

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL**  
**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA -**  
**AMAZÔNIA ORIENTAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Wilson Rogério Rodrigues dos Santos

**INVESTIGAÇÃO SOROEPIDEMIOLÓGICA PARA BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE**  
**EM EQUÍDEOS DE TRACÇÃO E SEUS TRATADORES NOS MUNICÍPIOS DE BELÉM**  
**E ANANINDEUA - PARÁ**

Belém  
2007

Dados Internacionais da Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Biblioteca de Pós-Graduação do ICB-UFPA – Belém (PA)

---

Santos, Wilson Rogério Rodrigues dos

Investigação soroepidemiológica para brucelose e leptospirose em equídeos de tração e seus tratadores nos municípios de Belém e Ananindeua – Pará / Wilson Rogério Rodrigues dos Santos; orientador, Hilma Lúcia Tavares Dias . – 2007.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Do Pará, Centro De Ciências Agrárias; Universidade Federal Rural da Amazônia; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Belém, 2007.

1. Brucelose – Pará. 2. Leptospirose – Pará. 3. Teste imunoenzimático. I. Título.

CDD – 20. ed. 616.957

---

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL**  
**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –**  
**AMAZÔNIA ORIENTAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
  
**CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Wilson Rogério Rodrigues dos Santos

**INVESTIGAÇÃO SOROEPIDEMIOLÓGICA PARA BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE**  
**EM EQUIDEOS DE TRAÇÃO E SEUS TRATADORES NOS MUNICÍPIOS DE BELÉM**  
**E ANANINDEUA - PARÁ**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Orientador(a): Profa. Dra. Hilma Lúcia Tavares Dias.

Belém  
2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**NÚCLEO DE ESTUDOS EM CIÊNCIA ANIMAL**  
**EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA –**  
**AMAZÔNIA ORIENTAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**  
**CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Wilson Rogério Rodrigues dos Santos

**INVESTIGAÇÃO SOROEPIDEMIOLÓGICA PARA BRUCELOSE E LEPTOSPIROSE**  
**EM EQUIDEOS DE TRAÇÃO E SEUS TRATADORES NOS MUNICÍPIOS DE BELÉM**  
**E ANANINDEUA - PARÁ**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Amazônia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Data : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora:

\_\_\_\_\_  
Nome: Profa. Hilma Lúcia Tavares Dias  
Titulação: Doutora

\_\_\_\_\_  
Nome: Profa. Carla Cristina Guimarães de Moraes  
Titulação: Doutora

\_\_\_\_\_  
Nome: Profa. Nazaré Fonseca de Souza  
Titulação: Doutora

Belém

2007

Dedico este trabalho, em primeiro lugar, a uma força superior denominada “Deus”, sempre presente em todos os momentos de nossa existência.

Aos meus pais Wilson e Nereida por todo apoio, estímulo e dedicação a mim dispensados.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço à DEUS, que guia minha vida e inspira meu trabalho;

À minha orientadora Hilma Dias pelo apoio e dedicação dispensados;

À minha namorada Patrícia, à Yuka à minha irmã Aline pela ajuda indispensável!

À toda equipe do Laboratório de Sanidade Animal;

Obrigado às Professoras Nazaré Fonseca de Souza, Carla Cristina Guimarães de Moraes e Rosemar Silva Luz Campos, por aceitarem compor a banca de avaliação de minha dissertação.

A Coordenadora do Curso de Pós-Graduação Professora Sheyla Farhayldes Souza Domingues e aos integrantes da Coordenação da Pós-Graduação de Ciência Animal, pelo auxílio prestado a todos os pós-graduandos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro recebido durante o período de quatro meses de realização do mestrado.

Agradeço a todos os professores que me passaram uma fração de sua experiência e ampliaram meus conhecimentos durante todo o meu curso de mestrado.

E a todas as pessoas que me ajudaram diretamente ou indiretamente na concretização deste trabalho.

**Wilson Rogério Rodrigues dos Santos**

“Não é o desafio com que nos deparamos que determina quem somos e o que estamos nos tornando, mas a maneira como respondemos ao desafio.

Problema para vencer, liberdade para provar. E enquanto acreditamos no nosso sonho, nada é por acaso.”

(Henfil)

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi a detecção de anticorpos anti - *Brucella abortus* e anti - *Leptospira interrogans* em soros de eqüídeos e seus tratadores nos bairros das cidades de Belém e Ananindeua, abrangendo os meses de abril a agosto de 2005, utilizando para este fim, 195 soros sanguíneos de eqüídeos e 70 soros sanguíneos de homens que manipulavam os animais direta ou indiretamente. Para a pesquisa de animais sororeagentes à *B. abortus*, foram usadas as provas do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT) como teste de triagem e a Soro Aglutinação Lenta em Tubos (SAL) e o teste do 2-Mercaptoetanol (2-ME), como teste confirmatórios. Para a Leptospirose, foi utilizada a prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), sendo realizada a triagem dos soros frente à 25 sorovares de *L. interrogans*, considerando-se positivos aquelas amostras com titulação igual ou maior que 100. De 195 amostras de soros sanguíneos de eqüídeos, 184 (94,87%) foram positivas para todos os sorovares analisados, sendo que os mais frequentemente encontrados foram: Patoc, Automnalis, Ictehaemohragiae, Pyrogenes e Bratislava. Para as amostras sanguíneas de homens, a positividade foi de 49 (70%) de soros reagentes, com os sorovares Patoc, Ictehaemohragiae, Bratislava, Butembo, Copenhageni e Automnalis os mais detectados. Das amostras positivas de animais e seus respectivos tratadores, 47/70 (67,14%) foram semelhantes para os mesmos sorovares de *Leptospira spp.*, sendo que 2/70 (2,86%) amostras foram negativas em ambos os grupos pesquisados, 2/70 (2,86%) foram somente positivas em homens e 19/70 (27,14%) foram exclusivamente positivas nas amostras de soros de eqüídeos. Os bairros do Coqueiro, Guamá, 40 horas, Barreiro e Bengui apresentaram a maior percentagem de casos soropositivos. Não houve diferença significativa em relação às outras variantes estudadas, como: idade (animal e homem), tempo de serviço (animal e homem), espécie do animal, escore corporal do animal e grau de instrução do homem. Tanto nos animais quanto nos homens não foram detectadas reações positivas para *B. abortus*.

**Palavras-Chave:** Leptospirose, Brucelose, Eqüídeos, Humanos.

## ABSTRACT

The objective of the work was the detection of antibodies anti - *Brucella abortus* and anti - *Leptospira interrogans* in serum of equines and equine workers of the quarters of the cities of Belém and Ananindeua, enclosing the months from April to August of 2005, using for this end, 195 sanguineous serum of equines and 70 sanguineous serum of men that manipulated the animals direct or indirectly. For the research of reagents serum of animals to *B. abortus*, the tests used had been Antigen Acidified Test (AAT), as a selection test, and slow seroagglutination (SAL) and the 2-mercaptoetanol (2-ME) as confirmatory tests. To Leptospirosis, the test used was of microscopical seroagglutination being carried through the selection of the serum front to the 25 serovars of *L. interrogans*, considering positive those samples with titulation equal or bigger that 100. Of 195 samples of equine sanguineous serum, 184 (94.87%) had been positive for all serovars analyzed, being that more frequent found: Patoc, Automnalis, Ictehaemohragiae, Pyrogenes and Bratislava. For the sanguineous samples of men, the positivity was of 49 (70%) of reacting serum, with the most detected serovars: Patoc, Ictehaemohragiae, Bratislava, Butembo, Copenhageni and Automnalis. Of the positive samples of equine and its respective workers, 47/70 (67.14%) were similar for same serovars of *Leptospira spp.*, being that 2/70 (2.86%) samples had been negative in both the searched groups, 2/70 (2.86%) were only positive in humans and 19/70 (27.14%) were exclusively positive in the samples of equine serum. The quarters of Coqueiro, Guamá, 40 horas, Barreiro and Bengui had presented the biggest percentage of positive cases serum. It did not have significant difference in relation to the other studied variants, as: climate, age (animal and man), time of service (animal and man), species of the animal, props up corporal of the animal and degree of instruction of the man. As much in the animals how much in the men positive reactions for *B. abortus* had not been detected.

**Key-Words:** Leptospirosis, Brucellosis, Equine, Humans.

## LISTA DE TABELAS

	<b>Pág.</b>
<b>TABELA 1:</b> Soropositividade dos equídeos perante os antígenos vivos que incluiu 25 sorovares de <i>Leptospira sp.</i> .....	40
<b>TABELA 2:</b> Distribuição da frequência de resultados positivos segundo a titulação na prova de Soro Aglutinação Microscópica para os 25 sorovares de <i>L. interrogans</i> em amostras de soros de equídeos nas cidades de Belém e Ananindeua – PA, 2005.....	41
<b>TABELA 3:</b> Distribuição espacial e frequência dos animais que apresentaram positividade para sorovares de <i>L. interrogans</i> de acordo com os bairros de 2005.....	42
<b>TABELA 4:</b> Distribuição e frequência dos animais que apresentaram soropositividade para sorovares de <i>L. interrogans</i> de acordo com a idade de trabalho no local.....	43
<b>TABELA 5:</b> Distribuição da frequência de resultados positivos segundo a titulação na prova de Soro Aglutinação Microscópica para diferentes sorovares de <i>L. interrogans</i> em amostras de soros de homens nas cidades de Belém e Ananindeua – PA, 2005.....	45
<b>TABELA 6:</b> Distribuição espacial e frequência dos humanos que apresentaram positividade para sorovares de <i>L. interrogans</i> de acordo com os bairros, 2005.....	46
<b>TABELA 7:</b> Distribuição e frequência de soros humanos positivos e negativos entre homens e seus respectivos animais.....	47
<b>TABELA 8:</b> Distribuição dos homens que apresentaram positividade para sorovares de <i>L. interrogans</i> de acordo com o tempo na profissão.....	47

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	<b>Pág.</b>
<b>QUADRO 1:</b> Relação das leptospiros patogênicas utilizadas como antígeno na reação de soroaglutinação microscópica (SAM).....	35
<b>FIGURA 1.</b> Porcentagem de amostras reagentes e não reagentes para <i>L.interrogans</i> .....	39
<b>FIGURA 2.</b> Porcentagem de amostras reagentes e não reagentes para <i>L. interrogans</i> .....	44

## SUMÁRIO

	<b>Pág.</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	14
2.1 BRUCELOSE.....	14
2.1.1 Brucellas.....	14
2.1.2 Epidemiologia.....	15
2.1.3 Patogenia.....	17
2.1.4 Sintomas.....	19
2.1.5 Diagnóstico Laboratorial.....	20
2.1.6 Controle e Prevenção.....	21
2.2 LEPTOSPIROSE.....	22
2.2.1 Leptospiras.....	22
2.2.2 Epidemiologia.....	23
2.2.3 Patogenia.....	26
2.2.4 Sintomas.....	27
2.2.5 Diagnóstico Laboratorial.....	28
2.2.6 Controle e Prevenção.....	30
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	31
3.1 OBJETIVO GERAL.....	31
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	31
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	32

<b>4.1 MATERIAIS.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1.1 Amostras.....</b>	<b>32</b>
<b>4.1.2 Soros Sanguíneos.....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
<b>4.2.1 Leptospirose.....</b>	<b>34</b>
<b>4.2.2 Brucelose.....</b>	<b>36</b>
<b>4.2.3 Análise Estatística.....</b>	<b>38</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
<b>5.1 Leptospirose.....</b>	<b>39</b>
<b>5.2 Brucelose.....</b>	<b>48</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>49</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO A.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO B.....</b>	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença causada por bactérias do gênero *Leptospira*, é tida como zoonose de ampla distribuição geográfica, podendo ser transmitida pelo: solo, água, alimentos e animais domésticos e silvestres, tendo o homem considerado doente ocupacional, se contaminado por do contato direto ou indireto com animais doentes (FAINE *et al.*, 1999).

Considerando todos os municípios do Estado do Pará principalmente as grandes cidades como Belém e Ananindeua, somente 37,7% da população têm acesso à rede de esgoto e 42,6% a água tratada, o que contribui para a cadeia de transmissão da leptospirose (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, CENSO 2000, RADOSTITS, *et al.* 2000).

A ameaça à saúde humana causada pela bactéria *Brucella abortus*, assim como por outras espécies de *Brucella*, não tem sido estimada, considerando-se a falta de relatos e de serviços diagnósticos para brucelose humana (POESTER, 2002).

A doença é associada a certos grupos ocupacionais e ingestão de alimentos, apresentando importante significado na saúde coletiva, particularmente nas regiões onde a doença humana ainda ocorre como decorrência da doença animal (YOUNG, 1995).

O trabalho em questão aborda a pesquisa da brucelose e a leptospirose, em equídeos de tração que circulam na cidade de Belém e Ananindeua, e seus respectivos manobristas, tratadores e demais pessoas que tenham contato direto com estes animais.

A abordagem destes animais trafegantes em Belém e Ananindeua, a fim de pesquisar o nível de infecção de brucelose e leptospirose, doenças que causam riscos a saúde humana, é necessária, pois é estimada a existência cerca de 3000 carroceiros, segundo Companhia de Transportes de Belém (Ctbel), bem como os profissionais que os manuseiam. O “Programa Carroceiro”/ Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), auxilia no cumprimento da Lei municipal 8168/2002, juntamente com Companhia de Transportes de Belém (Ctbel), Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) e a Secretaria Municipal de Meio Ambiente (SEMA) realizam o serviço de cadastro e adequação do veículo (segundo o código de trânsito brasileiro).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 BRUCELOSE

#### 2.1.1 Brucellas

Bactérias chamadas *Brucella sp*, são cocobacilos ou bacilos Gram-negativos que não formam cápsulas nem esporos, são imóveis e medem 0,4 a 2,5µm de comprimento por 0,4 a 0,8µm de largura (JOKLIK *et al.*, 1994).

Podem ser encontrados isolados ou raramente unidos aos pares ou ainda formando pequenos grupos, chegando a viver no solo por 40 a 60 dias. Em certos alimentos tais como o leite a temperatura de 10°C sobrevivem por 10 dias e em derivados do leite como queijo até seis meses. São classificados em biotipos ou tipos diferenciados bioquimicamente em função das necessidades de gás carbônico (CO<sub>2</sub>), produção de ácido sulfídrico (H<sub>2</sub>S), crescimento em presença de fucsina ou tionina e aglutinação frente a soros monoespecíficos (CORRÊA e CORRÊA, 1992).

Além de contaminar os bovinos, ela pode contaminar outras espécies de animais tais como: suínos, caprinos, ovinos, cães e equinos. A maioria destas espécies pode transmitir a doença ao homem. Existem seis espécies distintas de *Brucellas*, sendo que os equinos podem ser infectados pelas *Brucellas abortus, suis e melitensis*. O homem é susceptível a quatro delas, sendo que o grau de patogenicidade obedece a seguinte ordem: *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* e *B. canis*. As espécies *B. ovis* e *B. neotame* são considerados não patogênicos ao homem. Os reservatórios naturais da *B.abortus*, *B. suis*, *B. melitensis*, *B. ovis* e *B. canis* são respectivamente bovinos, suínos, caprinos, ovinos e cães (ACHA e SZYFRES, 2001).

As espécies de *Brucellas* microscopicamente classificadas como lisas ou clássicas: *B. abortus* e *B. melitensis* produzem os antígenos denominados A e M (*A abortus* e *M melitensis*), a

*B. suis* possui ambas, enquanto que as *B. canis* e *B. ovis*, consideradas como mucóides ou rugosas não possuem antígenos de parede e seu antígeno é considerado R (rugosa). A composição antigênica das Brucellas é importante, pois entre as lisas há reação antigênicas cruzadas completas no teste de aglutinação, sendo produzidos soros monoespecíficos A e M, bem como essa reação cruzada ocorre com outros tipos de microorganismos como: *Pasteurella*, *Franciella*, *Proteus*, *Vibrio*, *Campylobacter*, *Leptospira*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *E. coli* e *Yersinia* (MOLNÁR *et al.*, 1997; NIELSEN *et al.*, 2004).

### 2.1.2 Epidemiologia

Os bovinos, caprinos, ovinos são infectados pela *Brucella*, quando em contato direto com as pastagens contaminadas de secreções de fêmeas que abortaram ou quando em contato com a urina dessas fêmeas, sendo esta a principal fonte de contaminação em equinos quando criados em conjunto com estas espécies, a via de transmissão venérea é bem mais suscetível aos cães e suíno (CORRÊA e CORRÊA, 1992)

O primeiro caso da existência de brucelose no Brasil relatada por Mello e Neiva (1930), que encontraram um índice de 38,27% de reações positivas examinando, 81 soros bovinos na Fazenda Modelo, Nova Odessa, São Paulo, com resultados comprovados pelo isolamento do agente causal. No estado do Pará, o primeiro relato de infecção por *Brucella* no homem e no gado, foi descrito por Causey & Azevedo em 1947.

Estudos mostram que a brucelose bovina está disseminada por todo o território brasileiro, com maior ou menor prevalência dependendo da região estudada. Em 1975, foram verificadas as seguintes prevalências em animais, por regiões: Sul, 4%; Sudeste, 7,5%; Centro-Oeste, 6,8%; Nordeste, 2,5% e Norte, 4,1%. Atualmente na região Norte, os rebanhos bovinos apresentam taxa de prevalência da infecção brucélica cinco vezes maior que a média nacional (BRASIL, 1996).

Na pesquisa realizada 18 municípios do Estado do Paraná em 60 Fazendas de criação de gado bovino, foram examinados 1716 soros de animais submetidos a regime extensivo de criação, onde 16,49% foram reagentes positivos para brucelose (PALMQUIST, 2001). Durante

análise de 916 bovinos no município de Ilhéus – BA em 2000 se encontrou um percentual de 1,9% de positividade para brucelose (RIBEIRO *et al.*, 2003a).

A ocorrência da brucelose eqüina é cosmopolita, sendo que o quadro epidemiológico varia segundo os hábitos e práticas zootécnicas; a principal fonte de contaminação em eqüinos no Brasil é o contato direto com bovinos infectados, seja através da ingestão de pastagens contaminadas com a bactéria ou através da utilização de agulhas, seringas e materiais cirúrgicos não esterilizados, práticas freqüentes no meio rural. Outra fonte freqüente de transmissão da doença é por aleitamento artificial de potros quando se utiliza leite cru de vacas contaminadas. A transmissão sexual da doença é considerada bastante rara, mas a sua ocorrência não deve ser descartada (LANGENEGGER e SZECHY, 1961; OLIVEIRA *et al.*, 1973; JARDIM *et al.*, 1978; SFSENT-IVANYI e MESZÁROS, 1985).

Viana *et al.*, (1981) em estudo da freqüência de eqüinos soropositivos para brucelose, analisou 810 amostras de animais procedentes de várias cidades do Estado de Minas Gerais, detectando 0,61% de casos positivos.

Mathias, *et al.*, (1997) em pesquisa de anticorpos para *Brucella* sp em 100 eqüinos abatidos em frigorífico em MG em 1994 encontraram 18,04% de animais positivos.

Alfinito *et al.* (1984) durante o ano de 1981, pesquisaram anticorpos contra *B. abortus* em 44 municípios do Estado do Pará, utilizando 3663 amostras de soro eqüino usando as provas de soroaglutinação rápida e lenta, no qual 1,02% foram positivos. Ainda no mesmo Estado, Dias (2000) pesquisou em 1179 amostras eqüinas vindos de 11 municípios do Estado do Pará, durante o ano de 1997, empregando seis formas de diagnóstico laboratorial: rosa bengala, soroaglutinação rápida e lenta, fixação de complemento, ELISA competitivo e indireto; obtendo 26,38% de positividade em pelo menos uma prova.

Mundialmente estima-se que 500.000 casos de brucelose humana aconteçam anualmente e que apenas 4% do total dos casos são revelados visto que a grande maioria dos casos não é comunicada ou detectada (BRUNO *et al.*, 1994; ARAJ e AZZAM, 1996; CORBEL, 1997). Em países onde não se tem controle nos programas de controle da doença em rebanhos bovinos, a brucelose continua a ser um grave problema de saúde pública (BALDI *et al.*, 1996).

A brucelose ao homem é usualmente transmitida pela ingestão de produtos lácteos não pasteurizados ou pelo contato direto com animais infectados, sendo considerada como doença ocupacional (MIYASHIRO *et al.*, 2003). A ingestão de carne é uma origem de infecção pouco

habitual, visto o número de bactérias no músculo ser baixo e raramente ser consumida carne crua (ENRIGHT, 1990). Dependendo das regiões e hábitos de consumo de gêneros alimentícios derivados do leite, o contágio humano por contato direto com animais e/ou suas secreções representa 60 % dos casos, a ingestão de produtos não pasteurizados representa 25% (SYRJAMAKI, *et al.*, 1984). A contaminação de profissionais mediante a manipulação de algumas classes da vacina B19, que é patogênica ao homem, bem como acidentes laboratoriais envolvendo o uso de cepas da bactéria não podem ser descartados (Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose - PNCEBT, 2006).

O primeiro caso de brucelose humana, relatada no Brasil ocorreu em 1913. Entre 1930 e 1950, houve o aumento de relatos da doença em diversos estados do Brasil sendo que a maioria dos casos foi essencialmente uma fatalidade ocupacional, ocorrendo primariamente entre trabalhadores de abatedouros e processadores de carne (POESTER, 2002).

Miyashiro *et al.* (2003) descreve um caso da doença em um fazendeiro de 54 anos com quando clínico de discite, através da coleta de material retirado das vértebras (L3-L4), foi possível fazer o isolamento do agente causal *Brucella* sp, sendo posteriormente confirmado através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) se tratar da espécie *B. abortus*.

Na cidade de Belém – PA no ano 1998 foram examinados 383 amostras de soros humanos para brucelose entre estes: 80 trabalhadores de matadouro, 87 estudantes de medicina veterinária, 79 de estudantes secundaristas, 23 veterinários e 114 pacientes de laboratórios públicos, onde as taxas mais elevadas foram encontradas em trabalhadores de matadouro (23/80 28,7%) e veterinários (3/23 13%) (FONSECA *et al.*, 1999).

### **2.1.3 Patogenia**

A infecção por *Brucella* nos animais induz no hospedeiro uma resposta imune, tanto humoral como também celular, sendo que a magnitude e a duração desta resposta podem ser afetadas por fatores como: virulência da amostra, inóculo, idade, sexo, gestação, estado imune e espécie animal (SUTHERLAND, 1980; WHO, 1986).

Com a contaminação e estabelecimento do sítio primário de infecção, as bactérias são carregadas para os linfonodos regionais, provocando linfadenite aguda. A *B. abortus* se multiplica no interior dos fagócitos e se dissemina principalmente pela via hematogênica para outros órgãos ou tecidos, como baço, linfonodos, útero e glândula mamária. Nos machos, o patógeno pode ser encontrado principalmente nos testículos e nas glândulas sexuais acessórias além dos tecidos linfóides. A bacteremia pode durar meses e em casos de doença crônica, é intermitente, recorrendo principalmente na época do parto (COTTORELO *et al.*, 2006). As brucelas são capazes de causar cronicidade devido a sua capacidade de bloquear os mecanismos de defesa do hospedeiro por sobreviver intracelularmente (NIMRI, 2003).

A infecção do útero gestante pelas brucelas ocorre por via hematogênica, atraídas pelo hormônio eritritol (não produzido por éguas e mulheres). As brucelas multiplicam-se inicialmente no trofoblasto do placentoma, infectando células adjacentes, levando a uma reação inflamatória da placenta, há infecção do feto, de igual modo por via hematogênica. As lesões placentárias raramente atingem todos os placentomas apenas em partes. As lesões inflamatório-necróticas de placentomas, que impedem a passagem de nutrientes e oxigênio da mãe para o feto, assim como provocam a infecção maciça do feto por *B. abortus*, causando o aborto. Com o desenvolvimento de imunidade celular após o primeiro aborto, há uma diminuição do número e do tamanho das lesões de placentomas nas gestações subseqüentes. Com isso, o aborto torna-se infreqüente, aparecendo outras manifestações da doença, como, por exemplo, a retenção de placenta, a natimortalidade ou o nascimento de bezerros fracos (CORRÊA e CORRÊA, 1992, THADEI, 2006).

Tanto no homem como nos animais, a infecção natural estimula o aparecimento simultâneo ou ligeiramente diferenciado de imunoglobulinas (Ig) das classes IgM e IgG. Durante a evolução da doença, ocorre o declínio e tendência de desaparecimento da IgM, enquanto a IgG se estabelece e persiste. O desaparecimento da IgG significa, geralmente, a eliminação da infecção (CASAS OLASCOAGA, 1976; JOKLIK *et al.*, 1994). Em bovinos classificados como positivos para brucelose, Beh (1974) encontrou que a maioria das Ig séricas pertencia à subclasse IgG1, com pequenas quantidades da classe IgM, mas Molnár *et al.* (1997) encontrou Ig do tipo IgG2 e IgA. As IgM e IgG1 são identificadas num prazo de uma semana, alcançando quantidades máximas entre duas e três semanas e com declínio após cerca de um ano.

Ariza *et al.*, (1992) examinaram 75 pacientes por dois anos, sendo que 62 foram positivos através de cultura e 13 por provas sorológicas. Após aplicação do teste ELISA para acompanhamento de 63 pacientes tratados após um ano, foram encontrados 25% para IgM, 69% IgA e 89% IgG.

#### 2.1.4 Sintomas

Em equinos a doença pode se manifestar sob três formas: forma assintomática ou latente, onde a infecção é curada ou sofre evolução; formas localizadas com sintomas gerais onde ocorre a septicemia com hipertermia de duração variável, passando após fase aguda para febre ondulante, observando-se ainda depressão, rigidez muscular, claudicações discretas ou aparentes e; formas puramente localizadas, com lesões articulares sugestivas que são representadas por inflamações em ligamentos, bursites cervicais, nucais e interescapulares, popularmente denominadas "mal da cernelha", "mal da cruz", "mal da nuca" ou "abscesso de cernelha", sendo a *B. abortus* a principal responsável por este último tipo de lesão (LANGENEGGER e SZERCHY, 1961; DENNY, 1973; COHEN *et al.*, 1992; MATHIAS *et al.*, 1998; RADOSTITS *et al.*, 2000).

Segundo Vasconcellos *et al.*, (1987) a doença oferece raros transtornos da esfera reprodutiva em eqüinos, porém há ocorrência abortamentos, mas os mesmos não estão ligados diretamente as espécies de brucelas que acomete o animal como causadoras do processo abortivo, mas em função das outras sintomatologias provocadas pelas bactérias, porém Denny, 1973 e Carrigan e Cockram, 1987 já isolaram *B. abortus* em éguas com problemas de infertilidade e abortamento.

Em seres humanos, os sintomas de brucelose são inespecíficos, sendo o seu início agudo ou subagudo, geralmente após duas a quatro semanas da inoculação (YOUNG, 1995).

Na fase aguda há sinais clínicos como: febre (remite, intermitente, irregular ou ondulante), sudorese profunda, anorexia, astenia, constipação, náuseas, vômitos, tosse seca, alterações comportamentais, humor depressivo, alterações do sono os achados físicos podem ser

algo esparsos; a ocorrência de adenomegalias não dolorosas e móveis, hepatomegalia indolor e esplenomegalia, é rara ocorrendo em apenas 20-30% dos casos (COLMENERO *et al.*, 1996).

Considera-se brucelose crônica quando a infecção persiste por um período superior a dois meses, esta resulta de localizações persistentes de infecção, sendo caracterizada por títulos séricos persistentemente altos de imunoglobulina (IgG) (PELICE *et al.*, 1988; GAZAPO *et al.*, 1989). Nesta fase em 20-60% dos casos ocorrem lesões com localizações osteo-articulares de forma assimétrica, sobretudo nas grandes articulações de carga: coluna lombar, articulação sacro-ílica, articulação coxo-femural, joelho e articulação tíbio-társica (YOUNG, 1995).

Das localizações genitais, as mais frequentes são a orquite e a orqui-epididimite, que ocorre em até 20% dos homens. Nas mulheres, observam-se raros casos de salpingite, cervicite e abscesso pélvico (SEOUD, *et al.*, 1991).

Spinola e Costa (1972) pesquisaram 128 soros de funcionários de um matadouro frigorífico na cidade de Salvador – BA, encontrando 10,58% de sorologia positiva para a brucelose; o tempo de serviço foi uma variável levada em conta, pois dos positivos 55,55 % trabalhavam a mais de cinco anos no local, porém nenhum dos positivos apresentou quaisquer sinais clínicos da doença.

Neto *et al.*, (1999) relatam um caso positivo para brucelose em humano trabalhador de fazenda com aparecimento de abscesso esplênico durante o curso da doença.

Os sintomas clínicos da brucelose humana não fornecem informações suficientes para a conclusão de um diagnóstico decisivo para a doença, pois são inespecíficos e se assemelham as de outras doenças (MOLNÁR *et al.*, 1997; NIMRI, 2003).

### **2.1.5 Diagnóstico Laboratorial**

Como métodos diretos para diagnóstico da brucelose tanto animal como no homem o isolamento do microrganismo é o método diagnóstico mais seguro, mas, em virtude das dificuldades deste procedimento e da sua limitação para uso em grandes escalas, os métodos sorológicos são os mais utilizados (ALTON *et al.*, 1976; SUTHERLAND, 1980; NIMRI, 2003).

A demonstração da bactéria *Brucella*, pode ser obtida com o uso de coloração de Koster e/ou imunofluorescência direta que possibilitam demonstrar o patógeno mesmo que o material esteja contaminado por outras bactérias, ou através do cultivo *in vitro* com gás carbônico a 10% e ágar sangue (MOLNÁR, *et al.*, 1997).

A detecção do DNA da *Brucella* pela técnica de PCR é preconizada como um dos melhores testes para se empregar em diagnóstico em seres humanos por ser rápida e específica (MATTAR *et al.*, 1998; NIMRI, 2003; MIYASHIRO, 2003).

O teste de ELISA indireto vem sendo indicado como excelente teste para o diagnóstico e acompanhamento da brucelose em seres humanos, pois é capaz de detectar até 99% de reações positivas para IgG e 68% para IgM, quando em comparação com os testes sorológicos clássicos (COLMENERO *et al.*, 1994).

No Brasil, dentre os métodos indiretos ou sorológicos mais empregados no diagnóstico da doença em eqüinos são: o teste de Soroaglutinação Lenta em Tubo (SAL), 2-Mercaptoetanol (2-ME), Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), Fixação de Complemento (FC) e Ensaio Imunoenzimático – ELISA (LANGONI & SILVA, 1997; MATHIAS, *et al.*, 1998). O uso do teste de AAT é recomendado para se fazer triagem quando há indícios da doença mediante presença de sintomas característicos em eqüinos (MEGID *et al.*, 2000; RIBEIRO *et al.*, 2003).

### **2.1.6 Controle e Prevenção**

A prevenção da brucelose no homem está diretamente ligada ao controle e erradicação em animais (CORRÊA e CORRÊA, 1992). O diagnóstico precoce em humanos, a aplicação de um melhor programa de fiscalização sanitária, programas educacionais adicionais como para a orientação do consumo de leite pasteurizado, de carnes que tenham passado por serviço de inspeção e o preparo das mesmas de forma ideal (cozimento), são medidas essenciais para uma prevenção satisfatória (MIYASHIRO, 2003).

Em pesquisa realizada no município de Dumont – São Paulo em 1975 em seres humanos consumidores de leite bovino “*in natura*” proveniente de rebanhos suspeitos para brucelose, Souza

*et al.* (1976) encontraram 8% de animais contaminados para a doença, porém nenhum dos humanos foi positivo, devido ao hábito da fervura do leite antes do consumo.

Embora já tenham sido usadas vacinas vivas atenuadas e vacinas criadas a partir de subunidades da *Brucella* para se tentar conferir imunidade ao homem, estas demonstraram pouca utilidade prática, por conferirem proteção para as formas mais graves por um período inferior a dois anos e riscos elevados no caso se tratando de vacinas vivas (CORBEL, 1997).

A principal medida de prevenção e controle da brucelose em eqüinos é a realização de exames sorológicos periódicos, principalmente com animais que convivem com outros rebanhos, especialmente bovinos, em áreas onde a enfermidade é endêmica (YADAV *et al.*, 1991; LANGONI e SILVA, 1997).

O PNCEBT introduziu a vacinação obrigatória contra brucelose bovina e bubalina (B19) em bezerras com idade entre três a oito meses de idade em todo o território nacional e definiu uma estratégia de certificação de propriedades livres onde essas enfermidades serão controladas com grande rigor, o programa de vacinação é regulamentado pela instrução normativa SDA nº 06, de 08 de janeiro de 2004. Existem as vacinas atenuadas (RB51) que futuramente serão empregadas para conferir imunidade em fêmeas adultas, com a vantagem de não interferirem no diagnóstico sorológico da doença (PNCEBT, 2006).

## 2.2 LEPTOSPIROSE

### 2.2.1 Leptospiras

A leptospirose é uma zoonose de ampla distribuição geográfica existindo em todos os cinco continentes habitados, principalmente em países de áreas de clima tropical, subtropical e zonas temperadas. Acomete animais domésticos e silvestres, sendo que o homem adquire a doença por contato direto ou indireto com mesmos, considerada doença ocupacional (ELLIS, 1995; PEREZ *et al.*, 1998; FAINE *et al.*, 1999).

A doença é causada por bactérias membros da ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae*, gênero *Leptospira*, tradicionalmente o gênero *Leptospira* é subdividido em 200 sorovares com base nas diferenças antigênicas, o sorovar é a base taxonômica da classe *Leptospira*. Todos os sorovares patogênicos eram classificados como (*L. interrogans* sensu lato) sendo divididas em 12 espécies: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. kirschneri*, *L. alstoni*, *L. santarosai*, *L. fainei*, *L. alexanderi*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. meyeri* e *L. wolbachii* com 26 sorogrupos e 255 sorovares e os não patogênicos eram incluídos na espécie *L. biflexa* (ELLIS, 1995; VIGNARD- ROSEZ & ALVES, 2006; PASTEUR INSTITUTE, 2006).

As leptospiros são bactérias aeróbias obrigatórias, espiraladas flexíveis e móveis, medindo de cerca de 6-20µm de comprimento 0.1 à 0.15µm de diâmetro, envolvidas por uma membrana externa entre o envelope e a membrana citoplasmática onde estão dois filamentos axiais independentes, cada um, prendendo-se na extremidade do microorganismo. Estas bactérias têm um ótimo crescimento a uma temperatura de 28 a 30°C e pH de 7,2 a 7,6, sendo bastante sensíveis a variações destas temperaturas, umidade e pH, como ao uso de desinfetantes com pH abaixo de 6 e acima de 11. São visualizadas através de microscópio de campo escuro ou de contraste de fase e, se corados por corantes argênicos (BEER, 1988; VERONESI, 1991; PARMA *et al.*, 1997; VASCONCELLOS *et al.*, 1997).

### **2.2.2 Epidemiologia**

Muitas espécies de mamíferos e mesmo animais de sangue frio podem ser hospedeiros naturais dos sorovares de *Leptospira sp.*, disseminando a infecção entre outros animais e o homem. A importância econômica e epidemiológica da leptospirose em animais domésticos, incluindo o contato próximo a relação ecológica com o homem tem sido relatada em diversos países (ROMERO, 1994).

A bactéria *Leptospira* é largamente distribuída no ambiente geralmente por estar presente nos túbulos renais de mamíferos, principalmente de roedores domésticos (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*) e sendo excretadas na urina frequentemente por vários meses deste

modo contaminando solo água e alimentos. A persistência da bactéria no ambiente depende de condições favoráveis como: clima temperado e úmido, solos saturados de água e pH neutro, tornando viável a sobrevivência de leptospiras por até 180 dias, no entanto, só resistem 30 minutos quando ar e solo estão secos e variações de pH (alcalino, ácido). No solo em condições médias, a sobrevivência da *L. interrogans* provavelmente é de no mínimo 42 dias. Aerossol de urina em estábulos, leite e sêmen de animais infectados podem ser fontes de infecção (FARIAS, 1999; RADOSTITS, *et al.* 2000).

A ratazana de esgoto (*Rattus norvegicus*) é o principal vetor e disseminador da doença no meio urbano. Este se contamina com a *Leptospira* e não desenvolve a doença clínica e passam a eliminá-las por longo período principalmente pela urina, e tendo esses roedores o hábito de beber e comer no próprio local que urinam, esta passa a ser a fonte principal de contágio para animais e o homem. Por causa da importância da água como meio de disseminação da infecção, casos novos são mais prováveis de ocorrer nas estações úmidas e em áreas de baixadas, especialmente quando a contaminação e a suscetibilidade são altas. A espécie de leptospira sorovariante Hardjo possui alta prevalência durante período chuvoso, mas o sorovariante Pomona é muito mais comum em áreas com baixas precipitações pluviométricas (THADEI, 2006).

No Brasil de modo geral em diversas espécies animais, a prevalência e incidência para a enfermidade pode ser de 50% a 87% de acordo com as zonas geográficas e os climas; como a exemplo de áreas como o pantanal, onde a incidência de positividade pode variar de 10 a 85% na população bovina (MAZONELLI, 1993, VASCONCELLOS *et al.*, 1996, PELLEGRIN, 2001).

Giorgi *et al.* (1981), relataram o primeiro isolamento de *Leptospira* spp. em equinos no Brasil, a partir de um feto abortado onde provavelmente o sorovar implicado foi o Icteroaemorrhagiae.

Romero *et al.* (1994), em estudo realizado em fazendas pertencentes ao Instituto Butantã em São Roque – São Paulo, pesquisou a positividade para *L. interrogans* em 922 soros de equinos produtores de soros terapêuticos, empregando o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) com o uso de 23 sorovares. Nos resultados obtidos 81,7% das amostras foram positivas com títulos variando de 100 a 6400, e dentre os sorovares utilizados somente o Tarassovi não foi encontrado, sendo que os mais frequentes foram: Icterohaemorrhagiae 73,3%, Autumnalis 28,7%, Brasiliensis 23%, Copenhageni 19,8% e Pyrogenes 18,9%.

Lilenbaum, (1998) nos anos de 1993 a 1996 pesquisou pelo teste de SAM sete sorotipos de *Leptospira* aplicados em 547 soros eqüinos com problemas reprodutivos no Estado do Rio de Janeiro. Foram encontradas 235 amostras (42,96%) positivas para um ou mais sorovares com títulos mínimos de 100, sendo o sorovar Icterohaemorrhagiae o mais freqüente (43,40%), seguido do Bratislava (27,23%) e Pomona (14,47%).

Dias, (2000) analisou 1116 amostras de soros de eqüídeos através da prova de SAM e ELISA indireto, em diversos municípios no Estado do Pará, incluindo a Ilha do Marajó e animais de haras, sendo o sorovar Hardjo de uma forma geral mais difundido 7,97%.

FAVERO *et al.* (2002) realizaram um estudo sorológico em várias espécies animais, inclusive a eqüina (2903 animais), nos estados do Paraná, Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Mato Grosso, Paraíba e Rio Grande do Sul entre os anos de 1984 e 1997, abrangendo cerca de 15558 exames onde foram encontrados 29% de soros positivos para o sorovar Icterohaemorrhagiae, 66,6% para Grippytyphosa, 47,8% para Pyrogenes e 47,7% para Patoc.

Na cidade de Goiânia - Goiás Linhares, *et al.*, (2005) pesquisaram a prevalência para *L. interrogans* em 182 amostras de eqüinos, aplicando a prova de SAM utilizando 16 sorovares, sendo obtida positividade para amostras com títulos a partir de 100, onde 82 (45,05%) foram reagentes para um ou mais sorovares, sendo que os sorovares mais encontrados foram: Icterohaemorrhagiae (68,29%), Pomona (13,41%), Wolffii (8,53%), Hardjo (6,09%) e Canicola 3,65%.

ELLIS (1995), PEREZ *et al.* (1998) e FAINE *et al.* (1999) concordam que a transmissão a seres humanos é feita de modo acidental, pelo contato com animais contaminados ou secreções dos mesmos, sendo esta a forma mais comum para residentes de áreas rurais e profissionais da área zootécnica; em regiões urbanas a falta de infra-estrutura em saneamento e conhecimentos de higiene apropriados são as principais vias contaminantes.

Em estudo realizado no Estado do Rio Grande do Sul, Barcellos *et al.* (2003) relataram 1274 casos de leptospirose humana, registrados no ano de 2001 em áreas rurais com a presença de lavoura irrigada, sugerindo a existência de características ecológicas favoráveis à transmissão da leptospirose em locais de proliferação de roedores e animais sinantrópicos.

Costa *et al.* (2001) também relataram associação da ocorrência de leptospirose em 1016 pacientes de 1993 a 1997 na cidade de Salvador, Bahia ligada a um fator ecológico favorável, no

caso o aumento do índice pluviométrico aliado à falta de condições higiênicas sanitárias adequadas na região estudada.

Homem *et al.* (2001) em estudo no município de Uruará – PA e arredores, pesquisaram a epidemiologia para leptospirose em humanos e bovinos no ano de 1999, encontrando a prevalência de 97% em bovinos, sendo os sorovares mais frequentes: Hardjo (61,2%), Bratislava (9%) e Shermani (4,5%); em humanos os positivos representaram 32,8%, sendo os sorovares Bratislava (9%), Hardjo (6%) e Griptophosa (4,5%) os mais frequentes, sugerindo a ocorrência da transmissão animal / homem.

Sakata, *et al.* (1992) relataram o isolamento de *L. interrogans* em pacientes hospitalizados na cidade de São Paulo entre os anos de 1986 a 1989; dos 18 sorovares usados no teste 14 foram encontrados, sendo que o sorovar Copenhageni obteve frequência de 100% dentro dos casos positivos do sorogrupo Icterohaemorrhagiae.

### **2.2.3 Patogenia**

As leptospirosas podem penetrar no corpo pelas mucosas conjuntiva, nasal, oral e esofágica, intestino delgado e genitais. Elas também podem adentrar pela pele íntegra, dependendo do tempo de imersão em água contaminada, ou através de ferimentos. Após penetração há disseminação hematogênica (CORRÊA e CORRÊA, 1992).

A infecção se caracteriza por dois estágios: o primeiro, onde ocorre uma bacteremia que pode variar entre quatro a dez dias após a infecção inicial, ocorrendo a invasão de órgãos internos e; o segundo estágio, que coincide com o alto nível de anticorpos no soro e o decréscimo dos patógenos circulantes detectáveis no sangue e tecidos, estes por sua vez sobrevivem em sítios como: humor aquoso dos olhos (causando uveíte) e útero, onde pode chegar a penetrar em fetos causando morte fetal com reabsorção, abortamento ou prole fraca, mas caso a infecção no feto ocorra no terceiro trimestre pode ocorrer formação de anticorpos específicos que superam a manifestação da doença. Em ambos os casos, a severidade da infecção depende da cepa infectante

e da resposta imune do hospedeiro, aparentemente sendo a única defesa contra as leptospiiras circulantes (THIERMAN, 1984; SELLNOW, 1999).

As leptospiiras também podem se localizar nos rins, mais precisamente no lúmen dos túbulos proximais, causando nefrite intersticial e, em algumas vezes, proliferam-se nas meninges; em todos estes tecidos, a atuação dos anticorpos é diminuída (HOGAN *et al.*, 1996).

#### **2.2.4 Sintomas**

A infecção em eqüinos, embora normalmente assintomática, oscila entre a forma aguda e crônica, sendo que a incubação varia de alguns dias a três semanas (BEER, 1988).

A principal característica sintomatológica da doença são alterações oculares como: opacidade de córnea, oftalmia periódica e uveíte recorrente (URE), sendo que as espécies mais envolvidas neste tipo de lesão são as *L. interrogans*, sorovares: Pomona, Hardjo, Canicola, Tarassovi, Sejroe, Icterohaemorrhagiae e Grippothyphosa (MATTHEWS, 1987; DWYER *et al.*, 1995; PARMA *et al.*, 1997).

A URE é caracterizada por episódios de inflamação intra-ocular que se desenvolvem após semanas ou meses após o episódio inicial declinar. A forma aguda da doença envolve predominantemente uma inflamação da íris, corpo ciliar e coreóide, com envolvimento da córnea, humor aquoso, cristalino, retina e humor vítreo, sendo observados sinais clínicos como: fotofobia, edema de córnea, lacrimejamento e miosise. Já a fase crônica inclui os seguintes sinais clínicos: fibrose de íris e hiperpigmentação, catarata, degeneração e descoloração de cristalino e degeneração retinal peripapilar, levando a cegueira (GILGER, 2003).

Podem ser observados outros sinais sistêmicos não específicos em eqüinos, como: letargia, pirexia, anorexia, icterícia, meningoencefalite e disfunção renal (HANSON *et al.*, 1969; VERMA *et al.*, 1977; THIERMANN, 1984; MATTHEWS, 1987).

Abortamentos são uma das características mais observadas em eqüinos contaminadas por leptospirose, sendo presente em éguas que geralmente não apresentam outros sinais clínicos e podem ocorrer após o terceiro mês de gestação, mas são mais frequentes após o sexto mês

(BERNARD *et al.*, 1993; WILLIAMS, *et al.*, 1994). Os sorovares Australis, Pomona, Hebdomadis e Icterohaemorrhagiae já foram isolados de fetos eqüinos abortados (ELLIS *et al.*, 1983).

Os sintomas em humanos são muito variáveis, desde casos leves praticamente assintomáticos, até outros com cefaléia, febre, vômitos, mal-estar em geral, petéquias cutâneas, conjuntivite, às vezes icterícia, meningite, encefalite e, em casos raros, até a morte, se a doença progredir sem diagnóstico. São reconhecidas duas formas clínicas em humanos: a anictérica, que pode ser discreta, sendo frequentemente rotulada de “síndrome gripal” ou “virose” e a icterica, forma mais grave com disfunção renal, fenômenos hemorrágicos, alterações hemodinâmicas, cardíacas, pulmonares e de consciência, associadas às taxas de letalidade que variam de 5% a 20%. Qualquer sorovar pode determinar as diversas formas de apresentação clínica, sendo que alguns estão mais comumente relacionados a casos mais graves, como o sorovar Icterohaemorrhagiae (COSTA *et al.*, 2001).

### 2.2.5 Diagnóstico Laboratorial

A *Leptospira* pode ser diagnosticada através da urina, fluidos corporais e tecidos pela observação microscópica ou técnica de imunofluorescência. O diagnóstico sorológico pode ser feito por fixação de complemento (FC), ELISA e soroaglutinação microscópica (SAM). A identificação pode ser ainda realizada por pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (GRAVEKAMP *et al.* 1993, STING e DUTRA, 1994, WOODWARD *et al.* 1997).

A prova de eleição para o diagnóstico da leptospirose, em laboratórios de referência, é a soroaglutinação microscópica (SAM) considerada mundialmente como "padrão ouro", pois pode ser utilizada em regiões onde há predominância de determinados sorovares (BRANDÃO *et al.*, 1998).

O teste de SAM detecta anticorpos das classes IgG e IgM com uma sensibilidade de 30% na fase aguda da doença, onde os títulos para as duas classes de Ig aumentam para 63% na

segunda fase da doença e chega a 76% na fase convalescente, a especificidade do teste atinge 97% em todas as fases da infecção (CUMBERLAND *et al.*, 1999).

A titulação de anticorpos pode variar consideravelmente em eqüinos até meses após a exposição, além de poder ocorrer reações cruzadas entre os diferentes sorogrupos de *L. interrogans* dificultando o diagnóstico correto, mas durante pesquisa realizada em éguas que tiveram abortos recorrentes, constatou-se um aumento nos títulos sorológicos com o emprego da prova SAM, sendo este fator considerado característico para diagnóstico (TROEDSON, 1997).

Segundo Favero *et al.* (2002), nas aplicações de testes sorológicos para o diagnóstico de leptospirose deve-se considerar algumas questões como: a escolha da prova confirmatória; da coleção de antígenos utilizada, pois para um diagnóstico mais preciso deve ser levado em conta a prevalência de certos sorovares em certas regiões; da reação antígeno e anticorpo, pois há existência de reações cruzadas entre sorovares e outras doenças como babesia e brucelose. Das variáveis relacionadas à localização, áreas consideradas endêmicas devido a fatores como saneamento básico precário, período do ano em que as coletas foram efetuadas, em função da maior ou menor precipitação pluviométrica e pela espécie animal, por algumas serem reservatórios naturais para alguns sorovares.

Durante o ano de 1996 na cidade de Salvador – Bahia, Caldas *et al.* (1997), pesquisaram 780 amostras de soros de seis espécies animais diferentes, entre elas 139 eqüinos, sendo usados os testes de SAM, onde se fez uso dos sorovares Canicola e Pomona e o teste de macroaglutinação, ambos apresentando resultados similares em eqüinos com concordância de 91,4%.

Sting e Dura (1994) comparando as provas de SAM e ELISA em soros de bovinos, eqüinos e suínos para a detecção de positividade para leptospirose, demonstraram que os resultados encontrados foram semelhantes. Molnár *et al.* (2000) compararam os mesmos testes aplicados em 96 humanos doentes e sadios provindos da cidade de Belém e da área rural do Estado do Pará, 48 caninos e 131 bovinos, sendo que os resultados positivos para SAM e ELISA respectivamente foram: no homem 60,4% e 77,1%, caninos 62,5% e 79,1%, bovinos 74,7% e 74,7%, concluindo que a prova de ELISA é apta para se examinar grandes números de amostras em curto prazo, mas não é apto a substituir a prova de SAM.

### **2.2.6 Controle e Prevenção**

Devido à grande variedade de hospedeiros e à ineficácia em detectar portadores assintomáticos, os programas de controle tornam-se difíceis de serem empregados. A adoção de medidas sanitárias e higiênicas é muito importante, como evitar a exposição a águas paradas, a animais invertebrados/transmissores, bem como tornar como rotina a desinfecção dos locais onde estiverem os animais suspeitos de serem portadores e o isolamento de animais infectados (CORRÊA e CORRÊA, 1992; BARWICK *et al.*, 1997; SELLNOW, 1999).

A vacinação não confere imunidade permanente e não está disponível para eqüinos e seres humanos no Brasil. Em alguns países é utilizada a vacinação contra sorotipos específicos em pessoas sob exposição ocupacional em áreas de alto risco. Mesmo vacinando-se os animais para se evitar a doença, não há o impedimento da transmissão para seres humanos (MARTINS e CASTIÑEIRAS, 2006).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a presença de aglutininas anti - *Brucella abortus* e anti – *Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de eqüídeos e seus tratadores provenientes dos bairros da região metropolitana de Belém e Ananindeua - PA.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a proporção de soropositividade para *L. interrogans* e *B. abortus* em amostras de soros sanguíneos de eqüídeos e homens dos bairros das cidades de Belém e Ananindeua;
- Demonstrar quais os bairros da região metropolitana de Belém e Ananindeua, com positividade para Leptospirose e Brucelose;
- Analisar se o clima, idade, sexo, escore corporal, espécie, tempo de serviço e grau de instrução dos grupos pesquisados influenciam na positividade para ambas enfermidades.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 MATERIAIS**

#### **4.1.1 Amostras**

No período compreendido de abril a agosto de 2005, foram analisados 195 eqüídeos de ambos os sexos, inclusive machos inteiros e castrados, sem raça definida com idades variando entre um a 25 anos, oriundos de vários bairros de Belém e Ananindeua. Por meio de um questionário padronizado, coletaram-se informações sobre as variáveis climáticas e outras relacionadas aos animais e aos seus tratadores. ANEXO A.

Foram coletadas 70 amostras de indivíduos com idades variando de 12 a 65 anos que possuíam contato direto com os animais através da atividade de condutor, tratador ou dono, que executavam a atividade por um período de três meses a 30 anos. A coleta das amostras foi realizada por um profissional biomédico, com prévia autorização do paciente. ANEXO B.

Todos os indivíduos apresentavam escolaridade que variava do analfabetismo ao ensino médio completo, vivente com dois ou mais membros familiares, possuindo uma renda familiar, entre um a dois salários mínimos.

As amostras dos animais receberam a seguinte distribuição: em Belém do total de 143 eqüídeos, 17 pertenciam ao bairro do Barreiro, 18 do Bengui, 11 do Condor, 16 da Cremação, 20 do Guamá, 6 do Jurunas, 11 da Marambaia, 4 do Marco, 7 da Pratinha, 3 da Sacramento, 7 do Tapanã, 2 do Telégrafo, e 21 do bairro da Terra firme. Na região de Ananindeua, foram analisados 52 animais, sendo 19 oriundos do bairro de 40 horas, 32 do Coqueiro e um animal do Icuí Guajará. Proporcionalmente, 2,48% destes animais eram destinados à reprodução e 97,52% para tração, servindo de meio de transporte para materiais de construção de estâncias ou fretes.

Com relação a amostras de sangue dos tratadores, do total das amostras analisadas na cidade de Belém, foram utilizadas 47 amostras, sendo que 5 pertenciam ao bairro do Barreiro, 8 do Bengui, 1 do Condor, 5 da Cremação, 7 do Guamá, 8 da Marambaia, 2 do Marco, 2 da Pratinha, 3 da Sacramenta, 3 do Tapanã, e 3 do bairro da Terra firme. Em Ananindeua, foram analisados 23 pacientes, sendo 6 oriundos do Bairro de 40 horas, 16 do Coqueiro e um indivíduo do Icuí Guajará.

#### **4.1.2 Soros Sanguíneos**

As amostras de sangue dos eqüídeos foram coletadas puncionando a veia jugular direita ou esquerda com agulha 40x12 mm, após previa assepsia com álcool iodado. O material coletado foi acondicionado em tubos de ensaio estéril de 20ml sem anticoagulante e com tampa de borracha sendo posteriormente mantidos sob refrigeração entre 4° a 8°C até a chegada ao Laboratório de Sanidade Animal da UFPA para a realização das análises.

Para as análises o sangue foi centrifugado a 1500 rpm durante 5 minutos para a retirada do soro e em seguida o material foi armazenado em tubos com capacidade para 1ml e estocados a –20°C até o momento da realização dos testes sorológicos.

As amostras de sangue humano foram coletadas da veia mediana com auxílio de um tubo de ensaio estéril vacum timer de 5 ml sem etileno-diamino-tetra-acetato disódico (EDTA). No Laboratório de Sanidade Animal da UFPA, as amostras foram centrifugadas para a dessoração e o soro foi posteriormente em tubos com capacidade para 1ml e estocados a –20°C até o momento da realização dos testes sorológicos.

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Leptospirose

No teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1995), foram usados antígenos vivos de cepas de *Leptospira spp.*, mantidas em meio de EMJH (Ellinghausen, MacCullough, Johnson & Harris) enriquecido com o meio de enriquecimento Enrichment (DIFCO). Os antígenos passam por um controle de qualidade tanto macro como microscopicamente, para se determinar densidade, pureza e auto-aglutinações que são indicadores de contaminantes que interferem na leitura.

**QUADRO 1.** Relação das leptospiras patogênicas utilizadas como antígeno na reação de soroadglutinação microscópica (SAM).

<b>CODIGO</b>	<b>SOROGRUPO</b>	<b>VARIANTE SOROLÓGICA (SOROVARES)</b>
1-A	Australis	Australis
1-B	Australis	Bratislava
2-A	Autumnalis	Autumnalis
2-B	Autumnalis	Butembo
3	Ballum	Castellonis
4-A	Bataviae	Bataviae
5	Canicola	Canicola
6	Celledoni	Whitcombi
7	Cynopteri	Cynopteri
8	Grippothyphosa	Grippothyphosa
9	Hebdomadis	Hebdomadis
10-A	Icterohaemorrhagiae	Copenhageni
10-B	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae
11	Javanica	Javanica
12	Panamá	Panamá
13-A	Pomona	Pomona
14	Pyrogenes	Pyrogenes
15-B	Sejroe	Wolffi
15-C	Sejroe	Hardjo
16	Shermani	Shermani
17	Tarassovi	Tarassovi
18	Andamana	Anadamana
20	Seramanga	Patoc
St	Djasiman	Sensot
Mini	Mini	Mini

a) Técnica

Foi realizada a triagem, diluindo-se o soro para teste em uma titulação de 50 em solução salina tamponada (SST) de pH 7,2.

Em placas de poliestireno com 12 colunas e oito linhas totalizando 96 poços foi colocado 50µl de soro diluído em cada poço; adicionando em seguida 50µl de antígeno, atingindo uma diluição de 1:100, após breve homogeneização a placa foi incubada em estufa à 28-30°C por duas horas; fez-se uso de soros controle positivo e negativo.

Durante a leitura foram consideradas as seguintes interpretações conforme o grau de aglutinação no campo visual: 1+ (25% de leptospiras aglutinadas), 2+ (50% de leptospiras aglutinadas), 3+ (75% de leptospiras aglutinadas) e 4+ (100% de leptospiras aglutinadas), sendo que somente foi realizada a titulação para as amostras que aglutinaram de 50 a 100%.

Na titulação realizada a partir da diluição 1:50, prepararam-se mais nove diluições, consecutivas ao dobro, sendo considerado positivo a reação na diluição mais alta do soro que aglutinou 50% ou mais.

#### **4.2.2 Brucelose**

A prova do antígeno acidificado tamponado (AAT) é utilizada para a triagem dos soros, sendo realizada de acordo as recomendações de MacMillan e Stack (2000), no qual foi preparado com o antígeno (*B. abortus*) na concentração de 8%, tamponado em pH ácido (3,65) e corado com o Rosa de Bengala, adquirido do laboratório TECPAR-PR.

##### **a) Técnica**

Em uma placa de vidro padronizada foram depositados 30µl de soro a ser testado, lateralmente a este soro foram depositados mais 30µl de antígeno acidificado corado pelo Rosa-bengala, e em seguida foi feita a homogeneização de ambos girando a placa por 4 minutos seguidos, logo após foi realizada a leitura. Para os soros controle positivo e negativo, foi utilizada amostra positiva e negativa ao teste do 2-Mercaptoetanol.

Com a formação de grumos na reação o soro testado foi considerado positivo, sendo que a intensidade desta determina o grau de positividade da amostra. A reação foi considerada como negativa quando não houve formação de grumos.

As provas de Soroaglutinação lenta (SAL) e de 2-Mercaptoetanol (2-ME) foram realizadas segundo ALTON, 1976.

#### b) Procedimento

Para realizar estas técnicas foi usado um antígeno de suspensão inativada de *B. abortus*, cepa 119-3 na concentração de 4,5%, para cada amostra de soro testado, usaram-se duas fileiras de quatro tubos 13x100 mm, sendo cada fileira identificada ao número do soro, bem como o tipo de teste, na primeira fileira foi realizado o teste de prova lenta devidamente identificado por SAL, a segunda foi destinada ao teste de 2-ME, cada tubo dos dois testes receberam diluições dos soros a testar nas proporções de: 1:10, 1:20, 1:40 e 1:80, em cada fileira houve o acréscimo de tubos com soro controle positivo com título de 200 ou superior para o SAL e negativo para o 2-ME, acrescentando o controle do antígeno no teste.

Com o auxílio de uma pipeta graduada, foi adicionado em cada tubo para o teste SAL 2ml de solução salina fenicada (a 0,5%) com o antígeno diluído na proporção 1:100, fazendo-se a homogeneização com movimentos leves circulares. Nos tubos do teste 2-ME com uma outra pipeta foi acrescentado 1ml de solução salina de 2-ME a 0,1M, diluição esta feita em salina não fenicada. Após diluição ficaram em repouso durante 30 minutos em temperatura ambiente, para em seguida adicionar aos tubos 1ml de antígeno diluído na proporção 1:50 em solução salina sem fenol. Logo após foi realizada a homogeneização e posteriormente incubados em estufa a 37°C por 48 horas.

A leitura foi realizada por meio da observação das reações em campo escuro e opaco; as interpretações se basearam no grau de aglutinação do complexo antígeno/anticorpo bem como na firmeza dos grumos, após agitação suave. Para a classificação foram considerados como positivos (+) quando solução da mistura soro/antígeno aparecia límpido e por meio da agitação suave os grumos não se rompiam; incompleto (I) quando a mistura apresentava-se parcialmente clara e os grumos não se rompiam; negativo (-) quando a mistura apresenta-se turva e sem grumos.

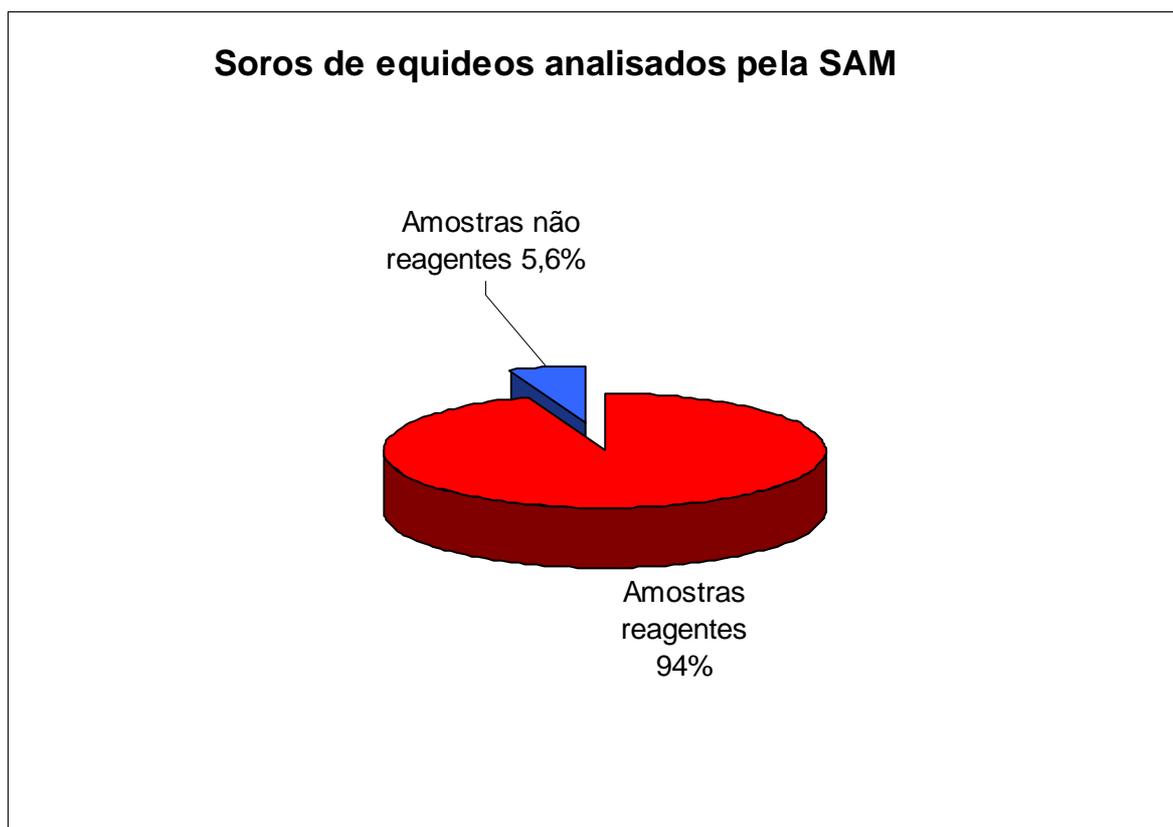
### **4.2.3 Análise Estatística**

Para a análise estatística foi aplicado o Teste qui-quadrado com o objetivo de determinar a diferença entre os resultados obtidos (positivo e negativo) nos dois grupos estudados, tanto para a Brucelose como para a Leptospirose, analisando as variáveis como idade do animal, tempo de serviço do homem, grau de instrução, escore corporal do animal e bairro. Em todas as análises foi estabelecido em 5% o nível de significância (Siegel, 1975).

## 5 RESULTADOS

### 5.1. Leptospirose

Nos resultados das provas de soroaglutinação microscópica, dos 195 soros de eqüídeos, 184 (94,4%) apresentaram reações positivas para um ou mais tipos de sorovar, com títulos iguais ou superiores a 100 e 11 animais (5,6%) apresentaram reações negativas.



**FIGURA 1.** Porcentagem de amostras reagentes e não reagentes para *L.interrogans*

**TABELA 1.** Soropositividade dos equídeos perante os antígenos vivos que incluiu 25 sorovares de *Leptospira sp.*

<b>SOROVAR</b>	<b>SOROPOSITIVOS</b>	<b>%</b>
Andamana	54	27,7
Australis	23	11,8
Autumnalis	118	60,5
Bataviae	16	8,2
Bratislava	85	43,6
Butembo	63	33,8
Canicola	43	22
Castellonis	64	32,8
Copenhageni	63	32,3
Cynopteri	66	33,8
Grippotiphosa	64	32,8
Hardjo	68	34,8
Hebdomadis	24	12,3
Icterohaemorrhagiae	115	58,9
Javanica	19	9,7
Mini	13	6,6
Panamá	36	18,4
Patoc	123	63,7
Pomona	34	17,4
Pyrogenes	88	49,1
Sensoti	56	28,7
Shermmani	27	13,8
Tarassovi	24	12,3
Whithicomb	22	11,2
Wolffi	64	32,8

A Tabela 1 apresenta a frequência de resultados positivos segundo os diferentes tipos de sorovares de *L. interrogans*, com os de maior frequência: Patoc (63,7%), Autumnalis (60,5%), Icterohaemorrhagiae (58,9%), Pyrogenes (49,1%) e Bratislava (43,6%),

**TABELA 2.** Distribuição da frequência de resultados positivos segundo a titulação na prova de Soroaglutinação Microscópica para os 25 sorovares de *L. interrogans* em amostras de soros de eqüídeos nas cidades de Belém e Ananindeua – PA, 2005.

Sorovares de <i>Leptospira</i>	n° de animais positivos para um ou mais sorovares de acordo com a titulação					TOTAL N°
	100	200	400	800	1600	
Andamana	50	4	0	0	0	54
Australis	12	6	2	2	1	23
Autumnalis	75	18	11	7	7	118
Bataviae	14	1	1	0	0	16
Bratislava	61	19	3	1	1	85
Butembo	54	5	4	0	0	63
Canicola	34	8	0	1	0	43
Castellonis	21	14	20	7	2	64
Copenhageni	48	11	3	1	0	63
Cynopteri	59	3	3	1	0	66
Grippotiphosa	52	5	3	2	2	64
Hardjo	40	14	9	3	2	68
Hebdomadis	17	5	2	0	0	24
Icterohaemorrhagiae	19	29	35	20	12	115
Javanica	18	1	0	0	0	19
Mini	11	0	2	0	0	13
Panamá	25	7	1	2	1	36
Patoc	61	33	16	6	7	123
Pomona	29	2	2	1	0	34
Pyrogenes	47	18	13	5	5	88
Sensoti	55	1	0	0	0	56
Shermmani	19	3	3	2	0	27
Tarassovi	23	1	0	0	0	24
Whithicomb	21	1	0	0	0	22
Wolffi	43	9	7	1	4	64

Na Tabela 2 estão demonstrados as positivities dos soros de acordo com a titulação (100 a 1600) na prova de soroaglutinação microscópica, sendo que 908 reagiram na diluição 1:100, 218 para 1:200, 140 para 1:400, 62 para 1:800 e 44 reagiram em 1:600, sendo que 12 dos animais apresentaram titulação máxima de 1600 para o sorovar Icterohaemorrhagiae.

**TABELA 3.** Distribuição espacial e frequência dos animais que apresentaram positividade para sorovares de *L. interrogans* de acordo com os bairros de 2005.

Bairros das Cidades	Sorovares de <i>Leptospira</i>			
	Positivo		Negativo	
	n <sup>o</sup>	(%)	n <sup>o</sup>	(%)
<b>Ananindeua</b>				
40 Horas	18	9,79	1	9,12
Coqueiro	31	16,84	1	9,12
Icuí Guajará	1	0,54	0	0
<b>Belém</b>				
Barreiro	17	9,24	0	0
Bengui	15	8,15	3	27,2
Condor	11	5,98	0	0
Cremação	16	8,69	0	0
Guamá	19	10,32	1	9,12
Jurunas	6	3,26	0	0
Marambaia	10	5,43	1	9,12
Marco	3	1,64	1	9,12
Pratinha 2	7	3,8	0	0
Sacramenta	3	1,64	0	0
Tapanã	7	3,8	0	0
Telégrafo	2	1,09	0	0
Terra Firme	18	9,79	3	27,2
<b>TOTAL</b>	<b>184</b>	<b>100</b>	<b>11</b>	<b>100</b>

Qui-quadrado = 16,885; p-value = 0,393.

A Tabela 3 demonstra que dos 16 bairros pesquisados, 184 animais foram positivos e 11 negativos, sendo que as maiores frequências de casos positivos foram os bairros de Coqueiro (16,8%), Guamá (10,3%), 40 Horas (9,7%), Bengui (8,1%), Cremação (8,6%) e Marambaia (5,4%).

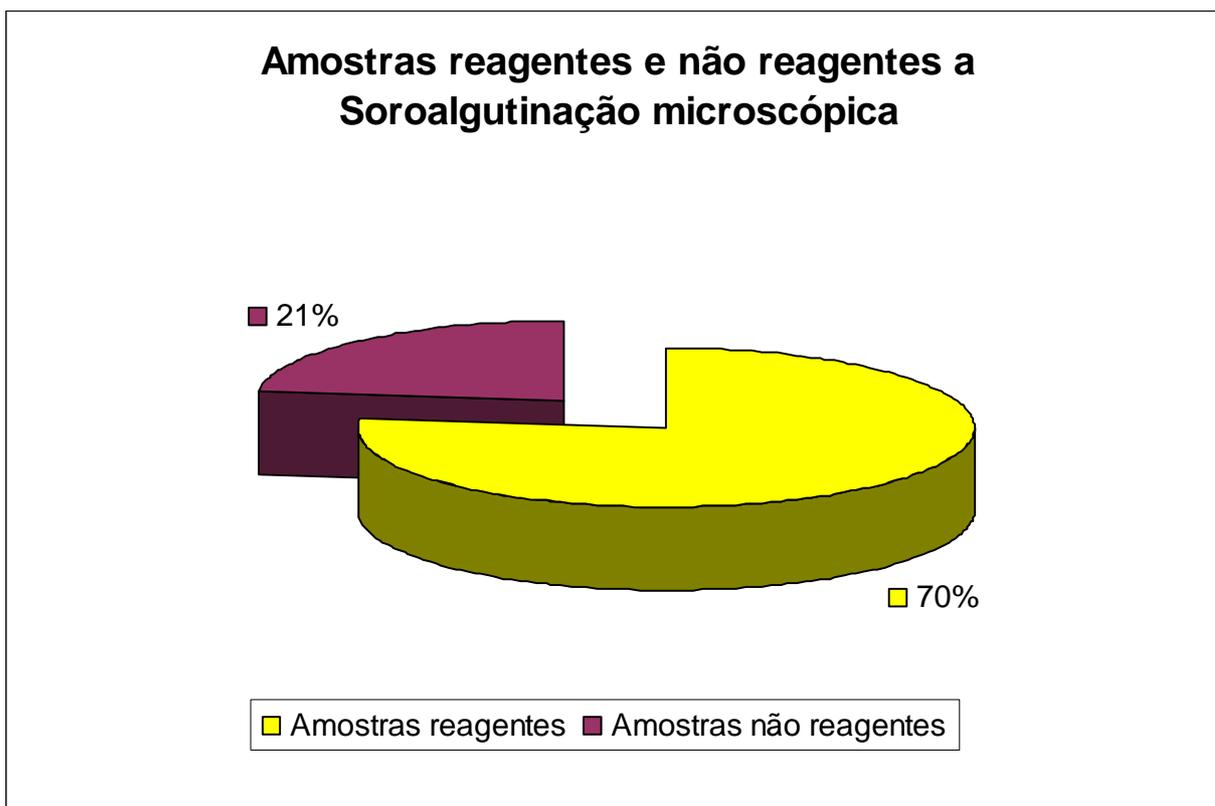
**TABELA 4.** Distribuição e frequência dos animais que apresentaram soropositividade para sorovares de *L. interrogans* de acordo com a idade de trabalho no local.

Tempo de serviço	Sorovares de <i>Leptospira</i>				
	Positivo		Negativo		TOTAL
	n <sup>o</sup>	(%)	n <sup>o</sup>	(%)	
Não foi obtida	50	27,2	2	18,1	52
Até 5 anos	37	20,2	4	36,4	41
6 a 10 anos	78	42,2	4	36,4	82
11 a 15 anos	15	8,2	0	0	15
Mais de 15 anos	4	2,2	1	9,1	5
<b>TOTAL</b>	184	100,0	11	100,0	195

Qui-quadrado = 5,605; p-value = 0,347.

Na Tabela 4 que demonstra a frequência de positividade dos animais que trabalham a um determinado período de tempo no estabelecimento ou com o mesmo manobrista. De acordo com o tempo de trabalho do animal, foi encontrado maior número de resultados positivos nos animais que tinham entre 6 a 10 anos de serviço (42,2%).

Conforme a Figura 2 nos resultados das provas de soroaglutinação microscópica, dos 70 soros humanos analisados, 49 (70%) apresentaram reações positivas para um ou mais tipos de sorovar, com títulos iguais ou superiores a 100, e 21 (30%) apresentaram reações negativas.



**FIGURA 2.** Porcentagem de amostras reagentes e não reagentes para *L. interrogans*.

**TABELA 5.** Distribuição da frequência de resultados positivos segundo a titulação na prova de Soroaglutinação Microscópica para os 25 sorovares de *L. interrogans* em amostras de soros de homens nas cidades de Belém e Ananindeua – PA, 2005.

Sorovares de <i>Leptospira</i>	n° de homens positivos para mais de um sorovar de acordo com a titulação					TOTAL	
	100	200	400	800	1600	n°	(%)
Andamana	3	1	0	0	0	4	3,2
Australis	5	0	0	0	0	5	3,9
Autumnalis	4	3	0	1	0	8	6,3
Bataviae	3	0	0	0	0	3	2,4
Bratislava	9	2	0	1	0	12	9,4
Butembo	8	3	0	0	0	11	8,6
Canicola	4	1	0	0	0	5	3,9
Castellonis	5	0	0	0	0	5	3,9
Copenhageni	7	2	0	0	0	9	7
Cynopteri	2	1	0	0	0	3	2,4
Grippotiphosa	3	0	0	0	0	3	2,4
Hardjo	3	0	0	0	0	3	2,4
Hebdomadis	3	0	3	1	0	7	5,5
Icterohaemorrhagiae	6	2	0	0	0	8	6,3
Javanica	0	0	0	0	0	0	0
Mini	0	1	0	0	0	1	0,8
Panamá	4	0	0	0	0	4	3,2
Patoc	12	1	0	0	2	15	11,8
Pomona	4	1	0	0	0	5	3,9
Pyrogenes	3	0	0	0	0	3	2,4
Sensoti	5	0	0	0	0	5	3,9
Shermmani	2	0	0	0	0	2	1,6
Tarassovi	1	0	0	0	0	1	0,8
Whithicomb	1	1	0	0	0	2	1,6
Wolffi	3	0	0	0	0	3	2,4
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>19</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>127</b>	<b>100</b>

Na Tabela 5 estão demonstrados a positividade dos soros de acordo com a titulação (100 a 1600) na prova de soroaglutinação microscópica, sendo que 127 reagiram a partir da titulação 1:100 os sorovares mais freqüentes foram: Patoc (15/11,8%), , Bratislava (12/9,4%), Butembo (11/8,6%), Copenhageni (9/7%) e Icterohaemorrhagiae (8/6,3%) o sorovar Javanica não foi encontrado.

**TABELA 6.** Distribuição espacial e freqüência dos humanos que apresentaram positividade para sorovares de *L. interrogans* de acordo com os bairros, 2005.

Bairros das Cidades	Sorovares de <i>Leptospira</i>			
	Positivo		Negativo	
	n <sup>o</sup>	(%)	n <sup>o</sup>	(%)
<b>Ananindeua</b>				
40 Horas	4	8,2	2	9,5
Coqueiro	12	24,5	4	19,0
Icuí Guajará	1	2,0	0	0
<b>Belém</b>				
Barreiro	3	6,1	2	9,5
Bengui	4	8,2	4	19,0
Condor	1	2,0	0	0
Cremação	3	6,1	2	9,5
Guamá	6	12,3	1	4,8
Marambaia	3	6,1	5	23,9
Marco	2	4,1	0	0
Pratinha 2	2	4,1	0	0
Sacramenta	2	4,1	1	4,8
Tapanã	3	6,1	0	0
Terra Firme	3	6,1	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>49</b>	<b>100</b>	<b>21</b>	<b>100</b>

Qui-quadrado = 12,228; p-value = 0,509.

A Tabela 6 demonstra que os bairros onde houveram as maiores freqüências de casos positivos para homens foram: Coqueiro (12/24, 5%), Guamá (6/12, 3%) 40 Horas e Bengui (4/8, 2%); Cremação, Marambaia, Barreiro, Tapanã e Terra Fime (3/6,1%).

Na Tabela 7 estão demonstradas as frequências de casos positivos e negativos para Leptospirose correspondente às amostras de homens e seus respectivos animais. As combinações possíveis são: homem e animal ambos positivos, homem e animal ambos negativos, homem positivo e animal negativo e homem negativo e animal positivo.

**TABELA 7.** Distribuição e frequência dos soros humanos entre homens e seus respectivos animais.

<b>Resultados Homem/Animal</b>	<b>Nº</b>	<b>(%)</b>
Positivo/Positivo	47	67,14%
Negativo/Negativo	2	2,86%
Positivo/Negativo	2	2,86%
Negativo/Positivo	19	27,14%
<b>TOTAL</b>	<b>70</b>	<b>100%</b>

**TABELA 8.** Distribuição dos homens que apresentaram positividade para sorovares de *L. interrogans* de acordo com o tempo na profissão.

<b>Tempo de serviço do homem</b>	<b>Sorovares de <i>Leptospira</i></b>				
	<b>Positivo</b>		<b>Negativo</b>		<b>TOTAL</b>
	<b>nº</b>	<b>(%)</b>	<b>nº</b>	<b>(%)</b>	
Até 5 anos	24	49,0	6	28,6	30
6 a 10 anos	13	26,5	8	38,1	21
11 a 15 anos	4	8,2	4	19,0	8
16 a 20 anos	6	12,2	0	0	6
Mais de 20 anos	2	4,1	3	14,3	5
<b>TOTAL</b>	<b>49</b>	<b>100,0</b>	<b>21</b>	<b>100,0</b>	<b>70</b>

Qui-quadrado = 3,456; p-value = 0,327.

De acordo com o tempo de profissão do indivíduo, foi encontrado maior número de resultados positivos nos homens que tinham até cinco anos de serviço.

## **5.2. Brucelose**

Com relação aos resultados obtidos nas provas de aglutinação para detectar aglutininas anti - *Brucella abortus*, das 195 amostras de eqüídeos e 70 de soros humanos analisadas não foram observados títulos positivos.

## 6 DISCUSSÃO

A frequência da soropositividade para *Leptospira interrogans* foi estudada em soros de equídeos de tração e homens nas cidades de Belém e Ananindeua, analisando diferentes aspectos, para observar a presença de animais e indivíduos reagentes quando submetidos às mesmas condições higiênico-sanitárias e climáticas.

A prevalência geral encontrada neste estudo de 94,8%, independente de sorovar foi superior às taxas relatadas anteriormente pela maioria dos demais estudos realizados no país, as quais variavam entre 4,53% (Giorgi *et al.*, 1981), 37,9% (Santa Rosa *et al.*, 1968), e 45,05% (Linhares *et al.*, 2005), nos estados de São Paulo e Goiás, respectivamente. No Pará, Molnar *et al.*, (2000) obtiveram resultados de prevalência entre 38% a 72% em diferentes municípios do Estado do Pará, logo mais próximos aos resultados deste estudo.

Os sorovares dominantes mais encontrados nos equídeos no presente estudo foram o Patoc, Autumnalis, Icterohaemorrhagiae, Pyrogenes e Bratislava, sendo que outros trabalhos publicados por Abuchaim (1991), Favero *et al.*, (2002) e Pires Neto *et al.*, (2005) já haviam relatado a presença e a importância desses sorovares para cavalos no Brasil.

Vários estudos como de Romero *et al.*, (1994), Lilenbaum *et al.*, (1998) e Linhares *et al.*, (2005) apontam o sorovar Icterohaemorrhagiae como sendo de maior frequência em equínos. Na presente pesquisa, essa variante foi observada apresentando as maiores titulações, sendo que 12 (6,49%) cavalos tiveram titulação de 1600, não sendo possível, entretanto, verificar posteriormente a soroconversão desses soros. Em relação ao sorovar Bratislava, na qual foi o quinto sorovar em frequência positiva de acordo com Sellnow (1999) o mesmo oferece menor risco para equínos, pelo fato de ser considerado como hospedeiro adaptado ao equino.

Numerosos animais são hospedeiros de leptospira, sendo que cada tipo tem um ou mais hospedeiros, com graus diferentes de adaptação (Homem *et al.*, 2001) e conforme Beer (1988) e Pires Neto, *et al.* (2005), o sorovar Icterohaemorrhagiae possui como hospedeiro os roedores de áreas urbanas, de acordo com esses dados, foi observado o risco de contaminação dos cavalos, tendo em vista que durante a entrevista aos proprietários dos animais pesquisados, os equídeos quando estavam no período de descanso permaneciam em ambiente livre e tinham comedouros inadequados, apresentando condições de higiene deficiente, com os animais permanecendo

próximos de entulhos e lixeiras, não havia o cuidado com a alimentação, sendo verificado o mau acondicionamento do farelo e milho, o capim ofertado em sua maioria provinha de beira de canais, terrenos baldios, locais constantemente alagados por águas de chuvas e dejetos de esgotos e lixo, sendo às vezes esse a principal alimentação desses animais, aumentando assim, o grau de exposição aos roedores.

Foi grande a variedade sorológica positiva encontrada nos resultados obtidos, no qual dos 25 sorovares usados no teste, todos foram detectados em pelo menos um animal. Esta multiplicidade de reação com vários antígenos pode ser atribuída a reações cruzadas para sorovares pertencentes ao mesmo sorogrupo ou ainda para outras doenças como, por exemplo, a borreliose, babesiose e a anemia infecciosa equina. Além disso, os resultados observados no presente estudo, e os demais publicados na literatura podem ser compreendidos, em parte, devido ao número de sorovares empregados para a avaliação sorológica, assim como outras características tais como ponto de corte, a expansão da disseminação de um determinado sorovar na dependência de fatores ambientais ligados a manejo e a movimentação dos animais (Faine, 1982).

Não foi observada diferença significativa nos parâmetros relacionados a idade, sexo, escore corporal e tempo de serviço. No caso das condições climáticas não foi possível verificar essa variável, uma vez que, a quantidade das amostras coletadas foi irregular durante os meses do estudo. Nenhum animal apresentou sintoma clínico que sugerisse leptospirose, apesar dos tratadores durante a entrevista dizerem não saber reconhecê-los caso algum cavalo apresentasse a doença. Esse resultado não surpreende, uma vez que, de acordo com os dados de Hathaway *et al.* (1981), os autores confirmam esta hipótese, relatando a existência de uma grande variedade de titulações presentes em equinos aparentemente saudáveis, sugerindo que a maioria das infecções são assintomáticas, podendo ocorrer a eliminação rápida do sorotipo infectante.

Os bairros de Coqueiro, Guamá, Terra Firme e 40 Horas foram os que apresentaram as maiores frequências de animais positivos a leptospira. Na análise das fontes de contágio (água, animais, terrenos baldios e outros) com leptospiras, verificou-se que se distribuem de forma homogênea por toda a área estudada, sendo que esses bairros possuem condições precárias de saneamento básico, não existindo controle de roedores no local e a coleta diária de lixo e entulhos é insuficiente. Os animais destes bairros percorriam um longo trecho com cargas pesadas durante todo o dia, quase sempre sem descanso e com alimentação insuficiente.

No caso da análise dos soros dos tratadores pesquisados conjuntamente com os seus animais, as titularidades mais elevadas estão semelhantes entre os sorovares mais incidentes nos animais, sendo verificado a distribuição nos homens dos sorovares Patoc, Bratislava e Icterohaemorrhagiae, fato esse também verificado por Homen *et al.* (2001), em que encontrou como mais freqüentes em humanos os sorovares Bratislava, Hardjo e Grippytyphosa, estando próximos com as maiores freqüências encontradas nos bovinos Hardjo e Bratislava, onde os autores sugerem que o animal possa ter sido um meio de contaminação para os homens pesquisados. Além disso, tal achado deve estar associado à maior probabilidade de exposição desses trabalhadores a condições ambientais diversificadas, entre estas, as insalubres, pois como afirmam ANDRÉ & GANIERE (1990), apesar das várias possibilidades na epidemiologia da leptospirose, as condições ambientais são sempre de grande importância, sendo consistente com as condições de deficiente saneamento básico, alagamentos, acúmulo de lama e lixo e existência de elevada população de ratos, Costa *et al.*, (2001).

O sorovar Copenhageni é preferencialmente o mais freqüentemente encontrado em vários estudos com leptospirose humana (Romero *et al.*, 1994, Pescador *et al.*, 2003), no entanto, encontramos esse sorovar em uma freqüência mais baixa em relação aos sorovares mais prevalentes, não encontrando para o sorovar Copenhageni titulações superiores a 200.

Com relação aos homens procedentes dos 16 bairros, todos os bairros analisados evidenciaram-se indivíduos reagentes, tanto na região metropolitana de Belém como na região de Ananindeua, dados semelhantes àqueles encontrados nos equídeos, sugerindo a ampla distribuição de disseminação da bactéria nestes locais e hospedeiros.

A pouca instrução dos carroceiros foi uma variável considerada importante para revelar a falta de conhecimento e cuidados higiênicos e de manipulação dos animais de trabalho, apesar de ter sido evidenciado naqueles trabalhadores mais antigos na função, um cuidado com sua proteção pessoal, utilizando como calçados para o trabalho botas de cano curto e longo, não sendo observado o mesmo hábito naqueles indivíduos com menos tempo na função de carroceiros e naqueles mais jovens.

Devido a carência de informações sobre a leptospirose em equinos utilizados como tração em carroças e homens na cidade de Belém, sugerimos estudos mais aprofundados relacionando as características de manejo ambiental, controle de roedores, limpeza de bueiros e a destinação adequada do lixo urbano.

O presente trabalho ainda avaliou a situação a respeito da presença positiva ou não de anticorpos para a *Brucella abortus* nos animais e homens (carroceiros) que transitam nas cidades de Belém e Ananindeua. Não se encontrando nenhum resultado positivo para os dois alvos de estudo, resultado semelhante ao encontrado por Garcia & Navarro (2001) durante a avaliação sorológica para brucelose em pacientes moradores da área rural do município de Guaraci, Paraná, no qual também não obtiveram nenhum resultado positivo com o método de diagnóstico de aglutinação em tubo, apesar de alguns indivíduos relatarem auxílio a partos em animais, sugerindo maior exposição à infecção.

## 7 CONCLUSÃO

- A infecção pela *L.interrogans* ocorre em equídeos de tração e em homens da cidade de Belém e Ananindeua.
- Os bairros com saneamento insuficiente e sem estruturas higienico-sanitárias estão mais provavelmente contaminados com os sorovares de *Leptospira interrogans*.
- As variantes idade, sexo, escore corporal, espécie e tempo de serviço dos animais se mostraram não significantes a cadeia epidemiológica da leptospirose; a variável clima não pode ser estudada devido ao tempo de coleta das amostras; a variante grau de instrução dos tratadores contribuiu de forma favorável a epidemiologia da doença.
- A leptospirose encontra-se endêmica em todos os bairros avaliados da cidade de Belém e Ananindeua.
- Não foi observada a infecção para *B. abortus* nos soros de equídeos de tração e homens da cidade de Belém e Ananindeua.

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUCHAIM, D. M. Presença de aglutininas antileptospira em soro de eqüinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 19, n. 1, p. 9-14, 1991.

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ªed. Washington: **Organización Panamericana de la Salud**,. p.28-56, 2001.

ANDRE-FONTAINE, G., PESLERBE, X. AND GANIERE, J. P. Occupational hazard of an noticed Leptospirosis in water ways maintenance staff. **Eur. J. Epidemiol.** n. 8, p. 228-232, 1992.

ALFITINO, J., SOUZA, J. G., PAIVA, N. O., COSTA, N. F., WILLIAMS, F. R. O. Difusão da *Brucilla abortus* e *Brucilla suis* no rebanho equino no Estado do Pará, In: **Anais do XIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, p. 270, Belém, 1984.

ALTON, G.G.; JONES, L.M.; PIETZ, D.E. **Las técnicas de laboratorios en la brucelosis**. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, p.55-133 (Serie Monografías, 55), 1976.

ARAJ, G. F. & AZZAN, R. A. Soroprevalence of *Brucella* antibodies among persons in high – risk occupation in Lebanon. **Epidemiological Infect**, n. 117, p. 28-88, 1996.

ARIZA, J., PELLICER, T., PALLARES, R. FOZ, A. GUDIOL, F. Specific antibody profile in human brucellosis, **Clinical Infect Disease**, n. 167, p. 131-140, 1992.

BALDI, P. C., MIGUEL, S. E., FOSSATI, J.C. Sorological follow – up humam brucellosis by measuring IgG antibodies to lipopolysaccharide and cytoplasmatic proteins of *Brucella* species **Clinical Infect Disiase** n. 22, p. 446-455, 1996.

BARCELLOS, C.; LAMMERHIRT, C.B.; ALMEIDA, M.A.B.; SANTOS, E. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. **Caderno de Saúde Pública** v.19 n.5, set./out. 2003.

BARWICK, R.S.; MOHAMMED, H.O.; MCDONOUGH, P.L.; WHITE, M.E. Risk factors associated with the likelihood of leptospiral seropositivity in horses in the state of New York. **American Journal Veterinary Research**. v. 58, n. 10, p. 1097-103, 1997.

BEH, K.J. Quantitative distribution of *Brucella* antibody amongst immunoglobulin classes in vaccinated and infected cattle. **Research in Veterinary Science**, v.17, n.1, p.1-4, 1974.

BEER, J. Leptospirose *In: Doenças Infecciosas em Animais Domésticos*. Vol 2 Editora Roca. São Paulo, SP. P. 305-313, 1988.

BERNARD, W. V., BOLIN, C. RIDDLE, T. DURANDO, M. SMITH, B. J., TRAMONTIN, R. R. Leptospiral abortion and leptospiruria in hoses from the same farm. **Journal os the American Veterinary Medical Association**, n. 202, p. 1285-1286, 1993.

BRANDÃO, A.P., CAMARGO, E.D., SILVA, E.D., SILVA, M.V., ABRÃO, R.V. Macroscopic agglutination test for rapid diagnosis of human leptospirosis. **Journal Clinical Microbiology**, n. 36, p. 3138-3142, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. **Brucelose. Boletim de Defesa Animal**, n.27, p.41-47, 1996.

BRUNO, B., CHOMEL, E. E., DEBESS, D. M., MANGIAMELE, K. F., THOMA, B., FARVER, R. K., SUN, L. R., BARRET. Changing Trends in th Epidemiology oh Human Brucellosis in California from 1973 to 1992: A Shift toward Foodborne Trasmission. **Journal Infect Disease** n. 170, p. 1216-1223,1994.

CALDAS, E. M., DORIA, J. D., MARTINS, M. A. Imunological inquiry for the epidemiology of leptospirosis in canis *familiaris* in Salvador, Bahia, Brazil. **Int. J. Zoonoses**, Taipei Taiwan, v. 4, p. 103-110, 1977.

CARRIGAN, M. J. & COCKRAN, F. A. *Brucella abortus* biotype 1 arthritis in a hose, **Australia Veterinary Journal**, n 64, p. 19, 1987.

CASAS OLASCOAGA, R. Diagnóstico serológico de la brucelosis. **Zoonosis**, v.18, n.3/4, p.107-41, 1976.

CAUSEY, C.E, AZEVEDO, M.C. Infecção por *Brucella* no homem e no gado em Belém, Pará. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 1, n.1, p.77-86, 1947.

COHEN, N. D., CARTER, K. G., MCMULLAN, W.C. Fistulous withers in horses: 24 cases (1984-1990). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n 201, p. 121-124, 1992.

COLMENERO, J. D., PORRAS, J., CÁRDENAS, A., OCÓN, P., REGUERA, J. M , DELGADO, M., SEDENO, J., Evaluation of the Chromotitre EIA test in the diagnosis oh human brucellosis. *Enferm. Infect Microbiologic Clinical*, n . 12(2), p. 60-65, 1994.

COLMENERO J. D, REGUERA JM, MARTOS F, Complications associated with *Brucella melitensis* infection: A study of 530 cases. **Medicine**, n. 75 p.195-211, 1996.

CORBEL, M. J., Vaccines against bacterial zoonoses. **Journal Medice Microbiologic**, n. 46, p. 267-269, 1997.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos** 2ª ed. Ed. Médica e Científica Ltda. RJ, p. 95-215, 1992.

COSTA, E., COSTA, Y. A., LOPES, A. A., SACRAMENTO, E.,BINA, J. C. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n.3, 2001.

COTTORRELO, A. C. P., NUNES, K., MARSHALL, M., RIBEIRO, A. F. C., FILHO, F. A., SUNG, W. disponível em <http://www.vet.uga.edu/vpp/NSEP/Brazil2002/brucella> acesso em 13 de março de 2006.

CUMBERLAND, P., EVERARD, C.O.R., LEVETT, P.N. Assessment of the efficacy of IgM-Elisa and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. **American Journal Tropical Medicine**, n. 61, p. 731-734, 1999.

DENNY, H.R. A review of brucellosis in the horse. **Equine Veterinary Journal**. v. 5, n. 3, p. 121-125, 1973.

DIAS, H. L. T. Soroepidemiologia de cinco enfermidades infecciosas em equinos criados no Estado do Pará, **Tese de Doutorado – UFPA** 2000.

DWYER, A. E., CROKETT, R.S., KALSOW, C.M. Association of leptospiral seroreactivity and bred with uveitis and blindness in hoses: 372 cases (1986-1993). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 207, p. 1327-31, 1995.

ELLIS, W. A., BRYSON, D. G., O' BRIEN, J. J., NEIL, S. D. Leptospiral infection in aborted equine foetuses. **Equine Veterinary Journal**, n. 15, p. 321-24, 1983.

ELLIS, W.A. International committee on systematic bacteriology subcommittee on the taxonomy of Leptospira. **International Journal of Systematic Bacteriology**, n. 45, p. 872-874, 1995.

ENRIGHT, F. M. The pathogenesis and pathobiology oh Brucella infection in domestic animals. **Animal Brucellosis**. Boca Raton,: p. 301-320 1990.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. (Ed.). **Leptospira and leptospirosis**. Boca Raton: CRC Press, 1999.

FARIAS, A. **Manual de leptospirose**. 4<sup>a</sup> (Ed). Brasília: Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, 1999.

FAVERO, A.C.M., PINHEIRO S.R., VASCONCELLOS, S.A., MORAIS, M.M., FERREIRA, F., NETO, J.F.S. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e caninos de diversos estados brasileiros **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 613-19, 2002.

FONSECA, L. S.; MOLNAR, E.; MOLNAR, L.; LIMA E. S. C. Prevalência de brucelose em diferentes grupos populacionais da cidade de Belém – PA, **Revista Paraense de Medicina**, v. 13, nº 2 maio/agosto, 1999.

GARCIA, J. L. ; NAVARRO, I. T . Avaliação sorológica da leptospirose e brucelose em moradores da zona rural do município de Guaraci-Parana-Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba - MG**, v. 34, n. 1, p. 15-20, 2001.

GAZAPO E, LAHOZ JG, SUBIZA JL Changes in IgM and IgG antibody concentrations in brucellosis over time: Importance for diagnosis and follow-up. **Journal Infect Disease**; n. 159, p. 219-225, 1989.

GRAVEKAMP, C.; VAN DE KEMP, H.; FRANZEN, M.; CARINGTON, D.; SCHOONE, D. J., VAN EYS, G. J. J. M.; EVERARD, C.O.R.; HARTSKEERL, R. A., TERPSTRA, W.J.; Detection of seven species of pathogenic leptospire by PCR using two sets of primers. **Journal General of Microbiology**, v. 139, p. 1691-1700, 1993.

GILGER, B. C. Equine recurrent uveitis. In: ROBINSON, N. E. Current therapy in equine medicine. **Saunders**, p. 468-72, 2003.

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

HANSON, L. E., MARTINS, R. J., GIBBONS, R.W., SCHNURRENBERG, P. R. Equine leptospirosis. **Proceeding of the 73 rd Annual Meeting US Animal Health Association**, n. 73, p. 169-80, 1969.

HATHAWAY, S.C.; LITTLE, T.W.; FINCH, S.M.; STEVENS, A.E. Leptospiral infections in horses in England: A serological study. **Veterinary Record**, v.108, n.18, p.396-8, 1981.

HOGAN, P.M.; BERNARD, W.V.; KAZAKEVICIUS, P.A.; FITZGERALD, M.R. Acute renal disease due to *Leptospira interrogans* in a weanling. **Equine Veterinary Journal** v. 28, n. 4, p. 331-3, 1996.

HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAES, Z. M.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; NETO J. S. F. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 34, n.2, Uberaba- MG, 2001.

IBGE. Censo 2000, Saneamento Básico Belém / Ananindeua. Disponível em: [www.ibge.com.br](http://www.ibge.com.br). Acesso em: 13 nov. 2006.

JARDIM, E.C., ALMEIDA, M.M.R.; CÂNDIDA, M.F., SILVA, R.L.; FICHTNER, S.S. Presença de aglutininas anti-Brucella em equinos no Estado de Goiás. **Anais da E.A.V. – UFGO**, v.8, n. 1, p. 151-155, 1978.

JOKLIK, W. K., WILLET, H. P., AMOS, D. B., WILFERT, C. M. **Microbiologia Médica Panamericana**. Buenos Aires 20ª Ed. – Argentina, p. 827-833, 1994.

LANGENEGGER, J.; SZECHY, A. M. Brucelose em eqüídeos domésticos –isolamento da *Brucella abortus* de bursites da cernelha no Brasil. **Arquivo do Instituto de Biologia Animal**, v.4, p. 49-63, 1961.

LANGONI, H.; DA SILVA A.V. Comportamento sorológico de aglutininas anti-brucela em soro de eqüídeos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n 19, p. 85-87, 1997.

LILENBAUM, W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brazil (1993-1996). **Brazilian Journal Veterinary Research. Animal Science**, v. 35. n. 2 1998.

LINHARES, G. F. C., GIRIO, R. J. S., LINHARES D. C. S., MONDEIRO, L. C., OLIVEIRA, A. P. A. Sorovares de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da microrregião de Goiânia – **GO Ciência Animal Brasileira**, v. 6, n. 4, p. 255-259, outubro/dezembro, 2005.

MACMILLAN, A.P.; STACK, J. Bovine Brucellosis. In: **Office International des Epizooties. Manual of standards for diagnostic tests and vaccines**. 4. ed. Paris: Office International des Epizooties, 2000. p. 328-345.

MARTINS, F. S. V.; CASTIÑEIRAS, T.A M. P.P. Disponível em [www.cives.com.br](http://www.cives.com.br). Acesso em: 20 mai. 2006.

MATHIAS, L.A.; TUNALA, V.; LACERDA, N.GÍRIO, R.J.S. Pesquisa de anticorpos contra *Brucellas sp.* Em soros de eqüínos com e sem abscesso de cernelha. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, n 5, p. 74-78, 1998.

MATTAR, G.M., KHNEISSER, I. A., ABDENOR, A. M. Rapid laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence on the 31 – kilodalton *Brucella* antigen DNA, **Journal Clinical Microbiologic**, n. 34(2), p. 477-478, 1998.

MATTHEWS, A. G. Sorological study of leptospiral infections and endogenous uveitis among horses and ponies in the United Kingdom. **Equine Veterinary Journal**, n. 19, p. 125-28, 1987.

MAZZONELLI, J. Situación epidemiológica de la leptospirosis en America Latina y el Caribe Perspectivas futuras, p. 20-25, **III Encontro Nacional em Leptospirose**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil 1993.

MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; JÚNIO, G. M.; CROCCI, A. J. Avaliação das provas de soroaglutinação rápida, soroaglutinação lenta, antígeno acidificado e 2-mercaptoetanol no diagnóstico da brucelose bovina, **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. .37, n.5, 2000.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de leptospirose**, 2ª ed., Brasília, p. 98, 1995.

MIYASHIRO, S., SCARCELLI, E., CAMPOS, F.R., DEZEN, E.L., ARAÚJO, M.R.E, GENOVEZ, M.E. Discite em Humano com Brucelose: Confirmação e identificação da espécie por meio da reação de polimerização em cadeia (PCR), **16ª Reunião Anual do Instituto Biológico - 16ª RAIB, Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70 n. 3, 2003.

MOLNÁR, L.; MOLNÁR, E. TURY, E.; SOUZA J. S. Concepções modernas para o diagnóstico da brucelose. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n. 19, p. 157-62, 1997.

MOLNÁR, E., MOLNÁR, L., NEGRÃO, A. M. G., ROCHA, M. C. Considerações sobre o diagnóstico sorológico da leptospirose no homem e algumas espécies animais. **Revista Paraense de Medicina**, v. 14 n. 1, 2000.

NETO, L. L. S., COSTA, G. P., SIMAAN, C. K., LIMA, F. A. C. Abscesso esplênico por *Brucella abortus* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32 n.1, 1999.

NIMRI, L.F. Diagnosis of recent and relapsed cases of human brucellosis by PCR assay. **BMC Infectious Diseases**, v.3, n.5, 2003.

NIELSEN, K.; SMITH, P.; WIDDISON, J.; GALL, D.; KELLY, L.; KELLY, W.; NICOLETTI, P.; Serological relationship between cattle exposed to *Brucella abortus*, *Yersinia enterocolitica* O:9 and *Escherichia coli* O157:H7, **Veterinary Microbiology** v. 100, p. 25-30, 2004.

OLIVEIRA, Q. C. MOREIRA, V. S. LIMA, C. S. Brucelose em equinos. **Revista de Medicina Veterinária** ., v.9, n. 2, p. 93-106, 1973.

PALMQUIST, O. K. Contribuição ao conhecimento da incidência da brucelose no Estado do Paraná (Brasil) **Brazilian Archives of Biology and Technology** Curitiba, dezembro, 2001.

PARMA, A.E., SANZ, M.E., LUCCHESI, P.M., MAZZONELI, J., PETRUCCELLI M. A. Detection of na antigenic protein of *Leptospira interrogans* which shares epitopes with the equine córnea and lens. **The Veterinary Journal**, n. 153, p. 75-79, 1997.

PASTEUR INSTITUTE. *Introduction*. 2006. Disponível em: <<http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Leptospira.html>> Acesso em: 13 nov. 2006.

PELLEGRIN, A. O. Campilobacteriose Genital Bovina na sub-região da Nhecolândia Pantanal Mato-grossense e proposição de novas técnicas diagnósticas. Belo Horizonte: **Escola de Veterinária. UFMG**, p 152, Tese (Doutorado em Ciência Animal) 2001.

PELICE T, ARIZA J, FOZ A. Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. **Journal Infect Disease**, n. 157, p. 918-924, 1988.

PEREZ, M. L., SANCHEZ, C., LÓLEZ, D.A., MOCTEZUMA, A.P. Detección de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en equinos dedicados a la producción de sueros hiperimunes **Veterinaria do México 29**: 173-178, 1998.

Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose – PNCEBT, 2006. Disponível em: <http://www.adeal.al.gov.br/programas/area-animal/programa-nacional-de-controle-e-erradicacao-da-brucelose-e-tuberculose-animal-pncebt>. Acesso em: 14 nov. 2006

PESCADOR, C. A., CORBELLINI, L.G., LORETTI, A. P., WUNDER JÚNIOR, E., FRANTZ, F. J., DRIEMEIER, D. Aborto equino por *Leptospira* sp. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 271-274, 2004.

PIRES, N. J. A. S., HESSE, F., OLIVEIRA, M. A. .M. Lepitospirose equina: aspectos clínicos, tratamento, prevenção e levantamento sorológico. **Veterinária em Foco**, v. 2,n. 2, p. 165- 174, Rio Grande do Sul, 2005.

POESTER, F.P., GONÇALVES, V.S.P., LAGE, A.P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiologi.**, v. 90, p.55-62, 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. **Veterinary medicine**. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9ª.Ed. London: W.B. Saunders, p.867-891, 2000.

RIBEIRO, A.R.P., LOBATO, F.C.F., ABREU, V.L.V., FARIA, E.S., SILVA, J.A. Prevalência de tuberculose e brucelose bovina no município de Ilhéus-BA, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v..55 n.1 Belo Horizonte fevereiro 2003. (a)

RIBEIRO, M. G.; JÚNIOR, N.G.; MEGID, J. ; PAES, A. C.; LISTONE, F.J.C. Aglutininas anti-*Brucella abortus* no soro e em secreção de bursite cervical em eqüinos, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.1, Belo Horizonte - MG, fevereiro, 2003. (b)

ROMERO, E. C. Search for agglutinating antibody to *Leptospira* and *Letonema* in horses, São Paulo, Brazil. **Brazilian. Journal Veterinary Reshach. Animal Science** São Paulo. v.31. n. 3 e 4. P.210- 15. 1994.

SANTA ROSA, C. A., CASTRO, A. F. P., CAMPEDELLI FILHO, O., MELLO, D. Leptospirose em eqüinos. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 61-65, 1968.

SAKATA, E. E., YASUDA, P. H., ROMERO, E. C., SILVA, M. V., LOMAR, A.V. Sorovares de *Leptospira interrogans* isolados de casos de leptospirose humana em São Paulo, Brasil, **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 3, São Paulo, maio/junho, 1992.

SELLNOW, L. Leptospirose: mal de muitas faces. **Revista Horse Busisness**, Ed. 56. São Paulo, março 2000.

SEOUD M., SAADE G., AWAR G. Brucellosis in pregnancy. **Journal Reproduction Medical**; n. 36, p. 441-445, 1991.

SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica**: Para as Ciências do Comportamento, Tradução de Alfredo Alves de Farias, Revisão Técnica de Eva Nick. McGraw-Hill do Brasil, São Paulo, 1975.

SFZENT-IVÁNYI, T.; MESZÁROS, J. **Doenças Infeciosas dos Animais Domésticos (Húngaro) Mezogazdaiadó**, Budapeste, 1985.

SOUZA, A. P., FILHO, D. C. M., FÁVERO, M. Investigação da brucelose em bovinos e em consumidores humanos do leite, **Revista de Saúde Pública**, v.11 n 2, 1976.

SPINOLA, A. G., COSTA M. D. M. Brucelose humana em operários de um frigorífico no município de Salvador, Bahia, Brasil, **Revista de Saúde Pública**, v.6 n.2 São Paulo junho 1972.

STING, R.; DURA, O. Isolation of serovar-specific leptospiral antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) compared with the microscopic agglutination test and immunofluorescence. **Journal of Veterinary Medicine**, n. 41, p. 166-75, 1994.

SUTHERLAND, S.S. Immunology of bovine brucellosis. **Veterinary Bulletin**, v.50, n.5, p.359-68, 1980.

SYRJAMAKI, C., MIGLIAZZA, A., YARBOROUGH, J. W. Brucella abortus endocarditis following ingestion of cow's blood. **Medical Journal**; n. 69, p. 141-143, 1984.

THADEI, L. C. Disponível em [www.saudeanimal.com.br](http://www.saudeanimal.com.br). Acesso em: 13 mar. 2006.

THIERMANN, A. B. Leptospirosis current developments and trends. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 184, p. 722-25, 1984.

TROEDSSON, M. H. T., ROBINSON, N. E. *Abortion*. In: Current therapy in equine medicine. **Saunders**, p. 534 – 40, 1997.

VASCONCELLOS, S.A.; ITO, F.H.; CÔRTEZ, J.A. Bases para a prevenção da brucelose animal. **Comunidade Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. USP**, v.1, p.25-36, 1987.

VASCONCELLOS, S. A., BARBARINI, J.R., UMEHARA, O., MORAIS, Z. M., CORTEZ, A., PINHEIRO, S. R., FAVERO, A.C.M., FERREIRA, N. J .S. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. **Reunião Anual do Instituto Biológico de São Paulo**, n. 9, 1996.

VASCONCELLOS, S. A. Leptospirose **Biológico, São Paulo**, n. 59, p. 29-32, 1997.

VERMA, B. B., BIBERSTEIN, E. L., MEYER, M. E. Sorologic survey of leptospiral antibodies in horses in Califórnia. **American Journal of Veterinary Research**, n. 38, p. 1443-44, 1977.

VERONESI, R. *In: Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 8º Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 565-579, 1991.

VIANA, F.C.; REIS, R.; SANTOS, W.L.M. Inquérito sorológico para brucelose equina em Minas Gerais. **Arquivo da Escola de Veterinária UFMG**, v. 3, n. 3, p.431-435, 1981.

VIGNARD-ROSEZ, K. S. F.; ALVES, F. A. R. Leptospirose canina. 2004. Disponível em [www.cepav.com.br/textos](http://www.cepav.com.br/textos). Acesso em: 13 mar. 2006.

WILLIAMS, D. S., SMITH, B. J., DONAHUE, J. M., POONACHA, K. B. Serological and microbiological findings on 3 farms with equine leptospiral abortions. **Equine Veterinary Journal**, n. 26, p. 105-108, 1994.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis**. Geneva : World Health Organization, p.58-66 Technical Report Service, 1986.

WOODWARD, M. J., SWALLOW. C., KITCHING, A. S. , DALLEY, C. , SAYERS, A. R. *Leptospira hardjo* serodiagnosis: a comparison of MAT, ELISA and Immunocomb. **Veterinary Record**, v. 141, p. 603-604, 1997.

YADAV, M. P., SINGH, B. K. UPPAL, P. K. Sero-prevalence of brucellosis in equines in some the states in India. **India Journal of Animal Science**, n 62, p. 41-42, 1991.

YOUNG, E.J. An overview of human brucellosis. **Clinical Infectious Diseases**, v.21, p. 283-290, 1995.

**ANEXO A**

**DADOS DO PROPRIETÁRIO:** BAIRRO \_\_\_\_\_ Nº \_\_\_\_\_ DATA \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
NOME: \_\_\_\_\_ IDADE: \_\_\_\_\_  
TEMPO NA ATIVIDADE: \_\_\_\_\_ ESCOLARIDADE: \_\_\_\_\_  
Nº DE DEPENDENTES: \_\_\_\_\_ END: \_\_\_\_\_  
BAIRRO: \_\_\_\_\_ TELEFONE: \_\_\_\_\_ BASE SALÁRIAL: \_\_\_\_\_

**DADOS DO ANIMAL:**

NOME: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_ IDADE: \_\_\_\_\_ ESPÉCIE: \_\_\_\_\_  
PROCEDÊNCIA: \_\_\_\_\_ TEMPO DE AQUISIÇÃO: \_\_\_\_\_  
HORAS DE TRABALHO DIA: \_\_\_\_\_ VALOR PAGO: \_\_\_\_\_  
TEMPO DE SERVIÇO: \_\_\_\_\_

**ANAMINESE:**

SCORE CORPORAL: ( ) BOM ( ) REGULAR ( ) RUIM  
ESTADO FÍSICO: \_\_\_\_\_

USO DE FERRADURA: ( ) SIM ( ) NÃO TIPO: \_\_\_\_\_ TEMPO DE TROCA: \_\_\_\_\_  
ESTADO DE USO: ( ) BOM ( ) REGULAR ( ) RUIM  
APARELHO LOCOLOTOR: \_\_\_\_\_  
ALIMENTAÇÃO: \_\_\_\_\_  
OFERTA: \_\_\_\_\_ VERMIFUGAÇÃO: ( ) SIM ( ) NÃO TEMPO: \_\_\_\_\_  
VACINAS: ( ) SIM ( ) NÃO TEMPO: \_\_\_\_\_ QUAIS: \_\_\_\_\_  
ATENDIMENTO VETERINÁRIO: ( ) SIM ( ) NÃO TEMPO: \_\_\_\_\_  
SUPLEMENTO VITAMINICO: ( ) SIM ( ) NÃO TEMPO: \_\_\_\_\_ QUAIS: \_\_\_\_\_  
OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_

**ARRIATAS:**

CABEÇADA: \_\_\_\_\_ FREIOS: \_\_\_\_\_ REDEAS: \_\_\_\_\_ ARREIO: \_\_\_\_\_  
USO DE CHICOTE: \_\_\_\_\_ PROTETORES DE PEITO: \_\_\_\_\_  
BARRIGUEIRA: \_\_\_\_\_ CARROÇA: ( ) BOM ( ) REGULAR ( ) RUIM  
DORSO: \_\_\_\_\_

**OBSERVAÇÕES GERAIS:**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## ANEXO B

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

**PROJETO:** Investigação soroepidemiológica para Brucelose e Leptospirose em equídeos de tração e seus tratadores nos Municípios de Belém e Ananindeua – Pará.

Através do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Federal do Pará, estou desenvolvendo uma pesquisa que permitirá avaliar a possibilidade de contaminação para Leptospirose e Brucelose em animais de tração e seus respectivos tratadores/manobristas, nas cidades de Belém e Ananindeua, no Estado do Pará, através da análise de amostra de sangue periférico.

Você está sendo admitido(a) nesta pesquisa, para estabelecimento de possível contaminação por Leptospirose e Brucelose e, para tal, há a necessidade de remoção de material biológico relacionado a enfermidade. Parte do material retirado é encaminhado para exames laboratoriais, necessários para a investigação. O restante do material não utilizado é armazenado para novos exames, se necessário.

A obtenção da amostra de sangue para esta pesquisa não implicará em riscos adicionais para a sua saúde. A amostra de material biológico será identificado no laboratório no formato de letras e números, preservando sua identidade e privacidade. A eventual inclusão dos resultados em publicação científica será feita de modo a garantir o anonimato do paciente.

Não existem benefícios ou diretos financeiros a receber sobre os eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Se você não concorda em doar o material para pesquisa, sua decisão não influenciará, de nenhum modo, no seu atendimento ou tratamento.

Caso você tenha alguma dúvida sobre este documento ou em relação à pesquisa, por gentileza, entre em contato com: Wilson Rogério Rodrigues dos Santos, pelos telefones 3224-3589 ou 91566497.

Belém, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

---

Assinatura do Pesquisador Responsável  
Wilson Rogério Rodrigues dos Santos

---

Assinatura do Sujeito da pesquisa ou responsável