




COMUNICAÇÃO CURTA

Pesquisa de anticorpo anti-*Leptospira* spp. e anti-*Brucella* spp. em equinos provenientes da Ilha do Marajó, Pará

Antibody research Leptospira spp. and Brucella spp. in horses from the island of Marajó, Pará

Katarine de Souza Rocha ¹, Giselle Souza da Paz ², Andrey do Nascimento Guerreiro³, André Marcelo Conceição Meneses⁴, José Ribamar Felipe Marques⁵, Carla Cristina Guimarães de Moraes ^{1*}

¹ Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública, Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal, PA, Brasil

² Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, SP, Brasil

³ Coordenador de Vigilância Sanitária, São João de Pirabas, PA, Brasil

⁴ Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, PA, Brasil

⁵ Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA, Brasil

Resumo

Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. e *Brucella* lisa foi realizada em equinos da raça Marajoara e Puruca provenientes da Ilha do Marajó. Utilizaram-se 57 amostras de soro de equinos de ambos os sexos, diferentes idades e sem sintomatologia clínica de doença causada pelos agentes pesquisados. As amostras foram submetidas ao teste de aglutinação microscópica (MAT) para pesquisa de *Leptospira* spp. e teste de soroprecipitação rápida em placa com antígeno acidificado tamponado (AAT) para pesquisa de *Brucella* spp. Dos 57 soros avaliados, 49,1% (28/57) foram reagentes para um ou mais sorovares, apresentando-se

quatro coaglutinações. Os sorogrupos mais frequentemente encontrados no presente estudo foram Grippotyphosa, Djasiman, Serjoe, Icterohaemorrhagiae, Shermani e Cynopteri, com títulos entre 100 e 3200. Nenhum animal foi reagente na pesquisa de aglutininas contra brucelose. Conclui-se que os animais alvos do estudo estiveram expostos à *Leptospira* spp., mas não demonstraram sorologicamente ter se infectado por *Brucella*.

Palavras-chave: Leptospirose. Brucelose. Marajoara. Puruca. Sorologia.

* Autor correspondente: ccmoraes@ufpa.br

Recebido: 11 jul 2019 | Aprovado: 13 nov 2019

Abstract

Antibody research against Leptospira spp. and smooth Brucella was performed in Marajoara and Puruca horses from Marajó Island. We used 57 serum samples of horses of both sexes, different ages and no clinical symptoms of disease caused by the agents surveyed. The samples were submitted to the microscopic agglutination test (MAT) for Leptospira spp. Research and rapid agglutination test with buffered acidified plate antigen (BAPA) for Brucella spp. Research of 57 sera evaluated 49.1% (28/57) were Serum reagents for one or more serovaris, presenting four coagglutinations. The serogroups most frequently found in the present study were Grippotyphosa, Djasiman, Serjoe, Icterohaemorrhagiae, Shermani and Cynopteri, with bonds between 100 and 3200. No animal was reactive in the investigation of Agglutinins against Brucellosis. It was concluded that the target animals were exposed to Leptospira spp., but did not demonstrate serologically infected by Brucella.

Keywords: *Leptospirosis. Brucellosis. Marajoara. Puruca. Serology.*

Introdução

Os equinos representam uma importante espécie entre os animais domésticos devido a sua utilização como meio de transporte, tração, entretenimento, esporte e na sua utilização na recuperação de crianças especiais, além de servir como produtos e subprodutos cárneos para o consumo humano (Ribeiro et al., 2008).

No último censo realizado em 2017 no Brasil, estima-se que a população de equinos no país tenha atingido 5.577.539 cabeças. O estado do Pará possui em torno 883059 cabeças de equinos; destes, 28891 estão presentes na Ilha do Marajó, em destaque para os municípios de Soure com 6378 equinos e Salvaterra com 2234 animais (IBGE, 2017).

Na Ilha do Marajó, no estado do Pará, os equinos das raças Marajoara e Puruca são bastante importantes para o desenvolvimento das práticas agropecuárias como tração de carroças e manejo de bubalinos e bovinos na região, justamente por apresentarem características de força de trabalho

e velocidade, além de apresentarem rusticidade e resistência a ambientes adversos, adaptando-se muito bem ao clima da região que sofre períodos de seca e alagamento (Marques et al., 2016).

Existem enfermidades bacterianas que acometem os equinos, entre as quais pode-se citar brucelose e leptospirose como enfermidades de potencial zoonótico. Estes agentes infectam uma ampla variedade de espécies de animais selvagens e domésticos, inclusive o ser humano (Acha e Szyfres, 2001).

Até o presente momento são incipientes os dados referentes à sanidade em cavalos Marajoaras e pôneis Puruca no Brasil, em particular na Ilha do Marajó, PA. Por isso, o presente estudo objetivou detectar a presença de anticorpos anti-*Brucella* lisa e anti-*Leptospira* spp. em cavalos Puruca e Marajoara de propriedades da ilha, além de avaliar os aspectos epidemiológicos destas enfermidades com base nas respostas registradas no inquérito soro epidemiológico.

Material e métodos

A realização da pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Pará (CEUA/UFPA), sob o número de protocolo Ceua nº 2668270319. Foram utilizados 57 cavalos das raças Puruca e Marajoara (27 Purucas/30 Marajoaras), de ambos os sexos (17 machos/40 fêmeas), com faixa etária variando entre 3 meses e 11 anos, sem qualquer sintomatologia clínica das enfermidades estudadas, e procedentes de propriedades com tipo de criação extensiva na Ilha do Marajó, PA.

As amostras de sangue foram colhidas de modo asséptico, por método de venopunção da jugular, com auxílio de agulhas descartáveis estéreis 40 mm 80 x 1,2 mm (18G), em tubos estéreis de 10 ml, sem anticoagulante. Após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 2500 g, por 10 min. Em seguida, foram acondicionadas em microtubos de polipropileno de 1,5 ml, devidamente identificados e conservados a -20 °C até o momento da realização das provas sorológicas. Após a colheita de sangue dos animais foram preenchidas fichas para o levantamento epidemiológico da

leptospirose e brucelose nos animais, segundo as informações fornecidas pelos proprietários. O diagnóstico sorológico para brucelose foi realizado no Laboratório de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pará/Campus Castanhal, através de pesquisa de anticorpos para *Brucella* spp. pelo teste de soroprecipitação rápida em placa com antígeno acidificado tamponado (AAT), corado pelo Rosa Bengala. Para a pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp., realizou-se teste de aglutinação microscópica (MAT), utilizando como antígeno 16 sorovares correspondentes de 10 sorogrupos de leptospirosas vivas: Bratislava, Ballum, Canicola, Djasiman, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Sherjoe e Shermani. Os testes foram conduzidos no Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses (LDZ) do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública (DHVSP), pertencente à Universidade Estadual Paulista (Unesp) - Campus Botucatu-SP, considerando como soro reagente aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação, tendo como referência os respectivos controles.

As informações colhidas nos questionários foram utilizadas para a criação de um banco de dados no programa estatístico IBM SPSS Statistic® v. 20.0, no qual foi realizada a análise descritiva dos dados. Nas variáveis obtidas empregou-se o teste “t” de Student com nível de significância de $p \leq 0,05$.

Resultados

Para a pesquisa de anticorpos de *Brucella* lisa, pôde-se observar que nenhum dos animais testados foram reagentes. Para a pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp., pôde-se verificar que 49,1% (28/57) dos equinos foram soro reagentes para um ou mais sorovares, apresentando-se quatro coaglutinações, as quais não foram contabilizadas no cálculo da prevalência. Os sorogrupos mais frequentemente encontrados no presente estudo foram Grippotyphosa (37,5%; 09/24), Djasiman (20,83%; 05/24), Serjoe e Icterohaemorrhagiae (16,67%; 04/24), seguidos de Shermani e Cynopteri (4,16%; 01/24), cada com títulos entre 100 e 3200.

Discussão

No presente estudo não se observaram equinos reatores para anticorpos de *Brucella* lisa, resultado semelhante ao obtido por Santos et al. (2012) com equinos de tração em áreas rurais do município de Uberlândia, MG, que dos 187 animais avaliados observaram 100% de negatividade. Na literatura, prevalência baixa é relatada para equinos variando entre 1,76 e 6,5% em diferentes estados brasileiros como Rio Grande do Norte, Paraná, Paraíba e Pará (Arruda et al., 2012; Antunes et al., 2013; Dornelles et al., 2013; Pinho et al., 2014).

Para o diagnóstico de brucelose em equídeos não há um teste padrão confirmatório, pois o Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) é específico para bovinos e búfalos. Desta forma, apenas o teste de triagem pode ser utilizado para equinos, o que fornece informação de grande valia, pois estes animais podem ser sentinelas da infecção no ambiente que coabitam com bovinos e búfalos. Apesar de os equinos do estudo coabitarem com bovídeos e, assim, estarem mais suscetíveis à infecção, os equinos não se mostraram reagentes para *Brucella* spp. Este fato provavelmente se justifique devido às fêmeas bovinas e bubalinas serem vacinadas conforme Instrução Normativa SDA nº 10 (Brasil, 2017); desta maneira, o ciclo epidemiológico do agente pode ter sido interrompido e conseqüentemente ter ocorrido uma diminuição da transmissão de *Brucella* para a espécie estudada.

Em relação à pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp., a reatividade encontrada no presente estudo está dentro da faixa de frequência encontrada por outros autores, que variaram entre 23,07 e 100% de equinos soro-reagentes para os mais diversificados sorovares (Moraes et al., 2010; Finger et al., 2014; Dias et al., 2015; Pinho et al., 2014; Alves et al., 2016).

De modo geral, o presente estudo corrobora com os resultados encontrados que obtiveram valores similares, inferiores e superiores, pois desta forma pode-se sugerir que a bactéria está presente em diferentes regiões do país e provavelmente de maneira silenciosa, acometendo equídeos que podem coabitar com outras espécies de animais domésticos ou sinantrópicos infectados e com

potencial de transmissão do agente, justificando desta maneira a presença de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em equídeos.

Os sorogrupos mais frequentemente encontrados no presente estudo foram Grippotyphosa, Djasiman, Serjoe, Icterohaemorrhagiae, Shermani e Cynopteri. Nos diferentes estudos em equinos no Brasil, observou-se infecção por vários sorovares de diferentes sorogrupos como Autumnalis, Australis, Butembo, Castellonis, Cynopteri, Copenhageni, Djasiman e Icterohaemorrhagiae (Moraes et al., 2010; Finger et al., 2014; Dias et al., 2015; Pinho et al., 2014; Alves et al., 2016). Esta diferença

de sorovares encontrados pode ser justificada pelo fato de que cada estudo utilizou baterias de antígenos vivos diferentes em números e sorovares. Além disso, a coabitação com outras espécies e a ausência de isolados deste agente no estado do Pará podem ter interferido nos resultados das análises sorológicas.

As respostas obtidas após a aplicação do questionário epidemiológico foram posteriormente relacionadas com os resultados encontrados no teste de MAT, para tentar correlacionar os possíveis riscos de infecção na população de equinos estudada (Quadro 1).

Quadro 1 - Distribuição e frequência dos resultados em porcentagem encontrados no teste de aglutinação microscópica (MAT) para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. comparadas às informações relacionadas aos resultados estratificados das respostas dos proprietários dos equinos

	Variáveis	Animais (n)	Reagentes (n)	Frequência de reagentes (%)	Valor de p
Sexo	Macho	17	06	35,3	0,173
	Fêmea	40	22	55	
Faixa etária	02 a 11 meses	04	01	1,8	0,226
	01 a 05 anos	26	10	17,5	
	06 a 10 anos	16	09	15,8	
	> 10 anos	01	01	1,8	
	Não soube informar	10	07	12,3	
Presença de ratos na área externa	Sim	10	07	12,3	0,146
	Não	47	21	36,8	
Acesso dos animais ao lixo	Sim	0	-	-	-
	Não	57	28	49,1	
Transporta Lixo	Sim	0	-	-	-
	Não	57	28	49,1	
Acesso à água parada	Sim	52	25	43,8	0,610
	Não	05	03	5,3	
Outras espécies coabitantes	Sim	57	28	49,1	0,339
	Não	0	-	-	
Acesso a matas ou capoeiras	Sim	14	9	15,8	0,191
	Não	43	19	33,3	
Vacinação	Sim	19	12	21,1	0,134
	Não	38	16	28,1	
Abortamento	Sim	03	23	5,3	0,69
	Não	38	18	35,1	

Pode-se observar no Quadro 1 que não houve diferença estatística entre a variável sexo ($p = 0,173$) e faixa etária ($p = 0,226$), resultados semelhantes ao discutidos por outros autores (Moraes et al., 2010; Dias et al., 2015; Pinho et al., 2014; Alves et al., 2016), sugerindo desta forma que o risco dos animais se infectarem não apresentou correlação entre o sexo ou idade, que poderia interferir no tempo de exposição ao agente e aumentar o risco de infecção.

As outras variáveis utilizadas para se avaliar o grau de risco de infecção, como presença de ratos, acesso dos equinos ao lixo e/ou seu transporte, contato com água parada, acesso a matas ou capoeiras, coabitação com outras espécies animais, vacinação e abortamento também não tiveram significância associada com a sororeatividade, semelhante aos achados de Pinho et al. (2014) em equinos de tração, utilizando as mesmas variáveis.

Alves et al. (2016), ao avaliarem variáveis semelhantes, como presença de roedores e abortamento, também não encontraram associação entre estas e a soropositividade, entretanto, observaram que o fornecimento de pastagem como forragem foi um fator de risco para a infecção dos equinos com o agente, fato este que foi indiferente no presente estudo, já que os equinos eram criados de maneira extensiva, utilizando o pasto como fonte principal de alimentação.

Conclusão

Os resultados do presente estudos demonstram a importância da realização de estudos soroepidemiológicos na região, principalmente para espécie equina, devido ao fato de a infecção nesta espécie ser subclínica, além de se ter a comprovação de que estes animais podem disseminar a bactéria para o ambiente, podendo infectar outras espécies animais e o ser humano (Tadich et al., 2016).

Referências

Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales: Bacterioses e micosis. 3 ed. Washington: OPAS; 2001. 416 p.

Alves JRA, Oliveira KDS, Costa DF, Fernandes LG, Higinio SSS, Alves CJ, et al. Epidemiological characterization of leptospirosis in horses in the state of Pernambuco, northeastern Brazil. *Arq Inst Biol.* 2016;83:e1032014.

Antunes JMAP, Allendorf SD, Appolinário CM, Peres MG, Perotta JH, Neves TB, et al. Sorologia para *Brucella abortus* em equinos de carroças de uma área urbana do Brasil. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2013;65(2):619-21.

Arruda FR, Silva MH, Soares Filho PM, Azevedo EO. Brucelose equina no Estado da Paraíba. *Med Vet (UFRPE).* 2012;6(1):7-10.

Brasil. Instrução Normativa SDA nº 10 de 3 de março 2017. Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT e a Classificação das Unidades da Federação de acordo com o grau de risco para as doenças brucelose e tuberculose. Brasília: MAPA/SDA/DSA; 2017.

Dias HLT, Santos WRR, Santos CV, Lima PDL, Negro AMG, Vascellos SA. Inquérito sorológico para leptospirose em condutores de carroças e equídeos de tração em Belém, Pará. *Rev Cienc Agrar.* 2015;58(4):396-401.

Finger MA, Barros Filho IR, Leutenegger C, Estrada M, Ullmann LS, Langoni H, et al. Serological and molecular survey of *Leptospira* spp. among cart horses from an endemic area of human leptospirosis in Curitiba, southern Brazil. *Rev Inst Med Trop.* 2014;56(6):473-6.

IBGE. Efetivo do rebanho de equinos. 2017 [acesso 8 jan 2019]. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>

Marques JRF, Figueró MR, Saraiva NZ, Leal RP, Sales RL, Costa MR. Equinos em Conservação na Ilha de Marajó, Amazônia, Brasil. *Rev RG News.* 2016;2(2):16-26.

Moraes CCG, Kuroda RBS, Pinho APVB, Ywasaki F, Meneses AMC, Martins AV, et al. Pesquisa de anticorpos para sorovares de *Leptospira interrogans* patogênicas em equídeos criados na ilha de Algodoal, Estado do Pará. *Rev Ci Agra.* 2010;53(2):188-94.

Pinho APVB, Kuroda RBS, Vasconcellos SA, Ferreira Neto JS, Ossada R, Souza VAF, et al. Estudo sorológico da brucelose e leptospirose em equídeos da ilha de Maiandeuá (Algadoal) no Estado do Pará. *Semina Cien Agrar.* 2014;35(6):3221-30.

Ribeiro MG, Motta RG, Almeida CAS. Brucelose equina: aspectos da doença no Brasil. *Rev Bras Reprod Anim.* 2008;32(2):83-92.

Santos ALQ, Lima-Ribeiro AMC, Oliveira SRP, Kaminishi APS, Andrade MB, Menezes LT, et al. Soroepidemiologia da Brucelose em equinos de trabalho de áreas rurais do Município de Uberlândia-MG. *PUBVET.* 2012;6(12):Art.1336.

Tadich TA, Tapia C, González D. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in Working Horses Located in the Central Region of Chile. *J Equine Vet Sci.* 2016;38:14-8.