo em humanos e em bovinos, em Itaperuna, não ocorre ao acaso. Estes resultados sugerem que possa ter havido uma contaminação entre espécies e talvez os bovinos, por ser considerado hospedeiro de manutenção para este sorovar, tenham alguma importância na transmissão para os trabalhadores rurais, que lidam direta e indiretamente com estes animais.

Considerando os trabalhadores rurais e as vacas, soropositivos para Hebdomadis, a proporção encontrada foi estatisticamente nula, indicando que a ocorrência se dá devido ao acaso, não existindo necessariamente um fator predisponente para o sorovar ocorrer nestas espécies na região estudada.

O estreito contato dos trabalhadores rurais com os animais, sem cuidados adequados, principalmente por se tratar neste trabalho de animais de exploração leiteira, pode fazer destes indivíduos susceptíveis a contrair zoonoses, conforme observado por GARCIA e NAVARRO, 2001 ao avaliar soros de 115 humanos. Dentre estas pessoas de zona rural e urbana, foi observada diferença significativa em relação aos pacientes que relataram ter auxiliado partos de animais; os autores sugerem que a população rural encontra-se mais exposta à infecção por leptospirosas, e que o auxílio a partos em animais pode ser um fator de risco.

BLACKMORE e SCHOLLUM, (1982) observaram como fatores relevantes para a soropositividade de trabalhadores rurais: o sexo do profissional, casos confirmados da doença no trabalho, história clínica da doença no gado, tipo de manejo do gado de leite, local de ordenha e vacinação do gado contra leptospirose.

O sorotipo Hardjo foi pela primeira vez isolado em humano por WOLFF em 1938, de um paciente que apresentava sinais clínicos da doença (HOMEM et al., 2001) e tem no bovino o seu hospedeiro de manutenção, este fato reforça a idéia de contaminação dos humanos pelos bovinos. ZAMORA et al., (1990), descrito por HOMEM et al., (2001) relatam em seu trabalho que o risco de exposição ao sorovar Hardjo em humanos está relacionado à caráter ocupacional, como consequência do contato com bovinos infectados, após demonstrar a soroprevalência deste sorovar em funcionários de matadouros e de fazenda.

Dos 5 hemossoros humanos soropositivos, foram detectados anticorpos contra 1 sorovar em 3 amostras e anticorpos contra 2 sorovares simultaneamente em 2 amostras, com associação dos sorovares Icterohaemorrhagiae + Australis 3,12% ($0,312 \pm 0,063$) e Australis + Djasiman ($0,312 \pm 0,063$) (Figura 6 e Anexo VII). Levando-se em consideração a possibilidade de reação cruzada, o sorovar mais provável de causar infecção foi Icterohaemorrhagiae, presente em duas amostras, seguido de Djasiman, Hardjo e Hebdomadis em uma amostra, cada.

Das propriedades estudadas foram encontradas 4 propriedades com pelo menos um humano soropositivo para leptospirose (Figura 1 e Anexo II). Este resultado identifica a presença da leptospirose em trabalhadores desta região e indica que medidas de controle e prevenção devem ser tomadas, para o controle da doença.

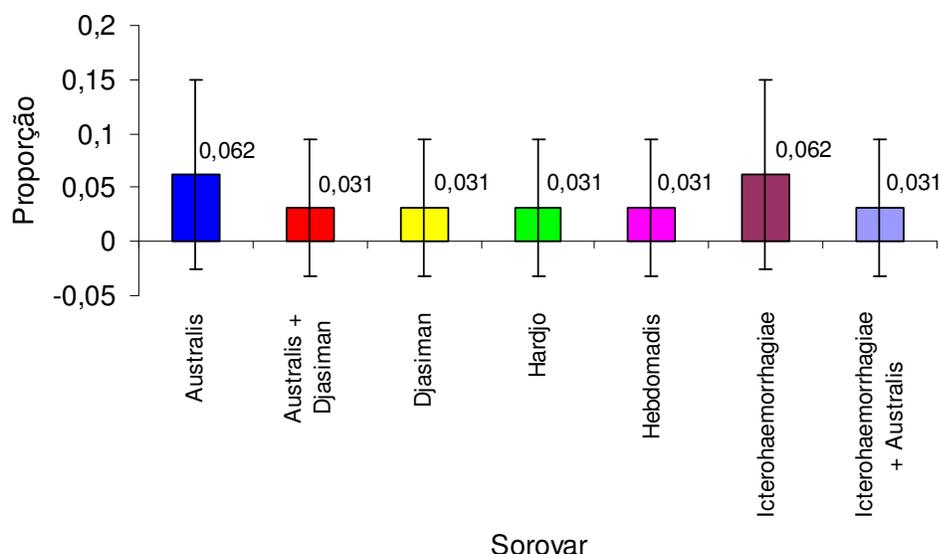


Figura 6. Proporção da distribuição dos resultados de Soroaglutinação Microscópica de amostras reagentes para o diagnóstico de leptospirose humana em Itaperuna – 2006.

No grupo de 32 amostras de humanos analisados pelo SAM, o teste imunoenzimático ELISA-IgM, foi negativo em 100%. Este resultado sugere que os indivíduos soropositivos não apresentavam títulos de IgM, portanto não tinham indícios de contato recente com a doença. CAMARGO et al., (1992) em seu trabalho

quando avaliou o teste ELISA-IgM no diagnóstico precoce da leptospirose humana, concluiu que o teste permite constatar a concomitância de leptospiremia e o aparecimento de anticorpos IgM, observando ser eficiente quando aplicado no diagnóstico precoce da leptospirose humana. O Instituto Bio-Manguinhos e FIOCRUZ consideram como grandes vantagens do teste a simples execução, possibilidade de automação, boa sensibilidade e especificidade (http://www.bio.fiocruz.br/interna/reativos_leptospirose.htm). De acordo com informações obtidas no serviço de atendimento ao cliente / departamento de relações com o mercado Bio-Manguinhos / Fiocruz, a produção do kit EIE-IgM-Leptospirose se baseia nas demandas do Ministério da Saúde, o qual faz a liberação do teste para diagnóstico. Este teste não foi adequado para investigações sorológicas em uma região, como realizado neste trabalho, onde são investigadas populações aleatórias e na maioria das vezes sem histórico clínico da doença.

Um dos grandes problemas observado na microrregião de Itaperuna como provável fonte de persistência da doença está relacionada à presença de um depósito de lixo próximo às propriedades rurais, o que pode vir a promover a expansão da população de roedores. Em 7 das 12 propriedades estudadas foram relatadas a existência de roedores, sendo estas soropositivas para leptospira na SAM (Anexo I). A presença de roedores pode promover a persistência da leptospirose nestas propriedades. O crescimento urbano desordenado e a grande quantidade de lixo espalhado sobre vias e terrenos baldios propiciam um ambiente ideal para a proliferação da população murina (FIGUEIREDO et al., 2001).

Outros fatores que podem contribuir para a presença da leptospirose em Itaperuna é a ocorrência de enchentes e alagamentos, que ocorrem nos períodos de altos índices pluviométricos na região, o que cria condições propícias para a permanência das leptospiros no ambiente.

A partir dos resultados obtidos poderá ser possível melhorar através da vigilância sanitária a sanidade do homem e dos animais, alertar os produtores rurais sobre a incidência da doença na região e deste modo poderão obter uma maior produtividade dos animais.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos pela Soroaglutinação Microscópica (SAM), a leptospirose está presente na zona rural da microrregião de Itaperuna – RJ. Animais e seres humanos da microrregião de Itaperuna encontram-se expostos à infecção por leptospirosas.

De acordo com a SAM a proporção de leptospirose em fêmeas bovinas de aptidão leiteira na Microrregião de Itaperuna é de 0,14. Este valor é considerável levando-se em conta os prejuízos econômicos relacionados com a doença, sendo assim, é de grande importância à implantação de medidas de prevenção e controle da doença na região.

A presença de sorovares iguais em bovinos e em trabalhadores pode sugerir a contaminação entre espécies.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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. (2007) 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.*, 59(1): 70-76.
- ANÔNIMO (2007) Leptospirose – Histórico da doença; (http://portal.saude.gov.br/portal/svs/visualizar_texto.cfm?idtxt=21733) em 05/07/2007, página mantida pelo Ministério da Saúde.
- ANÔNIMO (2007) Leptospirose; http://www.bio.fiocruz.br/interna/reativos_leptospirose.htm em 11/08/07, página mantida pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos.
- ARAÚJO, V.E.M., MOREIRA, E.C., NAVEDA, L.A.B., SILVA, J.A., CONTREEAS, R.L. (2005) Freqüência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sangüíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57(4):430-435.
- ARDUINO, G.G.C., GIRIO, R.J.S., FREIRE, M.M., FILHO, M.M. (2004) Anticorpos contra *Leptospira* spp. em bovinos leiteiros vacinados com bacterina polivalente comercial. Perfil sorológico frente a dois esquemas de vacinação. *Ciência Rural*, Santa Maria, 34: 865-871.
- ARSKY, M.L.N., ARRUDA, A.H. (2004) O contexto epidemiológico atual das doenças

- infeciosas e transmissíveis – Leptospirose; <http://dtr2001.saude.gov.br/svs/epi/situacaodoencas/situacao.htm#leptospirose> em 20/01/06, página mantida pelo Ministério da saúde e Secretaria de vigilância em saúde.
- ASLANTAS, Ö., ÖZDEMİR, V. (2005) Determination of the seroprevalence of leptospirosis in cattle by MAT and ELISA in Hatay, Turkey*. *Turk J. Vet. Anim. Sci.*, 29: 1019-1024.
- AVELLEIRA, J.C.R., REGAZZI, J.C., BOTTINO, G. (2006) Syphilis: diagnosis, treatment and control; *Anais Brasileiro de Dermatologia*. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s036505966200600020000&ing=en&nrm=iso em 29/01/07, página mantida pelo Scielo.
- BATISTA, C.S.A., AZEVEDO, VASCONCELLOS, S. T., MORAIS, Z.M., CLEMENTINO, I.J., LIMA, F.S., NETTO, J.O.A. (2004) Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos. *Vet Res Anim Sci*, Estado da Paraíba, Brasil. 41(2): 131-136.
- BLACKMORE, D. K.; SCHLUM L. M. (1982) Risks of contracting leptospirosis on the dairy farm. *The New Zealand Medical Journal*, 716(95): 649-652.
- BLAZIUS, R.D., ROMÃO, P.R.T., BLAZIUS, E.M.C.G., SILVA, O.S. (2005) Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil, *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 21(6): 1952-1956.
- BOLIN, C. A., KOELLNER, P. (1988) Human-to-Human Transmission of *Leptospira interrogans* by Milk. *The journal of infectious diseases*, 1(158):246-247.
- BOLIN, C.A. (2002) Leptospirosis posing new threat for canine hepatic, renal disease; www.dvmnewsmagazine.com em 02/10/05, página mantida pela dvm.
- BOURSAUX-EUDA, C. – *Leptospiraceae* Genomespecies Codes; <http://www.pasteur.fr/recherche/leptospira/leptospira.htm> em 27/03/2005, página mantida pelo Instituto Pasteur, França.
- BROD, C.S., ALEIXO, J.A.G., JOUGLARD, S.D.D., FERNANDES, C.P.H., TEIXEIRA, J.L.R., DELLAGOSTIN, O.A. (2005) Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito sorológico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38(4):

- 249-300.
- CAMARGO, E. D.; SILVA, M. V.; BATISTA, L.; VAZ, A. J.; SAKATA, E. E. (1992) Avaliação do teste ELISA-IgM no diagnóstico precoce da leptospirose humana. *Rev. Inst. Méd. trop. São Paulo*, 34(4): 355-357.
- COGHLAN, J. D., BAIN, A. D. (1969) Leptospirosis in human pregnancy followed by death of the foetus, *Br. Med. J.*, 1:228-230.
- CORDEIRO, F., GUIDA, H.G., RAMOS, A.A. MENDOZA, T.R. (1975) Aglutininas antileptospiras em soros de bovinos do estado do Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 10: 9-19.
- COSTA, M. C. R., MOREIRA, E. C., LEITE, R. C., MARTINS, N. R. S. (1998) Avaliação da imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 50 (1):11-17.
- DIAS, F.E.F., AOKI, S.M., MESQUITA, L.G., NUNES, C.M., GARCIA, J.F. (2006) Detecção de *Leptospira pomona* em sêmem bovino por eletroforese capilar fluorescente. *Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.*, 43(3): 394-399.
- EDWARDS, G. A.; DOMM, B. M. (1960) Human leptospirosis. *Medicine*, 39: 117-156.
- ELLIS, W.A. (1984). Bovine leptospirosis in the tropics: prevalence, pathogenesis and control. *Preventive Veterinary Medicine*, 2:411-421.
- ELLIS, W.A., MICHINA, S.W. (1976) Bovine leptospirosis: A serological and clinical study, *The Veterinary Record*, 99:387-391.
- ELLIS, W.A., THIERMANN, A.B. (1986) Isolation of leptospirae from the genital tracts of low cows. *American Journal of Veterinary Reserach*, 47(8): 1694-1696.
- ELLIS, W.A, O' BRIEN, J.J., NEILL, S.D., HANNA, J. (1982) Bovine leptospirosis: Serological findings in aborting cows. *Veterinary Record*, 110: 178-180.
- ESTEVES, F.M., GUERRA-NETO, G.; GIRIO, R.J.S.; SILVA-VERGARA, M.L.; CARVALHO, A.C.F.B. (2005) Detecção de anticorpos para *Leptospira* spp. em animais e funcionários do zoológico Municipal de Uberaba, MG. *Arq. Inst. Biol.*, 72(3): 283-288.
- FAVERO, M.F., PINHEIRO, S.R., VASCONCELLOS, S.A., MORAIS, Z.M., FERREIRA, F., FERREIRA NETO, J.S. (2001) Leptospirose bovina – Variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, 68(2): 29-35.

- FEIGIN, R. D., LOBES, L. A., ANDERSON, D., PICKERING, L. (1973) Human leptospirosis from immunized dogs. *Annals of international Medicine*, 79(6):777-785.
- FERESU, S.B., BOLIN, C.A., KORVER, H. A new leptospiral serovar, ngavi, in the Tarassovi serogroup isolated from Zimbabwe oxen, *Int J Syst Bacteriol* v.48, p.207
- FIGUEIREDO, C.M., MOURÃO, A.C., OLIVEIRA, M.A.A., ALVES, W.R., OOTEMAN, M.C., CHAMONE, C.B., KOURY, M.C. (2001) Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(4): 331-338.
- FREITAS, J.C., SILVA, F.G., OLIVEIRA, R.C., DELBEM, A.C.B., MULLER, E.E., ALVES, L.P., TELES, P.S. (2004) Isolation of *Leptospira* spp. from dogs, bovine and swine naturally infected, *Ciência rural*, 34(3):853-856.
- GARCIA, J.L., NAVARRO, I.T. (2001) Avaliação sorológica da leptospirose e brucelose em pacientes moradores da área rural do município de Guaraci, Paraná, Brasil, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(3): 299-300.
- GOGHLAN, J.D., BAIN, A.D. (1969) Leptospirosis in human pregnancy followed by death of the foetus. *British Medical Journal*, 1:228-230.
- GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA – leptospirose. (2002) *Fundação Nacional de Saúde*. 5. ed. Brasília: Funasa. 2: 542-556.
- HAGIWARA, M.K. (2003) Leptospirose canina - Boletim Técnico. *Pfizer Saúde Animal*, p.1-6.
- HOMEM, V.S.F., HEINEMANN, M.B., MORAES, Z.M., VASCONCELLOS, S.A., FERREIRA, F., NETO, J.S.F. (2001) Estudo epidemiológico da leptospirose bovina na Amazônia oriental brasileira, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(2): 173-180.
- IBGE (2005) - IBGE Cidades @; <http://www1.ibge.gov.br/cidadesat/.php> em 26/03/2007 página mantida pelo Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão.
- INADA, R., IDO, Y., HOKI, R., KANECO, R., ITO, H. (1915) The etiology, mode of infection, and specific therapy of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica, *Medical Clinic*, 1: 377-410.
- ITAPERUNAONLINE (2007) - Livros e Textos; http://www.itaperunaonline.com.br/livrosetextos/itaperuna_cide_secplan/11bibliografia.htm em 23/01/07 página mantida pelo governo do Estado do Rio de Janeiro SECPLAN – CIDE – RJ.

- JOUGLARD, S.D.D., BROD, C.S. (2000) Leptospirose em cães: Prevalência e fatores de risco no meio rural do município de Pelotas, RS. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, 67 (2): 181-185.
- JULIANO, R.S., CHAVES, N.S.T., SANTOS, C.A., RAMOS, L.S., SANTOS, H.Q., MEIRELES, L.R., GOTTSCHALK, S., FILHO, R.A.C.C. (2000) Prevalência e aspectos epidemiológicos da leptospirose bovina em rebanho leiteiro na microrregião de Goiânia – GO. *Ciência Rural*, Santa Maria, 30 (5): 857-862.
- KIM, S., LEE, D.S., SUZUKI, H., WATARAI, M. (2006) Detection of *Brucella canis* and *Leptospira interrogans* in canine sêmen by multiplex nested PCR, *Bacteriology* , 68(6):615-618.
- LEVETT, P.N. (2001) Leptospirosis. *Clinical Microbiology*, 14(2): 296-326.
- LILENBAUM, W. (1996) Atualização em leptospiroses bovinas. *R. bras. Med Vet.*, 18 (1): 9-13.
- LILENBAUM, W., SANTOS, M.R.C., BARBOSA, A.V. (1995) Leptospirose em produção animal: II – Bovinos do estado do Rio de Janeiro, *Revista Brasileira de Ciência Veterinárias*, 1(2): 1-6.
- LILENBAUM, W., SOUZA, G.N. (2003) Factores associated with bovine leptospirosis in Rio de Janeiro, in Brazil, *Research Veterinary Science* 75: 249-251.
- LILENBAUM, W., SANTOS, M.R.C. (1996) Effect of management systems on the prevalence of bovine leptospirosis. *Veterinary Record*, 138 (23): 570-571.
- LOMAR, A. V., VERONESI, R., BRITO, T., DIAMENT, D. (2002) Leptospiroses. In: VERONESI, R., FOCACCIA, R. *Tratado de Infectologia*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 1007-1023.
- MAGAJEVSKI, F.S., GÍRIO, R.J.S., MEIRELLES, R.B. (2007) Pesquisa de *Leptospira* em fetos de vacas abatidas no estado de São Paulo, Brasil, *Arq. Inst. Biol.*, 74(2): 67-72.
- MAGALHÃES, D.F.; SILVA, J.A.; MOREIRA, E.C.; WILKE, V.M.L.; HADDAD, J.P.A.; MENESES, J.N.C. (2006) Prevalência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 58(2): 167-174.
- MANUAL DE LEPTOSPIROSE (1997). *Fundação Nacional de Saúde*. 3. ed. Brasília: Gerência Técnica de Editoração, 2: 7-89.
- MASCOLLI, R., PINHEIRO, S. R., VASCONCELLOS, S. A., FERREIRA, F., PINTO, C. O., SUCUPIRA, M. C. A., DIAS, R. A., MIRAGLIA, F., CORTEZ, A., COSTA, S. S.,

- TABATA, R., MARCONDES, A. G. (2002) Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999, *Arq. Inst. Biol.*, 69(2): 25-32.
- MCDONOUGH, P.L. (2001) Leptospirosis in Dogs – Current Status; www.ivis.org, em 10/05/2006, página mantida pelo International Veterinary Information Service.
- MÉRIEN, F., AMOURIAUX, P., PEROLAT, P., BARANTON, G., GIRON, I.S. (1992) Polymerase Chain Reaction for Detection of *Leptospira spp.* in Clinical Samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(9):2219-2224.
- MOREY, R.E., GALLOWAY, R.L., BRAGG, S.L., STEIGERWALT, A.G., MAYER, L.W., LEVETT, P.N. (2006) Species-Species identification of Leptospiraceae by 16S rRNA gene sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(10): 3510-3516.
- OLIVEIRA, R.C., FREITAS, J.C., SILVA, F.G., SOUZA, E.M., DELBEM, Á.C.B., ALVES, L.A., MULLER, E.E., BALARIM, M.S., REIS, A.C.F., BATISTA, T.N., VASCONCELLOS, S.A. (2005) Diagnóstico laboratorial da leptospirose em um cão utilizando diferentes técnicas, *Arq. Inst. Biol.*, 72(1): 111-113.
- PAPPAS, G., CASCIO, A. (2006) Optimal treatment of leptospirosis: queries and projections, *Antimicrobial Agents*, 28:491-496.
- RODRIGUES, C.G., MÜLLER, E.E., FREITAS, J.C. (1999) Leptospirose bovina: Sorologia na bacia leiteira da região de Londrina, Paraná, Brasil, *Ciência Rural*, 29(2): 309-314.
- ROMERO, A.L., BERNARDO, C.C.M., YASUDA, P.H. (2003) Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop.S. Paulo*; São Paulo, 45(5): 245-248.
- SALLES, R.S., LILENBAUM, W. (2000) Leptospirose bovina no Brasil. *Rev. CFMV Suplemento Técnico*, Brasília/DF n. 21 p. 42-46.
- SCARAZZATI, L. Ministério da saúde acende alerta contra leptospirose; (<http://64.233.169.104/search?q=cache:3k36gyovkcmj:gl.globo.com/Noticias/brail/o>). em 06/08/2007, página mantida pela GLOBO.
- SELLARDS, A.W. (1940) The interpretation of (? *Spirochaeta*) *interrogans* of STIMSON (1907) in the light of subsequent developments. *Tropical Medicine and Hygiene*, 33(5): 545-548.
- SEYFFERT, N., SILVA, E.F., BERMUDEZ, V.L., BROD, C.S. (2003) Influence of temperature, incubation time, antigen density and age of the culture in agglutinability of leptospires, *Brazilian Journal of Microbiology*, 34(1)

- SHAKED, Y., SHPILBERG, O., SAMRA, Y. (1993) Leptospirosis in pregnancy and its effect on the fetus: case report and review. *Clinical Infectious Diseases* 17(2): 241-243.
- SILVA, H.R., TAVARES-NETO, J., BINA, J.C., MEYER, R. (2003) Leptospirose-infecção e forma subclínica em crianças de Salvador, Bahia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(2): 227-233.
- SISTEMA NACIONAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE – Relatório de Situação: Rio de Janeiro (2005) – Secretaria de Vigilância em Saúde. 1ª ed. Brasília: Ministério da Saúde 1-22.
- SONG, J.M., MOBLEY, J., VO-DINH, T. (2003) Detection of bacterial pathogen DNA using an integrated complementary metal oxide semiconductor microchip system with capillary array electrophoresis. *Journal of Chromatography*, 783:501-508.
- TALPADA, M.D., GARVEY, N., SPROWLS, R., EUGSTER, A.K., VINETZ, J.M. (2003) Prevalence of leptospiral infection in Texas cattle: implications for transmission to humans. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 3:141-147.
- TERRESTRIAL (2005) Animal health code; http://www.oie.int/eng/normes/en_mcode.htm em 15/08/06, página mantida pela Office International des Epizooties.
- TURNER, L.H. (1967) Leptospirosis I, *Tropical Medicine and Hygiene*, 61(6): 842-855.
- TURNER, L.H. (1969) Leptospirosis II, *British Medical Journal*, 1:231-235.
- TURNER, L.H. (1970) Leptospirosis III. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 64: 623-646.
- VANASCO, N.B., LOTTESBERGER, J., SEQUEIRA, M.D., TARABLA, H. (2001) Development and validation of an ELISA for the detection of leptospire-specific antibodies in rodents. *Veterinary Microbiology*, 82: 321-330.
- VIEGAS, S.A.R.A., TAVARES, C.H.T., OLIVEIRA, E. M. D., DIAS, E.R., MENDONÇA, F.F., SANTOS, M.F.P. (2001) Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de Salvador – Bahia, *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, 2(1): 21-30.
- WIKIPÉDIA. Wikipédia, a enciclopédia livre - Itaperuna; <<http://pt.wikipedia.org/w/index.php?title=Itaperuna&oldid=4686579>> em 23/01/ 2007, página mantida pela Wikipédia, a enciclopédia livre.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - ILS (2003) Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control.; ISBN 9241545895.
- YAN, K.T., MACKIE, D.P., TAYLOR, M.J., MACDOWELL, S.W.J., MONTGOMERY, J.M. (1999) Development of ELISA to detect to a protective lipopolysaccharide fraction of *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo in cattle. *Veterinary Microbiology*, 69:173.

7. ANEXOS

Anexo I

Questionário 2006

Incidência de leptospirose na Microrregião de Itaperuna

Data: _ / _ / _ . Propriedade: _____

Endereço: _____

Descrição da propriedade: _____

Proprietário: _____ Telefone: () _____ - _____

Tratador(es)

Nome	Idade	Contato com a doença

Bovinos

Nome	Raça	Idade	Problema reprodutivo	Obs.

Vacinas: _____

Coleta de lixo: _____ Rede de esgoto: _____ Presença de ratos: _____

Cães

Nome	Raça	Sexo	Idade	Vacinação	Obs.

Anexo II

Tabela 2. Avaliação de propriedades com pelo menos um soropositivo por espécie, para *Leptospira* spp., com títulos ≥ 100 , pela SAM.

Espécie	Porcentagem
Bovina	75%
Canina	14,28%
Humana	33,33%

Anexo III

Tabela 3. Proporção de aglutininas anti-leptospira em soros sanguíneos de bovinos.

Sorovariedade	Total de soros testados	*Total de soros reagentes	Porcentagem	Intervalo de confiança
Copenhageni	120	1	0,008	0,017
Hardjo	120	6	0,05	0,039
Saxkoebing	120	3	0,025	0,028
Tarassovi	120	8	0,067	0,045
Hebdomadis	120	1	0,008	0,017
Wolffi	120	3	0,025	0,028

*títulos de anticorpos ≥ 100 .

Anexo IV

Tabela 4. Proporção da distribuição dos resultados de Soroaglutinação Microscópica de amostras reagentes para o diagnóstico de leptospirose bovinos em Itaperuna – 2006.

Sorovariedade	Total de soros testados	*Total de soros reagentes	Proporção	Intervalo de confiança
Tarassovi	120	8	0,067	0,045
Hardjo+wolffi	120	3	0,025	0,028
Hardjo	120	6	0,050	0,039
Hebdomadis	120	1	0,008	0,017
Hardjo+Tarassovi	120	1	0,008	0,017
Hardjo+Saxkoebing	120	1	0,008	0,017
Saxkoebing	120	3	0,008	0,017
Copenhageni	120	1	0,008	0,017
Wolffi	120	3	0,025	0,028

Anexo V

Tabela 5. Proporção de aglutininas anti-leptospira em soros sangüíneos de caninos.

Sorovariedade	Porcentagem	Intervalo de confiança
Canicola	0,2	0,301

*títulos de anticorpos ≥ 100 .

Anexo VI

Tabela 6. Proporção de aglutininas anti-leptospira em soros sangüíneos de humanos.

Sorovariedade	Total de soros testados	*Total de soros reagentes	Proporção	Intervalo de confiança
Icterohaemorrhagiae	32	2	0,062	0,088
Australis	32	2	0,062	0,088
Hardjo	32	1	0,031	0,063
Hebdomadis	32	1	0,031	0,063
Djasiman	32	1	0,031	0,063

*títulos de anticorpos ≥ 100 .

Anexo VII

Tabela 7. Proporção da distribuição dos resultados de Soroaglutinação Microscópica de amostras reagentes para o diagnóstico de leptospirose humana em Itaperuna – 2006.

Sorovariedade	Total de soros testados	*Total de soros reagentes	Proporção	Intervalo de confiança
Australis	32	2	0,062	0,088
Australis + Djasiman	32	1	0,031	0,063
Djasiman	32	1	0,031	0,063
Hardjo	32	1	0,031	0,063
Hebdomadis	32	1	0,031	0,063
Icterohaemorrhagiae	32	2	0,062	0,088
Icterohaemorrhagiae + Australis	32	1	0,031	0,063

*títulos de anticorpos ≥ 100 .

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)