

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA**

**INQUÉRITO SOROLÓGICO, DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL  
E FATORES DE RISCO PARA LEPTOSPIROSE CANINA  
NA ÁREA TERRITORIAL URBANA DE BOTUCATU - SP**

**WELLIGTON BORGES DA SILVA**

Tese apresentada junto ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária para obtenção  
do título de Doutor

**Orientador: Prof. Dr. José Rafael Modolo**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Helio Langoni**

**BOTUCATU – SP**

**Julho 2006**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
*BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus*

Silva, Welligton Borges da.

Inquérito sorológico, distribuição espacial e fatores de risco para leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu - SP / Welligton Borges da Silva. – 2006.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.

Orientador: José Rafael Modolo

Co-orientador: Helio Langoni

Assunto CAPES: 50502050

1. Leptospirose em animais - Aspectos imunológicos - Estudos experimentais 2. Cão - Doenças – Botucatu (SP)

CDD 636.7089696

Palavras-chave: Leptospirose; Cães; Distribuição espacial; Grau de escolaridade; Renda familiar

**Autor: WELLIGTON BORGES DA SILVA**

**Julho 2006**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**-Prof. Dr. José Rafael Modolo:**\_\_\_\_\_

**-Prof. Dr. Antonio Carlos Paes:**\_\_\_\_\_

**-Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani:**\_\_\_\_\_

**-Prof. Dr. Sílvio Arruda Vasconcellos:**\_\_\_\_\_

**-Profa. Dra. Lígia Barrozo Simões:**\_\_\_\_\_

# *D***EDICATÓRIA**

---

**D**EDICO,

*A minha mãe Ione e ao meu pai Adonias, gente humilde deste país,  
que carregam nos olhares a esperança, nas mãos  
calejadas do tempo a dignidade e nos  
lábios palavras sinceras  
de amor.*

**DEDICO,**

*Ao meu orientador José Rafael Modolo, a quem só posso chamar de amigo e anjo da guarda, que, em alguns momentos difíceis pelo quais passei durante este período, soube me compreender, incentivar e conduzir sempre de forma protetora contra qualquer problema que pudesse surgir; auxiliou a definir meu perfil em planejamento de saúde animal e saúde pública, extensionista e científico, ademais acreditou em mim até agora para juntos desenvolvermos esta tese.*

# **AGRADECIMENTOS**

## AGRADECIMENTOS

O tempo é o senhor da felicidade e neste tempo aproveitei para ser feliz fazendo amigos. Agora quero agradecer a todos que ajudaram nesta tese.

Ao Prof. Ass. Dr. Antonio Carlos Paes pelos ensinamentos transmitidos desde o dia em que cheguei à UNESP até hoje, além de conceder residentes e estagiários da disciplina de Moléstias Infecciosas para que pudessem ajudar na colheita das amostras e na coleta dos dados para realização deste experimento. Não me esquecerei dos estímulos para que tudo desse certo e, acima de tudo, da grande amizade que o tempo jamais apagará.

Ao Prof. Titular Helio Langoni, com seu espírito de pesquisador e incentivador a todos que o procuram, que prontamente colocou seu laboratório à disposição, fornecendo os sorovares e auxiliando na preparação dos meios de cultura, ambos de fundamental importância para esta tese, além dos ensinamentos ofertados, lhe agradeço.

À Profa. Dra. Lígia Barrozo Simões, que contribuiu de forma esplêndida com seu trabalho em relação à distribuição espacial de animais sororeagentes à *Leptospira* spp., pelo incentivo e amizade.

Ao Prof. Titular Carlos Roberto Padovani, do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências de Botucatu, sempre solícito, objetivo e esclarecedor em suas colocações, pelo auxílio na análise estatística.

À grande amiga pós-graduanda Ana Lúcia Scarelli Lopes pelo trabalho desenvolvido a campo, laboratorial e escrito, assim como ao incentivo durante todo o percurso, pois pessoas como você merecem todas as bênçãos dos céus.

À toda equipe da Disciplina de Zoonoses, particularmente às ex-residentes Érica Maemi Tanaka e Júlia Plombon Pinheiro, pelo apoio laboratorial e solidariedade.

Aos pós-graduandos da Área de Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar, André Oliveira, Anee Valéria, Bárbara Lima, Cassiano Victória, Fábio Hiroto, Luciany Mary, Marco Antonio, Sandia Bergamaschi, Tamara Cortez, Fábio Gabriel e Vanessa Yuri, pela ajuda no trabalho a campo e laboratorial, sem medirem esforços.

Às residentes da Área de Planejamento de Saúde Animal e Saúde Pública, Aneli Neves, Walkiria Prado, e às técnicas de laboratório, Adriana Cristina Pavan Vieira e Tânia Maria Martins, por toda a compreensão e ajuda prestada para viabilizar este trabalho.

A Rosângela Maria Giarola, do Laboratório de Saúde Coletiva do Depto. de Saúde Pública da Faculdade de Medicina – UNESP/Campus de Botucatu, pela valiosa colaboração sobre o inquérito neste trabalho, pelo incentivo e amizade.

Ao Médico Veterinário Jonas Lotufo Brant, da Secretaria Municipal de Saúde de Botucatu, SP, pela ajuda técnica dos mapas, apoio na colheita sangüínea dos cães, agradeço-lhe.

Às bibliotecárias Luciana Pizzani e Rosemery Cristina da Silva pelas primorosas correções e revisões da organização das referências bibliográficas, pelos incentivos e amizade.

Às secretárias da pós-graduação Denise Aparecida Fioravante Garcia, Maria Regina Tenor Forlin e Maria Aparecida Dias de Almeida Manoel, que sempre foram solícitas para informar e resolver os problemas da pós-graduação.

Aos Prof. Ass. Dr. Márcio Garcia Ribeiro e Prof. Ass. Dr. Paulo Francisco Domingues pelos ensinamentos e orientações nos estágios de docência, os quais levarei por toda minha vida, assim como pela amizade firmada.

Aos meus amigos (alguns até de outras áreas) que solidariamente participaram na colheita das amostras e dos dados sobre os cães, Helaine Cristina Pires dos Santos, Lílian Cassiane Fogaça, Lucinéia Maria Geronutti, Maria Izabel Merinon de Medeiros, Otávio Augusto Filho, Renata Guimarães Rolim, Tatiana Evelyn Hayama Ueno, Vanessa Zappa e Viviane Helena Chirineá.

À minha família pela compreensão da minha ausência durante esses anos, aos meus irmãos Iêda Maria, Ioneide Borges, Washington Luís, Íris Maria, Elaine Karla e meus sobrinhos Silvanice, Lorena, Alana, Ramilla, Thiago, Tamires, Rhaelen, Ramon, Sâmila, Mateus, Anee Evelin, Rhian e Luhan Vinícius. Também aos meus cunhados Magnete, Pedro, Marcone e Gleuber. Minha avó-mãe Maria, madrinha Irene e meus primos Clayton, Ligia, Gincardo e Erisvaldo (*in memorian*), o amor de vocês me fez seguir.

À Profa. Adj. Jane Megid pelo apoio no doutorado, pela amizade e estímulo.

Aos funcionários do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, em especial aos secretários José Wanderley Forlin e Sérgio Fávero, que com muita paciência e eficiência trouxeram soluções para meus problemas burocráticos.

À última remanescente da República dos Belos, minha amiga Juliana Semim Cavalheiro, que durante anos enfrentamos dias felizes e tristes longe de casa, nos quais foi formada e solidificada uma grande amizade que o tempo e o espaço jamais dissolverão, fica aqui meu coração.

Aos meus amigos que passaram pela República dos Belos, Daniel Moura de Aguiar, Jaime Galvão Dias Junior, Keila Cristina de Lima, Amanda Keller Siqueira, Isabela Bazzo da Costa, Cristinane Bazzo (kit), Cristiano Galhardi, Rodrigo Perenette, Eduardo (Quito), que juntos vivemos dias felizes, as saudades de vocês já fazem parte.

À grande amiga, minha mãe adotiva Betty, e família, que me acolheram em sua casa como a um filho quando precisei ficar em Belém, PA, pelo amor eterno que ficou e palavras de carinho, com saudades lhes presto esta homenagem.

Também aos meus grandes amigos André Meneses, André Peres, Roseli Bianca, Liliane Dantas, Carla Moraes, Cláudio Benedito, Cristina Haanwinckel, Cristiane Nakada, Danilo Carreira, Darlene Porto, Fábio Tavares, Luís Felipe, Nair Cavalcanti, Rodrigo Costa, Rogerio Giuffrida, Taís Fukuta, Vanessa Salgado, pois nossos caminhos estão sendo traçados pela vida, mas com certeza a nossa amizade, os nossos sorrisos e palavras fraternas fixadas nestes momentos, o tempo fortificará.

À equipe de apoio do Departamento, Dona Maria, Dona Rita, Sr. Humberto, Adilson (Pardal), Rodrigo Carreira e Dona Jeni que sempre matava nossa fome nos trazendo seus pães, jabuticabas e sorrisos.

A todos os professores que fizeram parte da minha grade curricular, os quais se dispuseram a passar seus conhecimentos de grande valia.

Também a todos os colegas que freqüentavam as aulas durante o doutorado, ficando a certeza de uma grande amizade.

À Capes pela concessão da bolsa de doutorado que promoveu minha permanência na FMVZ - UNESP/Botucatu para desenvolver esta pesquisa.

À Secretaria de Saúde do município de Botucatu, SP, pela colaboração durante a colheita dos materiais, no período da 33a. campanha de vacinação anti-rábica.

Aos demais, que por um fatídico lapso de memória não foram citados, peço desculpas, mas tenham a certeza da minha profunda gratidão.

***E*ΠÍΓΡΑΦΕ**

---

## EPÍGRAFE

*Eu nasci naquela serra  
Num ranchinho à beira-chão  
Todo cheio de buracos  
Onde a lua faz clarão...  
E quando chega a madrugada  
Lá na mata a passarada  
Principia um barulhão*

*“Tristezas do Jeca, Angelino de Oliveira (1889-1964)”.*

*Não nasci naquela serra...  
Mas dela muita falta sentirei,  
Levarei no coração mil saudades dos meus amigos, do luar e do frio  
encantador...  
Foste tu, minha querida Botucatu, que nestes longos anos em minha  
alma te enraizaste e agora te transformas em dor.*

*Welligton Borges da Silva*

# *L*ISTA DE *Q*UADROS

# LISTA DE QUADROS

	<b>PÁGINA</b>
<b>Quadro 1</b> – Inquérito feito aos proprietários dos cães.....	48

# *L*ISTA DE *T*ABELAS

# LISTA DE TABELAS

	PÁGINA
<b>Tabela 1</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006.....	56
<b>Tabela 2</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a faixa etária e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	57
<b>Tabela 3</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o sexo e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	57
<b>Tabela 4</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a raça e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006.....	58
<b>Tabela 5</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a condição de manter contato com outros animais e o respectivo animal. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	58
<b>Tabela 6</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o acesso a águas e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	59
<b>Tabela 7</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a origem das águas e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006.....	59

**PÁGINA**

<b>Tabela 8</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o tipo de alimentação e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	60
<b>Tabela 9</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose quando o proprietário deixa ou não alimento e água durante a noite e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006. 60	60
<b>Tabela 10</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o grau de escolaridade do proprietário e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	61
<b>Tabela 11</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a renda familiar e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	61
<b>Tabela 12</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose nos 20 postos de colheita e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	62
<b>Tabela 13</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o período da vacinação contra a leptospirose. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006.....	70
<b>Tabela 14</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo sorovar e o título de reação. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	71
<b>Tabela 15</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo os títulos máximos de coaglutinações. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006 .....	72

	<b>PÁGINA</b>
<b>Tabela 16</b> – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo os títulos mais baixos. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006.....	73

# *L*ISTA DE DE *F*IGURAS

# LISTA DE FIGURAS

	PÁGINA
<b>Figura 1</b> – Meio de cultura de Fletcher .....	50
<b>Figura 2</b> – Meio de cultura de EMJH .....	51
<b>Figura 3</b> – Prova de soroaglutinação microscópica (SAM), observação de aglutinações (BRASIL, 1995) .....	52
<b>Figura 4</b> – Esgotos a céu aberto desembocando dentro do córrego que margeia a Vila São Luís .....	63
<b>Figura 5</b> – Lixos à revelia nas ruas da Vila São Luís .....	64
<b>Figura 6</b> – Cão urinando no meio ambiente na Vila São Luís .....	64
<b>Figura 7</b> – Mapa da área territorial urbana de Botucatu, SP, com demarcação dos 20 postos onde se realizaram as colheitas (as estrelas representam os postos de vacinação onde não foram obtidas amostras) .....	65
<b>Figura 8</b> – Distribuição espacial do resultado do levantamento sorológico realizado para leptospirose na área territorial urbana de Botucatu, SP .....	66
<b>Figura 9</b> – Mapa do percentual de cães sororeagentes à <i>Leptospira</i> spp., em classes de desvio-padrão, abaixo (azuis) e acima da média (laranjas). .....	67
<b>Figura 10</b> – Diagrama de dispersão de Moran: o eixo x refere-se ao desvio do percentual de reagentes e o eixo y, à defasagem espacial em relação à média ponderada. (As linhas tracejadas em vermelho indicam os limites a partir dos quais os valores podem se tornar significativos). .....	68
<b>Figura 11</b> – Mapa dos indicadores locais de associação espacial (LISA) .....	69

# SUMÁRIO

# SUMÁRIO

	<b>PÁGINA</b>
<b>I INTRODUÇÃO</b> .....	29
<b>II REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	32
<b>III OBJETIVOS</b> .....	45
<b>IV MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	47
4.1. Caracterização do município de Botucatu, SP.....	48
4.2. Inquérito para os proprietários dos cães.....	48
4.3. Alocação dos animais e dos postos.....	49
4.4. Colheita de sangue.....	49
4.5. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM).....	49
4.5.1. Triagem.....	51
4.5.2. Titulação.....	53
4.6. Análise estatística.....	53
4.7. Análise espacial.....	54
<b>V RESULTADOS</b> .....	55
<b>VI DISCUSSÃO</b> .....	74
<b>VII CONCLUSÕES</b> .....	87
<b>VIII BIBLIOGRAFIA</b> .....	89
<b>ANEXOS</b> .....	105
Anexo A. 1. Preparo de meios de culturas.....	106
Anexo B. 1. Análise espacial – procedimentos.....	109

# *R*ESUMO

## RESUMO

SILVA, W.B. **Inquérito sorológico, distribuição espacial e fatores de risco para leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu – SP.** 2006, 111p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP.

A leptospirose é uma zoonose cosmopolita que acomete animais domésticos, silvestres e roedores. Entre os domésticos, em nível urbano, no Brasil, os cães são as principais fontes de infecção para os seres humanos. Em 20 postos distribuídos homogeneamente pela área territorial urbana de Botucatu, SP, foram colhidas 1 000 amostras de sangue de cães. Foi utilizado para diagnóstico a soroaglutinação microscópica (SAM) com 24 sorovares de *Leptospira* spp. Houve 179 soros caninos reagentes. Cães de idade acima de cinco anos (66/248) foram os que apresentaram maior frequência de sororeagentes, demonstrando diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Os machos (110/548) apresentaram maior frequência de sororeagentes que as fêmeas (69/452) ( $p < 0,05$ ). Cães sem raça definida (127/670) apresentaram maior frequência absoluta que os com raça (52/330), porém não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Entre os cães que tiveram contato com outros animais (cão/gato/bovino/eqüino) (7/11) houve maior frequência de sororeagentes ( $p < 0,05$ ). Entre os animais que tinham acesso a águas (23/107) houve maior frequência de sororeagentes que os sem acesso (156/893), contudo não ocorreu diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Os cães com acesso a córrego/lago (5/13), apresentaram maior frequência de sororeagentes, porém não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Alimentados com ração/caseira (70/285) foram mais sororeagentes ( $p < 0,05$ ). A quantidade de cães sororeagentes dos proprietários que não deixaram alimento e água durante a noite (65/326) foi mais elevada ( $p > 0,05$ ). Houve maior frequência de sororeagentes para leptospirose entre os cães de proprietários com formação de ensino fundamental (122/627) ( $p < 0,05$ ). Em proprietários com renda de um a três salários mínimos houve maior quantidade de cães sororeagentes (83/411) ( $p < 0,05$ ). O posto da Vila São Luís apresentou a maior quantidade (44,2%) e o

de menor foi o da COHAB – V (6,0%). Vinte sorovares soroaglutinaram, com destaque para: Castellonis (28,68%), Autumnalis (19,12%), Pyrogenes (17,65%), Icterohaemorrhagiae (11,03%) e Canicola (9,56%). A distribuição espacial apresenta um fraco padrão de dispersão, porém há destaques significativos de diferenciação das respostas. Não obstante, os resultados revelaram que os cães sororeagentes podem ser fator de risco para as famílias que coabitam com esses animais, assim como são indicadores de diferentes sorovares presentes na área. Outrossim, esta variabilidade deve ser considerada na elaboração de vacinas mais apropriadas.

**Palavras-chave:** Leptospirose; Cães; Distribuição espacial; Grau de escolaridade; Renda familiar.

# **Abstract**

## ABSTRACT

SILVA, W.B. **Serological inquiry, spatial distribution and risk factors to canine leptospirosis in urban territorial area of Botucatu – SP.** 2006, 111p. Thesis (Doctor) - Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry, Campus of Botucatu, São Paulo State University “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP.

Leptospirosis is a cosmopolitan zoonosis that affects domestic and wild animals, and rodents. Among the domestic animals, in urban environment, in Brazil, dogs are the main source of infection for human beings. In 20 points distributed homogenously for urban territorial area of Botucatu, SP, 1 000 blood samples of dogs were collected. Microscopic agglutination test (MAT) was used to the diagnosis, with 24 serovars of *Leptospira* spp., there were 179 canine sera reagents. Dogs with age over than five years (66/248) were those that presented higher frequency of reagents, demonstrating significative difference ( $p < 0.05$ ). Male dogs (110/548) presented higher frequency of reagents than females (69/452) ( $p < 0.05$ ). Dogs without defined breed (127/670) presented higher absolute frequency than those with breed (52/330), but there was not significative difference ( $p > 0.05$ ). Among the dogs that had contact with other animals (dog/cat/bovine/equine) (7/11) there was higher frequency of reagents ( $p < 0.05$ ). Among the animals that had access to waters (23/107) there was higher frequency of reagents than those without access (156/893), however did not occur significative difference ( $p > 0.05$ ). In the dogs with access to stream/lake (5/13), presented higher frequency of reagents, but there was not significative difference ( $p > 0.05$ ). Those fed with concentrate/homely food (70/285) were more reagents ( $p < 0.05$ ). The quantity of dogs reagents from owners that did not offer food and water during the night (65/326) was higher ( $p > 0.05$ ). There was higher frequency of reagents to leptospirosis among the dogs from owners with basic teaching formation (122/627) ( $p < 0.05$ ). In owners with income of one to three minimum wages there was higher quantity of dogs reagents (83/411) ( $p < 0.05$ ). Vila São Luís point presented higher quantity (44.2%) and the lower was the one from COHAB – V (6.0%). Twenty serovars agglutinated, with distinction to: Castellonis (28.68%), Autumnalis (19.12%),

Pyrogenes (17.65%), Icterohaemorrhagiae (11.03%) and Canicola (9.56%). The spatial distribution presented a weak dispersion profile, but there are significant distinctions of differentiation of the responses. Thus, the results revealed that the reagent dogs can be a risk factor to the families that cohabit with these animals, as well as they are indicators of different serovars presents in the area. Furthermore, this variability should be considered in the elaboration of more appropriated vaccines.

**Keywords:** Leptospirosis; Dogs; Spatial distribution; Scholary degree; Familiar income.

# **INTRODUÇÃO**

## / - /NTRODUÇÃO

A leptospirose vem consolidando-se cada vez mais, quer como zoonose, quer como problema de saúde pública, em face dos prejuízos dela decorrentes devido a alta incidência e letalidade dos casos, que ocorrem de forma isolada ou em surtos epidêmicos sazonais (BRASIL, 1995).

É uma zoonose de ampla distribuição geográfica e de grande importância em cães e em outras espécies de animais domésticos e silvestres (GREENE et al., 1998; BHARTI et al., 2003; SILVA et al., 2004).

Em 460a.c. Hipócrates descreveu a icterícia infecciosa. Em 1800 foi determinada e diferenciada por Larrey, médico militar francês, que observou no exército napoleônico no Cairo, Egito, dois casos em humanos. Hofer, no ano de 1850, foi quem primeiro relatou casos de cães com essa doença. Weil em 1886, na Alemanha, descreveu humanos com sinais clínicos característicos de leptospirose. Em 1898, Klett constatou uma epizootia canina e denominou como doença de Stuttgart. Stimson nos EUA, em 1907, estudando cortes de rins de pacientes, verificou a presença do agente e o denominou *Spirochaeta interrogans*. Em 1918, na Alemanha, Uhlenhuth e Fromm descobriram que o agente da icterícia infecciosa canina era um espiroqueta. No Brasil, os primeiros a estudarem esta doença em cães foram Dacorso Filho em 1940 e Azevedo & Santos em 1945 (CORRÊA & CORRÊA, 1992; HORSCH, 1999; ENRIETTI, 2001).

As leptospirosas são eliminadas do organismo animal pela urina, contaminando o meio ambiente. Os verdadeiros reservatórios das bactérias são os próprios animais, que têm uma leptospiúria prolongada e geralmente não apresentam sinais clínicos da doença. As condições do meio ambiente são importantes para a sobrevivência do agente causal, visto que requerem um ambiente úmido, com pH neutro ou ligeiramente alcalino e uma temperatura favorável (ACHA & SZYFRES, 2003), como os encontrados especialmente nas regiões tropicais, onde a leptospirose apresenta-se de forma endêmica (GONSALEZ et al., 1998).

A infecção do homem e dos animais pode se estabelecer direta ou indiretamente, mediante abrasões na pele e das mucosas oral, nasal e

conjuntiva. A via mais comum é a indireta, por meio de água, solo e alimentos contaminados pela urina de animais infectados (ACHA & SZYFRES, 2003).

Os fatores de risco associados à infecção dependem também de características da organização espacial, dos ecossistemas e das condições de vida e trabalho da população (MURHEKAR et al., 1998). A análise espacial tem sido aplicada em epidemiologia para auxiliar a compreensão da dinâmica das doenças infecciosas, crônicas não-infecciosas ou decorrentes de fatores ambientais transitórios (MARSHALL, 1991). O cão, dentre os animais domésticos urbanos, é uma das principais fontes da leptospirose humana, pois vivem em contato direto com o homem (ALVES et al., 2000).

A doença nos cães apresenta-se de forma aguda, febril, com grave sintomatologia entérica, hepática e renal, muitas vezes acompanhada de hemorragias generalizadas e icterícia, podendo ocorrer sinais encefálicos e abortamentos (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

A leptospirose animal representa um ponto de preocupação para os profissionais envolvidos com a saúde animal e saúde pública veterinária (BRASIL, 1995).

É uma doença presente em países emergentes, sendo justificáveis trabalhos epidemiológicos em busca da sua dinâmica, para que sejam utilizadas medidas profiláticas e de controle.

*REVISÃO DE LITERATURA*

## ***II* - REVISÃO DE LITERATURA**

A leptospirose é uma doença infecto-contagiosa aguda, zoonótica, cosmopolita, que acomete várias espécies de animais domésticos, silvestres e roedores. Entre os domésticos, em áreas urbanas, os cães assumem o papel de importantes fontes de infecção para os seres humanos (CORRÊA & CORRÊA, 1992; FAINE et al., 1999; MICHEL et al., 2002; SARKAR et al., 2002; ASLANTAŞ et al., 2005; LILENBAUM et al., 2005; LOPES et al., 2005).

A leptospirose tem como sinónimas Febre dos Arrozais, Febre de Andamana, Febre de Fort Bragg, Febre dos Nadadores, Febre dos Pântanos, Febre dos Chiqueiros, Febre de Outono, Febre dos Sete Dias, Icterícia Infeciosa, Doença de Weil e Doença de Stuttgart ou Tifo Canino (CARTER, 1988; AIELLO & MAYS, 2001; CORRÊA & CORRÊA, 1992; SALLES & LILENBAUM, 2000; LOMAR et al., 2002).

A leptospira, agente etiológico da leptospirose, pertence à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae*, gênero *Leptospira* e divide-se em 12 genótipos distintas, *L. alexanderi*, *L. biflexa*, *L. borgpetersenii*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii*, *L. meyeri* e *L. wolbachii*, com mais de 250 sorovares (LETOCART et al., 1997; PEROLAT et al., 1998; BRENNER et al., 1999; QUINN et al., 2005, MERIEN et al., 2005). São microrganismos aeróbios obrigatórios, helicoidais, flexíveis e móveis, medindo usualmente de 6 a 20 µm de comprimento e de 0,1 a 0,2 µm de diâmetro. Apresentam as extremidades dobradas ou em forma de gancho e são constituídos por um corpo citoplasmático e um axóstilo ou filamento axial enrolados em espiral, sendo ambos envolvidos por uma membrana denominada envelope ou membrana envolvente. O citoplasma, por sua vez, é envolvido por uma membrana citoplasmática e uma camada de peptidoglicano, formando um complexo (complexo membrana citoplasmática-peptidoglicano). Na verdade, o axóstilo é constituído por dois flagelos periplasmáticos localizados entre a membrana envolvente e o corpo citoplasmático, cabendo àquela organela a motilidade da leptospira.

As leptospiras são cultiváveis em meios artificiais, sendo os mais empregados os meios de Fletcher, Stuart ou o de EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris). Crescem bem a um pH de 7,2 - 7,8, numa

temperatura ótima de 28 - 30° C, necessitando de um tempo variável de incubação de alguns dias a algumas semanas, geralmente quatro semanas (CORRÊA & CORRÊA, 1992; GREENE et al., 1998; HORSCH, 1999; LOMAR et al., 2002; QUINN et al., 2005). Também podem ser isoladas por inoculação de material asséptico em *hamsters* e cobaias (LOMAR et al., 2002). A sobrevivência do microrganismo no ambiente depende muito das variações das condições do solo e da água da região contaminada. A bactéria é sensível ao ressecamento, sendo inibida em pH inferior a seis ou superior a oito. Temperaturas ambientais inferiores (7°C a 10°C) ou superiores (34°C a 36°C) prejudicam a sobrevivência do microrganismo e são facilmente inativadas por desinfetantes.

A umidade e água presentes no solo são os fatores mais importantes para a permanência e persistência do agente, há registros de sobrevivência por até 183 dias em solo saturado com água, mas sobrevive apenas 30 minutos quando o solo está seco ao ar. A sobrevivência é maior em água parada que em água corrente. Entretanto, mesmo assim, existem relatos de sobrevivência do agente em água corrente por 15 dias (RADOSTITS et al., 2002). Eles têm curta sobrevivência em água salgada e no leite não-diluído, mesmo quando proveniente de animais doentes (LOMAR et al., 2002).

O grande número de sorovares existente dificulta os estudos, uma vez que podem ocorrer variações regionais, bem como variações nas espécies estudadas. Constata-se, ainda, uma predileção dos diferentes sorovares por determinadas espécies, podendo um hospedeiro ser infectado simultaneamente por mais de um sorovar (ACHA & SZYFRES, 2003).

Em cães com leptospirose, os sorovares mais comumente encontrados nos exames sorológicos são Icterohaemorrhagiae e Canicola, no entanto, outros são relatados com menor frequência como: Pomona, Grippotyphosa, Castellonis, Pyrogenes, Australis, Andamana, Shermani, Cynopteri, Celledoni, Autumnalis, Australis, Ballum, Javanica, Bratislava, Hardjo, Hardjobovis, Hebdomadis, Butembo, Illini, Sejroe, Paidjan, Tarassovi, Patoc, Panama, Wolffi, Brasiliensis, Bataviae e Copenhageni (RYU, 1976; FARRINGTON & SULZER, 1982; VAN DEN BROEK et al., 1991; GREENE et al., 1998; SCANZIANI et al., 1994; ALVES et al., 2000; PRESCOTT et al., 2002; SILVA et al., 2003b; BATISTA et al., 2004; RODRIGUEZ et al., 2004; BROD et al., 2005).

As leptospirosas podem ser transmitidas pelo contato direto, transmissão venérea e placentária, feridas ou ingestão de carne infectada. Já a transmissão indireta ocorre por meio da exposição de animais susceptíveis à vegetação, solo, alimentos, água contaminada e fômites (GREENE et al., 1998).

A incidência da leptospirose é mais elevada em regiões tropicais que nas temperadas e sua casuística é mais significativa em estações chuvosas durante as enchentes; é considerada um sério problema de saúde pública em países em desenvolvimento (TREVEJO et al., 1998; DAHER & NOGUEIRA, 2000; PLANK & DEAN, 2000; BRASIL, 2004; LEVETT, 2004). Em países desenvolvidos tem sido identificada como uma zoonose reemergente (KATZ et al., 2002). Também o componente sócio-econômico-cultural, que corresponde a interferências do homem sobre o ecossistema, favorece o aumento de doenças. Da mesma forma, incluem-se nessa categoria fatores variados como os hábitos sociais e alimentares, as crenças religiosas e as condições tecnológicas (estruturas sanitárias, natureza do trabalho) (CÔRTEZ, 1993). Indicadores sócioeconômicos de doença em relação à renda e grau de escolaridade foram bem notados por Gonçalves et al. (2002), em Florianópolis, SC, os quais relataram índices mais elevados de doença na população de menor renda e baixo grau de escolaridade.

Desta forma, a leptospirose é considerada uma doença sócioeconômica que acomete indivíduos com profissões de baixo nível de remuneração e de escolaridade, que habitam ou trabalham em locais com más condições de saneamento. As categorias profissionais de maior risco, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, são os veterinários, os trabalhadores de esgotos, os agricultores, os pecuaristas, os laboratoristas, os açougueiros e os de limpeza pública (VASCONCELOS et al., 1992; LANGONI, 1999; BRASIL, 2002; JOHNSON et al., 2004; NÁJERA et al., 2005).

A leptospirose pode ocorrer em outras espécies de animais domésticos que não o cão, como constatado por Favero et al. (2002) em vários estados do Brasil, relatando 0,7% de reagentes em ovinos, de 5,61% em caprinos, de 14,9% em suínos, de 27,94% em eqüinos e de 43,7% em bubalinos. Entre os bovinos houve uma variação de 25,2% a 62,5% (FAVERO et al., 2001). Langoni et al. (1998) em vários municípios do estado de São Paulo e de Foz do Iguaçu, PR, encontraram de 4,5% de gatos reagentes. Alves et al. (2003), ao

avaliarem títulos de anticorpos contra *Leptospira* spp. em gatos no município de Patos, PB, com uma coleção de 24 sorovares, encontraram 12% de reagentes, os sorovares predominantes foram Autumnalis (39,13%), Pomona (34,78%), Bratislava e Icterohaemorrhagiae (13,04%).

O cão, pelo seu hábito domiciliar, tem sido cada vez mais identificado como elemento de importância na transmissão da leptospirose ao homem (WEEKES et al., 1997; BROD et al., 2005) e pode ser uma importante fonte de surtos (LEVETT, 2001). Animais que vivem em áreas urbanas, cujas condições sanitárias e de infra-estrutura são precárias, junto a lixões, esgotos a céu aberto, depósitos de materiais descartados, restos alimentares e promiscuidade com outras espécies animais, apresentam maior risco de adquirirem a leptospirose (GENOVEZ, 1996). Mesmo sendo imunizados, podem excretar leptospiras na urina por um longo período de tempo. O contato indireto com água ou solo contaminado com urina de animais portadores é via comum de infecção para o homem (BHARADWAJ, 2004).

A análise espacial de informações ambientais e de saúde permite a identificação de variáveis que revelam a estrutura social, econômica e ambiental, em que riscos à saúde estão presentes (BARCELLOS & BASTOS, 1996). O padrão de distribuição espacial de uma doença permite inferir sobre alguns processos como o contágio e sua difusão em determinada localidade. O processo de difusão, por exemplo, implica num padrão de valores que não é espacialmente aleatório, sugerindo altas incidências próximo à localização de origem. Quando existem barreiras que impedem a difusão (como barreiras físicas ou sócioeconômicas), o padrão espacial também reflete ausência de aleatoriedade na forma de áreas de baixas taxas. Dessa forma, o primeiro passo no processo de identificação de padrões espaciais é a comparação de valores observados a uma hipótese nula de aleatoriedade espacial. Quando a aleatoriedade não pode ser rejeitada, há pouco suporte para algumas hipóteses, como a de difusão (MESSNER et al., 1999).

A primeira fase da análise espacial consiste no mapeamento da distribuição geográfica da doença, o qual poderá sugerir hipóteses para futuras investigações ou como parte de um levantamento epidemiológico e monitoramento dos problemas de saúde (BAILEY, 2001). Outra fase consiste no cálculo de coeficientes que medem a dependência (autocorrelação) espacial

global e local das taxas estudadas. A utilização dessas técnicas justifica-se pelo fato da inspeção visual de mapas ser imprecisa na identificação de padrões. A percepção humana tende a encontrar padrões mesmo em dados espacialmente aleatórios (MESSNER et al., 1999).

A infecção nos cães pode variar de assintomática a quadros clínicos graves. A leptospirose aguda tem início súbito com emese, diarreia, anorexia, hipertermia e depressão. A forma mais grave é a hemorrágica, que se instala repentinamente e a temperatura permanece geralmente acima de 41° C por dois a quatro dias, seguida por rigidez e mialgias nos membros posteriores, hemorragias na cavidade bucal com tendência a necroses e faringites. Em uma etapa posterior, haverá gastroenterite hemorrágica, hepatite, nefrite aguda, causando intensa dor abdominal, o que leva o animal a andar pouco e com o dorso arqueado. As mucosas estarão congestionadas, principalmente a conjuntiva, apresentando icterícia, que poderá ser estimada ao se observar a esclerótica ou ser tão intensa que se tornará visível na mucosa bucal e pele. A urina apresenta-se de cor amarelo âmbar e surgem úlceras bucais com odor urêmico. Tanto na infecção pelo sorovar *Canicola* como pelo *Icterohaemorrhagiae* pode haver icterícia, predominando esse sintoma, sobretudo na infecção por este último sorovar (CORRÊA & CORRÊA, 1992; GRENEE et al., 1998; ACHA & SZYFRES, 2003).

No Brasil, Santa Rosa et al. (1969-1970) no Instituto Biológico de São Paulo, durante nove anos, investigaram a leptospirose em 426 cães. O método utilizado foi o de soroaglutinação microscópica (SAM) com uma coleção de 17 sorovares de leptospirosas: *Copenhageni*, *Canicola*, *Pomona*, *Grippotyphosa*, *Guidae*, *Sawajizak*, *Wolffi*, *Australis*, *Bataviae*, *Brasiliensis*, *Castellonis*, *Panama*, *Pyrogenes*, *Javanica*, *Autumnalis*, *Butembo* e *Patoc*. Das amostras analisadas 60/426 (14%) foram reagentes, com títulos que variaram de 200 a 12 800 e nestas o sorovar *Icterohaemorrhagiae* 45/60 (75%) foi o que mais prevaleceu. Houve, também, evidências sorológicas para os sorovares *Canicola* 8/60 (13,33%), *Sejroe* 2/60 (3,33%), *Pomona*, *Tarassovi*, *Australis*, *Bataviae* e *Pyrogenes* 1/60 (1,66%).

No Hospital Veterinário da Faculdade Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal - FCAVJ/UNESP, Morales et al. (1990) avaliaram a frequência da leptospirose canina durante os anos de 1986 a 90. Foram diagnosticados

cl clinicamente e confirmados pela soroglutinação microscópica 88 casos da doença. Os animais com dois a cinco anos de idade representaram mais de 50% dos casos. O número de casos da doença em machos foi de 60, enquanto que em fêmeas, 28. O sorovar mais freqüente foi o Canicola, em 45 animais. O segundo mais freqüente foi o Icterohaemorrhagiae, com 36 amostras de soros reagentes, seguido pelos Pomona e Grippotyphosa.

Araújo et al. (2000) analisaram 141 amostras de soro de cães domiciliados do município de Cananéia, SP, a fim de pesquisar a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. pelo método de SAM, utilizando como antígenos 12 sorovares. Detectou-se nos soros caninos analisados a prevalência de 45/141 (31,91%) reagentes, em que o sorovar Canicola foi responsável por 13/45 (28,89%) dos reagentes. Sugerindo que exista uma prevalência significativa da bactéria nos cães da cidade, é necessária uma campanha de educação em saúde, elucidando essencialmente as medidas de controle e prevenção para tal enfermidade, principalmente no que diz respeito ao controle de roedores, à coleta regular de lixo e à vacinação dos cães.

Modolo et al. (2000) estudaram a soroprevalência de títulos de anticorpos contra *Leptospira* spp. em 775 cães do município de Botucatu, SP, em amostras de sangue obtidas dos animais durante a campanha anual de vacinação anti-rábica. Do total de amostras coletadas 449 eram de machos e 326 de fêmeas; 564 de animais sem raça definida e 211 puros e as idades variavam de três meses a 20 anos. Foi utilizada a técnica de SAM com antígenos vivos em uma coleção de 12 sorovares, o ponto de corte da triagem foi a diluição de 1:100. Houve 119 (15,4%) amostras reagentes, com maior freqüência para os sorovares Canicola 77/119 (64,7%) e Pyrogenes 60/119 (50,4%), seguidos dos sorovares Icterohaemorrhagiae 22/119 (18,5%), Copenhageni 17/119 (14,3%), Autumnalis 14/119 (11,7%), Bratislava 12/119 (10,1%), Pomona 5/119 (4,2%), Australis e Hardjo 4/119 (3,3%), Grippotyphosa 2/119 (1,6%) e Djasiman 1/119 (0,8%). Foi constatado diferença significativa em relação a raça e sexo, com 100/119 (84%) nos animais sem raça definida e em 19/119 (16%) nos demais. Quanto ao sexo, em 83/119 (69,75%) de machos e 36/119 (30,25%) de fêmeas. Em relação à idade, não houve diferença significativa, com distribuição uniforme nas faixas etárias estabelecidas.

No município de Oriximiná, PA, Lilenbaum et al. (2000) pesquisaram a presença de aglutininas antileptospiras em amostras sanguíneas de 185 cães, a fim de identificar o mais provável sorovar infectante; considerou-se a positividade de um soro para o sorovar em que houve maior título de aglutinação, o ponto de corte foi a titulação 100. Como antígenos, foram utilizadas 11 culturas de leptospiras dos sorovares Australis, Autumnalis, Bratislava, Castellonis, Bataviae, Canicola, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Pomona e Wolffi. Do total de amostras analisadas, 34 (18,4%) foram reativas e os sorovares mais freqüentemente encontrados foram Icterohaemorrhagiae 19/34 (55,9%), Copenhageni 9/34 (26,5%) e Canicola 6/34 (17,6%). Os sorovares Icterohaemorrhagiae e Canicola estão classicamente ligados ao ciclo urbano da leptospirose, uma vez que apresentam como reservatórios principais o roedor e o próprio cão. Sua ocorrência está diretamente ligada a fatores ambientais tais como saneamento básico, índices pluviométricos e coleta regular de lixo. Estas condições estão diretamente relacionadas ao crescimento da população de roedores e na ocorrência de contato direto ou indireto do homem ou do cão com a água contaminada pela urina desses reservatórios sinantrópicos.

Viegas et al. (2001b), com o intuito de avaliar a freqüência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em soros de cães errantes e identificar as áreas de maiores riscos, colheram amostras sorológicas de 120 cães em vários distritos sanitários da cidade de Salvador, BA. Utilizaram como técnica laboratorial a soroaglutinação microscópica com 16 sorovares de leptospiras (Wolffi, Pyrogenes, Castellonis, Grippotyphosa, Canicola, Autumnalis, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Bataviae, Panama, Pomona, Celledoni, Australis, Javanica, Butembo e Shermani) e consideraram como reagentes os que apresentaram título maior ou igual a 100. Houve 102/120 (85%) animais reagentes. Os sorovares de maior ocorrência encontrados nos distritos sanitários foram Autumnalis 42/102 (41,2%), Canicola 30/102 (29,4%), Icterohaemorrhagiae 28/102 (27,5%), Australis 17/102 (16,6%), Pyrogenes 15/102 (14,7%), Castellonis e Tarassovi 14/102 (13,7%) cada.

Com o objetivo de avaliar a ocorrência de leptospirose em cães do município de Ubatuba, SP, Silva et al. (2003a) colheram sangue de 205 animais, e empregaram à técnica de SAM com uma coleção de 12 sorovares:

Australis, Bratislava, Autumnalis, Canicola, Cynopteri, Djasiman, Grippytyphosa, Pomona, Hardjo, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae e Pyrogenes. Verificaram ainda a influência de algumas variáveis epidemiológicas como raça, idade, sexo, ingestão de comida caseira e acesso à água não-tratada. Os resultados foram 30/205 (14,63%) reagindo para pelo menos um sorovar com predomínio de Pyrogenes 7/30 (23,33%), Autumnalis 6/30 (20%) e Canicola 5/30 (16,67%). Dos 30 soros reagentes, oito (26,67%) coaglutinaram para dois ou mais sorovares, com títulos variando de 100 a 1 600. Não houve diferença significativa para as variáveis epidemiológicas analisadas ( $p>0,05$ ).

Em Curitiba, PR, Champion et al. (2004) analisaram 31 cães reagentes para *Leptospira* spp. atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná, no período de janeiro de 2002 a outubro de 2003. Os animais foram submetidos ao teste de SAM para os sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Grippytyphosa e Pomona, sendo considerados reagentes títulos de 50 ou superiores. O sorovar predominante foi o Copenhageni 19/31 (61%), seguido de Icterohaemorrhagiae 5/31 (16%), Canicola e Copenhageni 4/31 (13%), Canicola 1/31 (3%) e ainda Canicola, Copenhageni e Icterohaemorrhagiae 2/31 (6%).

Em 130 cães da cidade de Patos, PB, Batista et al. (2004), investigaram a leptospirose empregando a SAM com uma coleção de 22 variantes, encontram 26 (20%) de animais reagindo para pelo menos um sorovar, com predomínio de Autumnalis 8/26 (30,8%), Pomona 7/26 (26,9%), Grippytyphosa e Patoc 4/26 (15,4%), Shermani, Butembo e Hebdomadis 3/26 (11,5%), Tarassovi 2/26 (7,7%), Australis, Cynopteri, Javanica e Icterohaemorrhagiae 1/26 (3,8%) cada. Dos 39 machos, cinco (12,8%) foram reagentes e das 91 fêmeas, 21 (23,1%). Não houve diferença significativa entre a frequência de animais reatores para a leptospirose em relação ao sexo.

Batista et al. (2005) em Campina Grande, PB, investigaram a leptospirose em cães analisando possíveis fatores de risco. Empregaram a técnica de SAM com uma coleção de 22 sorovares tendo como ponto de corte a titulação 100. De 285 amostras sorológicas caninas colhidas durante a campanha de vacinação anti-rábica realizada em 2003, 61 (21,4%) foram sororeagentes. O sorovar mais frequente foi o Autumnalis 21/61 (34,4%), seguido pelo

Copenhageni 17/61 (27,9%) e Canicola 6/61 (9,8%). Também foram encontrados animais reagentes para os sorovares Pyrogenes e Bratislava 5/61 (8,2%), Castellonis e Icterohaemorrhagiae 2/61 (3,3%), Australis, Andamana e Whitcombi 1/61 (1,6%) cada. A análise dos fatores de risco evidenciou que as taxas dos cães acima de um ano de idade foram mais elevadas 52/205 (25,4%) que os com menos de um ano 9/80 (11,3%). O percentual de sororeagentes à *Leptospira* spp. em cães sem raça definida foi maior 57/234 (24,4%) que os com raça 4/51 (7,8%), e as taxas das amostras sorológicas dos animais que tiveram contato com açude foram maiores 9/24 (37,5%) que os que não tiveram contato com açude 52/261 (19,9%). Advertiram sobre a necessidade da elaboração de programas de controle da doença com ações direcionadas para o uso de vacinas homólogas específicas, saneamento do meio ambiente e à educação em saúde.

Com o intuito de saber a ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. em Itapanema, SC, Blazius et al. (2005) colheram sangue de 590 cães, testando pela prova de SAM com 25 antígenos (Australis, Bratislava, Autumnalis, Andamana, Patoc, Butembo, Ballum, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Djasiman, Grippytyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani e Tarassovi). Consideraram reagentes a partir da titulação 100 e constataram que 62 (10,5%) animais foram reagentes, o sorovar predominante foi o Pyrogenes 26/62 (41,9%), seguido pelo Canicola 20/62 (32,3%), Icterohaemorrhagiae e Copenhageni 18/62 (29,0%), Grippytyphosa 16/62 (25,8%), Butembo e Castellonis 15/62 (24,2%), Pomona 4/62 (6,4%), Hebdomadis e Ballum 3/62 (4,8%), Shermani e Cynopteri 2/62 (3,2%), Andamana e Wolffi 1/62 (1,6%) cada. Chamaram a atenção para o resultado averiguado, demonstrando a importância dos cães errantes sororeagentes à *Leptospira* spp. naquela cidade, pois podem servir de alerta aos órgãos de saúde pública e à população.

Em outros países, como na Índia, Venkataraman & Nedunchellian (1992), em um surto de leptospirose em cães na cidade de Madras, colheram amostras sorológicas de 94 animais. Utilizaram a técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) com uma coleção de nove sorovares (Autumnalis, Ballum, Bataviae, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippytyphosa, Hebdomadis,

Pomona e Pyrogenes) e consideraram a titulação positiva a partir de 160. Foram constatados 20 (21,3%) cães positivos e os sorovares predominantes foram Icterohaemorrhagiae 10/20 (50,0%), Canicola 9/20 (45,0%) e Pomona 1/20 (5,0%). Além disso, cães com menos de um ano de idade foram mais positivos 7/31 (22,58%) em relação aos com mais de um ano 13/63 (20,63%); os machos foram 15/62 (24,19%) e as fêmeas no total de 5/32 (15,62%).

Rubel et al. (1997) analisaram a soroprevalência de leptospirose em uma amostragem de 223 cães da área suburbana de Buenos Aires, Argentina, e confirmaram que 127 (57%) animais foram reagentes, dos quais 104 (82%) coaglutinaram com dois ou mais sorovares; foi utilizada uma coleção de dez sorovares pela técnica de SAM e foram considerados como reagentes a partir da titulação 100. Os animais apresentaram reações com os sorovares: Pyrogenes 114/127 (89,8%), Canicola 109/127 (85,2%), Icterohaemorrhagiae 41/127 (32,3%), Ballum 16/127 (12,6%), Hebdomadis 15/127 (11,8%), Hardjo 14/127 (11%), Tarassovi 12/127 (9,4%), Grippytyphosa 11/127 (8,7%) e Pomona 3/127 (2,4%). Por não saber exatamente a idade de 14 cães, estes foram excluídos da variável faixa etária e também gênero; os animais com idade abaixo de um ano 12/36 (33%) foram significativamente menores que os de idade de um a cinco anos 76/123 (62%) e acima de cinco anos 31/50 (62%); a quantidade de machos 85/134 (63%) foi superior a de fêmeas 34/75 (45%) e apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ). No grupo de animais com acesso a água de valas houve maior frequência de reagente 79/123 (64%) que os sem acesso 8/22 (36%) ( $p < 0,05$ ). O grupo de cães com acesso a lixo 48/73 (66%) foi significativamente distinto dos sem acesso 77/147 (52%).

Trevejo et al. (1998), na Nicarágua, empregaram a técnica de SAM, considerando reagentes animais com títulos  $\geq 400$ . Constataram que 29/65 (44,6%) cães foram reagentes para os sorovares Canicola 22/65 (33,8%), Ballum 20/65 (30,8%), Pyrogenes 12/65 (18,5%), Bratislava 8/65 (12,3%), Shermani 4/55 (7,3%), Icterohaemorrhagiae 4/65 (6,2%), Hardjobovis 3/65 (4,6%), Australis e Kennewicki com 1/65 (1,5%) cada. Citam que a epidemia de leptospirose ocorre com frequência durante as enchentes, quando a água é contaminada por urina de animais infectados, particularmente dos cães.

O'Keefe et al. (2002), em levantamento sorológico sobre *Leptospira* spp. em 150 cães da área urbana na Nova Zelândia, utilizaram a técnica de SAM

com uma coleção de cinco sorovares: Hardjo, Pomona, Canicola, Gryppotyphosa e Copenhageni, e verificaram que 19/150 (12,7%) dos animais foram positivos para pelo menos um sorovar com predominância de: Copenhageni 16/134 (11,9%), Pomona 2/146 (1,4%) e Hardjo 1/146 (0,7%).

Prescott et al. (2002) relataram a presença da leptospirose em cães de Ontário, Canadá. No período de 1998 a 2001, examinaram 462 animais, encontrando 111 (24,02%) suspeitos (títulos de 80 a 160) e 119 (25,76%) positivos (títulos  $\geq$  320) para os sorovares Autumnalis, Bratislava, Canicola, Gryppotyphosa, Icterohaemorrhagiae e Pomona. Observaram também a influência da mudança climática, pois no ano de 2000, com elevação da temperatura e maior pluviosidade, o índice de casos foi maior.

Montes et al. (2002), durante uma campanha de vacinação anti-rábica em cães realizada anualmente em Guzmán, Jalisco, México, colheram amostras sorológicas de 419 animais e evidenciaram que 95 (22,6%) foram sororeagentes para a *Leptospira interrogans*. Os sorovares predominantes foram Canicola (14), Icterohaemorrhagiae (13), Pyrogenes (11) e Hebdomadis (dois).

Em Cali, Colômbia, Rodriguez et al. (2004) examinaram em 197 cães de rua entre os anos de 2001 e 2003, encontrando 81 (41,1%) animais reagindo para pelo menos um sorovar. Os sorovares mais freqüentes foram Icterohaemorrhagiae (55,6%), Hardjobovis (54,3%), Gryppotyphosa (45,7%) e Canicola (38,3%). Nenhum dos animais reagiram com os sorovares Pomona, Hardjoprajitno e Bratislava.

Aslantaş et al. (2005) em Ankara, Turquia, encontraram 51/116 (43,96%) cães soropositivos para leptospirose, os sorovares predominantes foram Bratislava 33/51 (64,7%), Canicola 11/51 (21,6%), Gryppotyphosa 2/51 (3,9%), Pomona e Icterohaemorrhagiae 1/51 (1,9%) cada. Nas fêmeas 33/67 (49,3%) a infecção foi mais elevada que nos machos 18/49 (36,7%), não ocorrendo diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Mas, a diferença significativa foi encontrada entre os grupos de idade ( $p < 0,05$ ), cuja porcentagem dos animais do grupo abaixo de um ano (16,7%) e acima de cinco anos (22,2%) foi menor do que entre os de um a cinco anos (51,7%).

Considerando as dificuldades circunstanciais encontradas para o isolamento do agente etiológico de casos de leptospirose, emprega-se a

sorologia como a principal prova e a mais freqüentemente usada para um diagnóstico aproximado de leptospirose. O teste de soroaglutinação microscópica (SAM) é o teste padrão de referência para o diagnóstico sorológico devido a sua alta sensibilidade e especificidade (COLE et al., 1973; CUMBERLAND et al., 1999) e é adotado no Brasil como teste de referência para o sorodiagnóstico da leptospirose humana e animal (BRASIL, 1995).

# *O***BJETIVOS**

---

### **III – OBJETIVOS**

- 1) Apresentar o perfil sorológico de anticorpos contra *Leptospira* spp. de cães da área territorial urbana de 32 km<sup>2</sup> de Botucatu, SP.
- 2) Verificar a existência de associação de cães sororeagentes para a leptospirose com idade, gênero, raça, contato com outros animais, acesso a águas, origem das águas, tipo de alimentação, manutenção de alimento e/ou água durante a noite, grau de escolaridade do proprietário, renda familiar e postos de colheita.
- 3) Apresentar a distribuição espacial do percentual de cães sororeagentes para a leptospirose no perímetro urbano de Botucatu, SP.
- 4) Verificar a distribuição preferencial dos sorovares de leptospiros nas amostras estudadas.

# **MATERIAL E MÉTODOS**

## IV - MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Caracterização do município de Botucatu, SP

O município de Botucatu localiza-se na região centro-oeste do estado de São Paulo (entre as coordenadas de 22°33' e 23°04' de Latitude S e 48°14' e 48°50' de Longitude W), situando-se à cerca de 805 metros acima do nível do mar. Possui uma área territorial de 1 483 km<sup>2</sup>, dos quais 1 329 km<sup>2</sup> correspondem à zona rural e 154 km<sup>2</sup> à zona urbana. Sua população é estimada em 117 308 habitantes. O clima é subtropical úmido, constantemente úmido, e com a existência de quatro ou mais meses consecutivos com temperaturas médias acima de 10° C, sendo a temperatura média do mês mais quente igual ou superior a 22° C. A precipitação pluviométrica média anual é de 1 250 mm. A vegetação original é constituída por mata mesófila semidecídua, que hoje foi praticamente substituída por matas secundárias e cerrados (incluindo os cerradões) (IBGE, 2000).

### 4.2. Inquérito para os proprietários dos cães

Durante a colheita de sangue, foi realizada uma entrevista com os proprietários para obtenção das seguintes características:

#### Quadro 1 – Inquérito feito aos proprietários dos cães

Identificação do Animal (tubo): _____		Dia: ___/___/___		Posto: _____	
Proprietário: _____					
Endereço:		Rua/Avenida: _____ n° _____, Bairro: _____, Tel: _____, CEP: _____ - _____			
Nome do cão: _____			Idade: ___ anos e ___ meses		M      F
Raça: _____			SRD		
Última dose de vacina contra leptospirose: 1999    2000    2001    : Mês: _____					
Tem contato com outros animais: Não    Sim    Quais? _____					
Tem acesso à águas: Não    Sim    : Chuva    Esgoto    Córrego    Outra: _____					
Alimentação: Comida caseira    Ração    Lixo    Outra: _____					
Deixa alimento ou água durante a noite:			Não    Sim		
Até que série estudou?		Sem estudos		1° grau incompleto	
1° grau completo		2° grau		3° grau	
Renda família: ↓ 350,00		350,00 - 1 050,00		1 051,00 - 1 750,00	
1 751,00 - 5 250,00		↑ 5 250,00			

### **4.3. Alocação dos animais e dos postos**

Durante a 33a. Campanha Anual de Vacinação Anti-rábica, em 2001, coordenada pela Disciplina de Planejamento de Saúde Animal e Veterinária Preventiva, foram colhidas 1 000 amostras de sangue de cães. Para a determinação do tamanho amostral foi considerada a taxa de 10% de erro de estimação, com nível de 5% de confiança, tendo como plano amostral a técnica da amostragem estratificada sistemática, em dois estágios (COCHRAN, 1977). O primeiro estágio foi composto pela determinação geográfica homogênea dos postos dentro das cinco regiões (estratos) da área territorial urbana de 32 km<sup>2</sup> do município de Botucatu, SP. Este primeiro estágio indicou 20 postos de vacinação, representativos do total de 40 postos como sendo as unidades primárias para a colheita sangüínea. A abrangência de cada posto era, em média, de 0,8 km<sup>2</sup>. O segundo estágio refere-se ao procedimento sistemático de alocação do animal dentro da pesquisa, sob a determinação de que, a partir do animal selecionado, os dois seguintes seriam descartados. As amostras representam aproximadamente 6% do total de 16 838 cães vacinados durante a campanha.

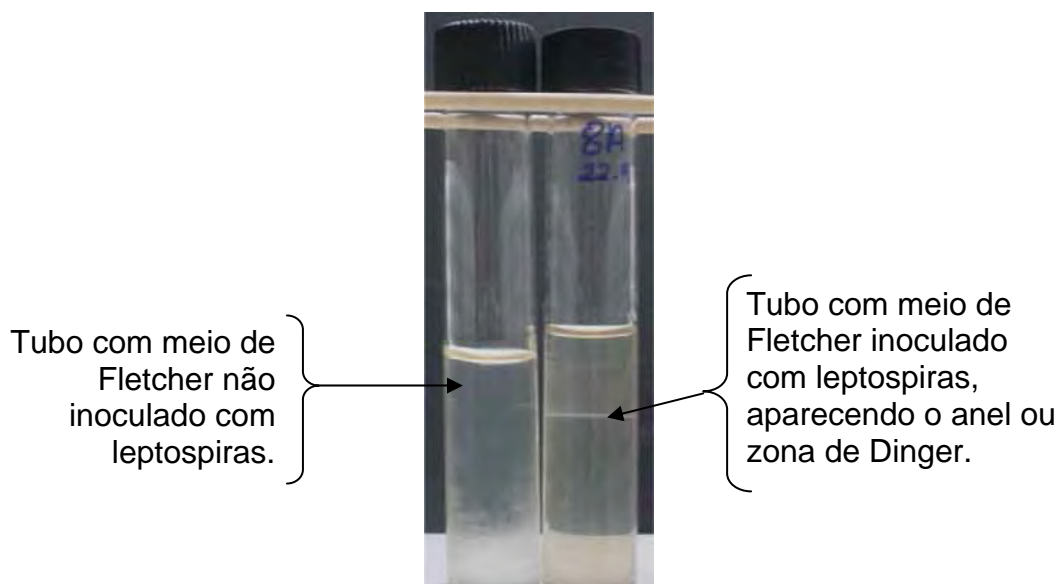
### **4.4. Colheita de sangue**

Procedeu-se a colheita de sangue durante os cinco dias da 33a. campanha anual de vacinação anti-rábica em 2001. Foram colhidos 10 mL de sangue, em tubo de vidro estéril (vacutainer) de 15 mL, pela punção das veias cefálica ou jugular de 1 000 cães e encaminhados, em seguida, aos laboratórios das disciplinas de Zoonoses e de Planejamento de Saúde Animal e Veterinária Preventiva da FMVZ - UNESP/Campus de Botucatu, SP. Nos laboratórios, foram dessorados e centrifugados, a 1 613 g, durante 10 minutos. O soro foi acondicionado em microtubos de plástico de 1,5 mL e mantido em "freezer" a -20° C até o momento da realização da técnica de soroaglutinação microscópica (SAM).

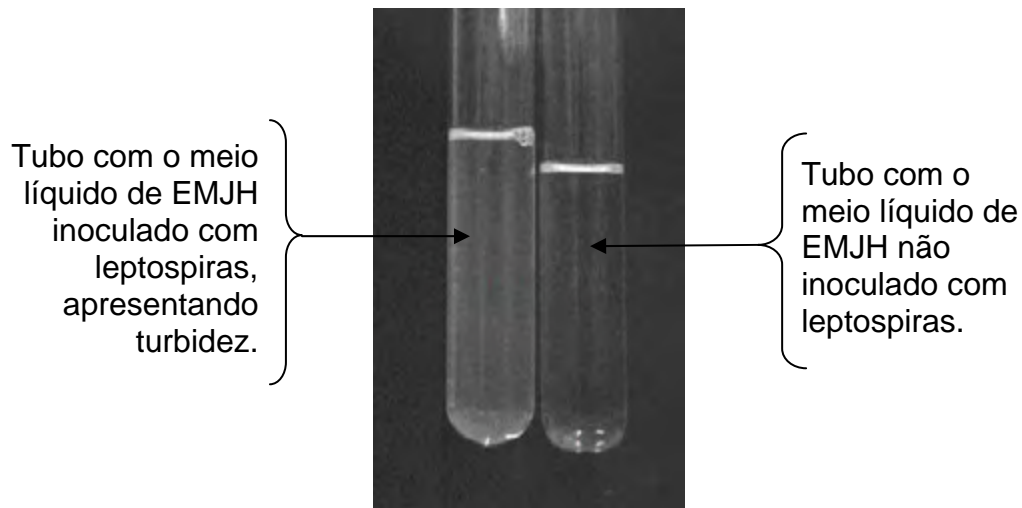
### **4.5. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)**

A prova de soroaglutinação microscópica foi realizada segundo as normas do Ministério da Saúde (BRASIL, 1995), empregando 24 sorovares de

*Leptospira* spp.: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Brasiliensis, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Djasiman, Sentot, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani e Tarassovi, guardados no laboratório em meio de cultura semi-sólido de Fletcher e líquida de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) com albumina bovina “Tween 80”, a 30° C e mantidos por repiques semanais. Previamente à utilização, os antígenos foram testados para verificar suas concentrações, diluindo-se as suspensões a 1:2 em solução salina tamponada com fosfato (PBS) estéril, com pH 7,6. Com auxílio de alça bacteriológica, transferia-se uma gota de cada diluição para lâmina retangular de vidro de microscopia tamanho 26 mm x 76 mm, examinando-se, sem lamínula, em microscópio de campo escuro. Considerou-se concentração satisfatória quando a suspensão preenchia todo o campo microscópico com fina camada de leptospiros individualizadas.



**Figura 1** – Meio de cultura de Fletcher



**Figura 2** – Meio de cultura de EMJH

A prova de soroaglutinação microscópica constituiu-se de duas fases, a de triagem e a de titulação.

#### **4.5.1. Triagem**

-Cada amostra de soro foi diluída inicialmente em 1:50 (0,1 mL + 4,9 mL), em solução salina tamponada com fosfato (PBS) estéril com pH 7,6.

-Os tubos de Wassermann foram marcados com o número de identificação do cão e o antígeno a ser utilizado.

-Distribuiu-se 50  $\mu$ L da diluição do soro a 1:50 em cada um dos poços da microplaca de polietileno, com fundo em forma de U.

-Em uma microplaca (controle), distribuiu-se 50  $\mu$ L de PBS com pH 7,6 em cada um dos poços.

-Foram acrescentados nas microplacas, inclusive aos controles, 50  $\mu$ L da suspensão antigênica correspondente (nessa etapa, a diluição final do soro passou a ser 1:100).

-Misturou-se por leve agitação e deixou-se repousar em estufa com temperatura a 37° C, durante uma hora.

-Com alça bacteriológica de aproximadamente 2 mm de diâmetro, colocou-se uma gota da mistura de cada poço das microplacas, em fileiras, sobre uma lâmina.

-Examinou-se, sem lamínula, em microscópio com condensador de campo escuro a seco, com objetiva 10x e ocular 10 a 15x.

-Considerou-se o grau de aglutinação das leptospiras em uma variação de negativo (sem aglutinação) até quatro cruzes para cada antígeno testado, tendo como referência o respectivo controle:

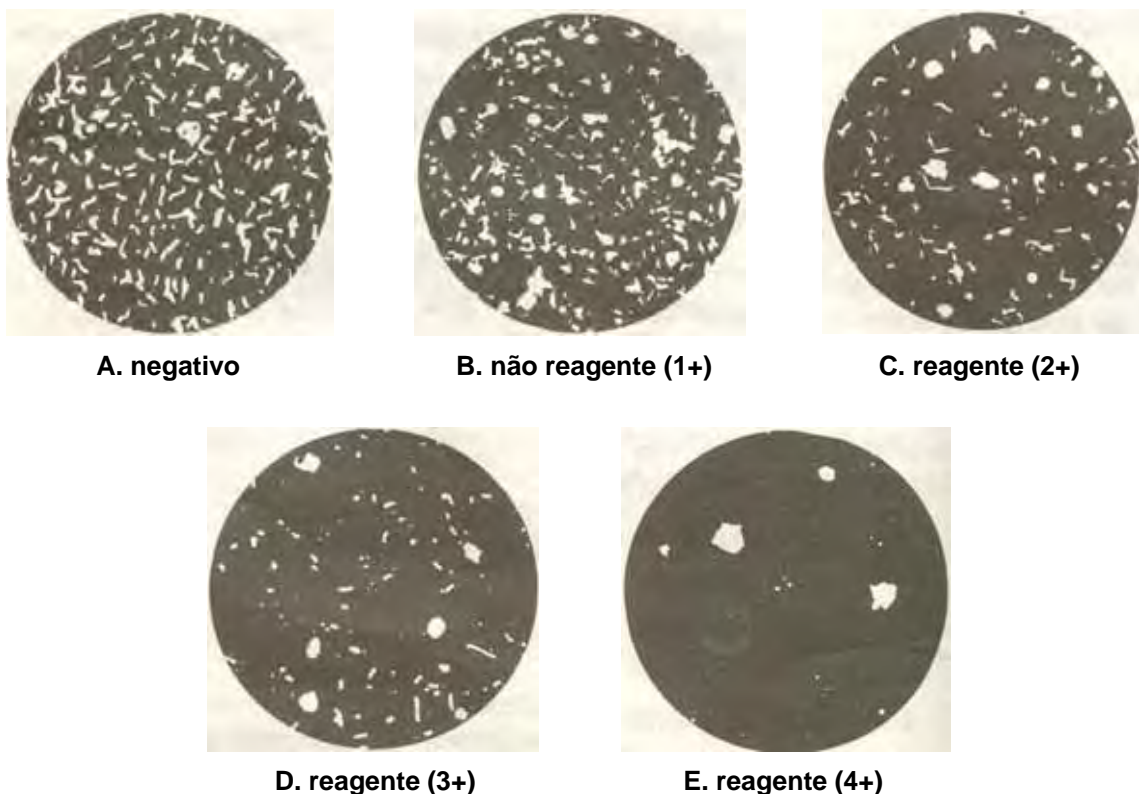
**A - Negativo:** ausência de aglutinação, com número de leptospiras livres idênticas ao controle;

**B - 1+:** presença de aglutinação, com pelo menos 75% de leptospiras livres em relação ao controle;

**C - 2+:** presença de aglutinação, com pelo menos 50% de leptospiras livres em relação ao controle;

**D - 3+:** presença de aglutinação, com pelo menos 25% de leptospiras livres em relação ao controle;

**E - 4+:** presença de aglutinação, com menos de 25% de leptospiras livres em relação ao controle.



**Figura 3** – Prova de soroaglutinação microscópica (SAM), observação de aglutinações (BRASIL, 1995)

Os soros que apresentaram aglutinação de leptospiras igual ou superior a 50% (2+, 3+, 4+), em relação ao controle, foram então separados para a titulação.

#### 4.5.2. Titulação

-A partir da diluição de 1:50 utilizada na prova de triagem, foram preparadas outras nove diluições seriadas de razão dois (diluições de 1:100 a 1:25 600).

-À parte, preparou-se, também, um poço para o controle do antígeno.

-Distribuiu-se 50  $\mu$ L de diluição de 1:50 no 1o. poço por fileira; 50  $\mu$ L de diluição a 1:100 no 2o. poço por fileira e assim por diante, até a diluição de 1:25 600 (10o. poço).

-Nos poços destinados ao controle, foram distribuídos 50  $\mu$ L de PBS com pH 7,6.

-Acrescentou-se 50  $\mu$ L do antígeno a cada poço da respectiva fileira e ao controle. (Nessa etapa, as diluições do soro passaram a ser de 1:100 a 1:51 200).

-Foi misturado, incubado e feita a leitura conforme descrito para a prova de triagem.

-Considerou-se como título final de reação a recíproca da maior diluição ainda capaz de aglutinar 50% ou mais das leptospiros em relação ao controle.

-O título de aglutininas do soro foi expresso pela recíproca da diluição.

#### 4.6. Análise estatística

As informações obtidas no desenvolvimento do plano amostral foram armazenadas em banco de dados da planilha EXCEL, e os resultados dos procedimentos estatísticos apresentados por meio de distribuições de freqüências, em tabelas simples ou de dupla entrada, contendo as freqüências absolutas e relativas percentuais.

Em relação aos procedimentos analíticos foram considerados o teste do Qui-quadrado e o intervalo de 95% de confiança para a proporção de cães sororeagentes (STREINER & NORMAN, 1994), e o teste de Goodman para o estudo da associação entre a distribuição sorológica de anticorpos contra *Leptospira* spp. em cães e faixa etária, sexo, raça, contato com outros animais, acesso a águas paradas e/ou córregos, forma de acesso a águas paradas e/ou córregos, tipo de alimentação, manutenção de alimento e água durante a noite, grau de escolaridade do proprietário e renda familiar (GOODMAN, 1964).

Conduta semelhante adotou-se para o estudo da associação com os postos de vacinação.

Para a indicação da significância do resultado do teste estatístico de Goodman, foram utilizadas letras minúsculas para indicar as diferenças entre as proporções de ocorrência. A leitura das letras deve ser interpretada da seguinte maneira: duas proporções seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si, no nível de 5% de significância. Nas tabelas, as letras foram colocadas na coluna dos reagentes, pois, como se trata de respostas dicotômicas (variável binomial), as conclusões em uma das categorias de respostas se complementa, ao contrário, na outra categoria. Quando não foi verificada associação significativa ( $p > 0,05$ ), as letras foram desconsideradas.

#### **4.7. Análise espacial**

Foi utilizado o programa CartaLinx (v 1.2) para mapear o perímetro urbano de Botucatu, SP, e localizar os postos de vacinação, usando como referência a planta cadastral digitalizada do município.

O mapa digital dos postos de vacinação foi importado no programa Geoda (ANSELIN, 2003). Com as coordenadas desses 20 postos, foram traçados polígonos de Thiessen, abrangendo todo o perímetro urbano de Botucatu. Esse novo mapa foi utilizado para as análises espaciais.

Todas as medidas para análise da estrutura espacial do percentual de cães sororeagentes (coeficiente *I* de Moran e indicadores LISA) foram calculadas por meio do programa Geoda (ANSELIN, 2003).

# ***R*ESULTADOS**

---

## V - RESULTADOS

Na Tabela 1 são apresentados os resultados dos testes sorológicos aplicados ao diagnóstico de leptospirose em 1 000 cães da área territorial urbana do município de Botucatu, SP.

**Tabela 1** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Resultado	No. Cães	%
Reagente	179	17,9%
Não-Reagente	821	82,1%
Total	1 000	100%

O resultado do teste estatístico mostrou predominância significativa ( $p < 0,0001$ ) de sorologia não-reagente. Em relação aos resultados reagentes, o intervalo de confiança da ocorrência sorológica de anticorpos contra *Leptospira* spp. dos cães amostrados ficou entre os limites de 15,52% a 20,28%.

Os limites do intervalo de confiança, 15,52% a 20,28%, estabelecem que se outros estudos forem realizados na mesma população, espera-se que 95% desses também permaneçam com índices dentro desse intervalo (17,9%  $\pm$  2,38%).

**Tabela 2** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a faixa etária e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Faixa etária	Reagentes	Não-Reagentes	Total
3m   1a	18 (8,07%) a	205 (91,93%)	223 (22,3%)
1a   5a	95 (17,96%) b	434 (82,04%)	529 (52,9%)
> 5a	66 (26,61%) c	182 (73,39%)	248 (24,8%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

Os resultados da Tabela 2 mostram associação significativa entre faixas etárias dos cães e respostas sororeagentes à *Leptospira* spp. Em todas as faixas etárias houve predominância de não-reagentes e, nas respostas reagentes houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre todos os períodos de idade pré-estabelecidos, apontando para o aumento da porcentagem de reagentes à medida que a idade aumentou.

**Tabela 3** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o sexo e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Sexo	Reagentes	Não-Reagentes	Total
Macho	110 (20,07%) b	438 (79,93%)	548 (54,8%)
Fêmea	69 (15,27%) a	383 (84,73%)	452 (45,2%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

Os resultados permitem concluir que a ocorrência de soros reagentes nos cães machos foi significativamente mais elevada que das fêmeas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a raça e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Raça	Reagentes	Não-Reagentes	Total
Com raça	52 (15,76%)	278 (84,24%)	330 (33%)
Sem raça	127 (18,96%)	543 (81,04%)	670 (67%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

Não houve associação significativa entre raça e distribuição sorológica de anticorpos ( $p>0,05$ ). Numericamente, em porcentagem, cães com raça responderam positivamente abaixo dos sem raça e, conforme já expressado, essas diferenças não foram significantes.

**Tabela 5** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a condição de manter contato com outros animais e o respectivo animal. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Contato	Reagentes	Não-Reagentes	Total
Sem	45 (14,15%) a	273 (85,85%)	318 (31,8%)
Cão	110 (18,61%) a	480 (81,39%)	590 (59,0%)
Gato	8 (20,51%) ab	31 (79,49%)	39 (3,9%)
Cão/Gato	9 (21,42%) ab	33 (78,58%)	42 (4,2%)
Outros*	7 (63,6%) b	4 (36,4%)	11 (1,1%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

\*Cão/Gato/ Bovino/ Equino.

Os resultados revelaram associação significativa entre distribuição sorológica de anticorpos e contato com animal. A positividade dos cães sem contato com outro animal (14,15%) e com contato com outro cão (18,61%) foi estatisticamente inferior ao resultado da positividade de contato com outros

animais (63,6%). Quanto aos itens “gato” e “cão/gato”, a porcentagem de respostas ficou intermediária aos valores extremos, não mostrando diferença significativa em relação aos demais itens.

**Tabela 6** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o acesso a águas e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Acesso a águas	Reagente	Não-Reagente	Total
Sem acesso	156 (17,47%)	737 (82,53%)	893 (89,3%)
Com acesso	23 (21,50%)	84 (78,50%)	107 (10,7%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

Não se verificou associação significativa entre acesso a águas e distribuição sorológica de anticorpos ( $p>0,05$ ).

**Tabela 7** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a origem das águas e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Origem das águas	Reagentes	Não-reagentes	Total
Chuva	17 (19,32%)	71 (80,68%)	88 (88%)
Esgoto	1 (16,67%)	5 (83,33%)	6 (6%)
Córrego/Lago	5 (38,46%)	8 (61,54%)	13 (13%)
Total	23 (21,50%)	84 (78,50%)	107 (100%)

Não se verificou associação significativa entre a origem da água em relação à distribuição sorológica de anticorpos ( $p>0,05$ ).

**Tabela 8** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o tipo de alimentação e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Alimentação	Reagente	Não-Reagente	Total
Ração	68 (13,53%) a	435 (86,48%)	503 (50,4%)
Caseira	39 (18,57%) ab	171 (81,43%)	210 (21,0%)
Ração/Caseira	70 (24,56%) b	215 (75,44%)	285 (28,6%)
Total	177 (17,7%)	821 (82,1%)	998 (100%)

O item lixo não está inserido na tabela porque a quantidade de amostras foi pequena, mas os 2/2 (100%) cães que se alimentavam de lixo foram sororeagentes.

Cães sororeagentes que foram alimentados somente com ração não apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) em relação aos animais que foram alimentados somente com comida caseira, mas mostraram em relação aos que eram alimentados com ração/caseira ( $p<0,05$ ). No entanto, os cães que recebiam somente comida caseira responderam com a mesma positividade dos alimentados com ração e ração/caseira ( $p>0,05$ ).

**Tabela 9** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose quando o proprietário deixa ou não alimento e água durante a noite e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Alimento e água durante a noite	Reagente	Não-Reagente	Total
Não Deixa	65 (19,94%)	261 (80,06%)	326 (32,6%)
Deixa	114 (16,91%)	560 (83,09%)	674 (67,4%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

Estatisticamente, não houve diferença significativa quanto à presença ou não de alimento e água durante a noite aos cães sororeagentes ( $p>0,05$ ).

**Tabela 10** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o grau de escolaridade do proprietário e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Grau de escolaridade	Reagente	Não-Reagente	Total
Sem estudos	0 (0%) a	9 (100%)	9 (0,9%)
Ensino fundamental	122 (19,46%) b	505 (80,54%)	627 (62,7%)
Ensino médio	40 (15,81%) b	213 (84,19%)	253 (25,3%)
Ensino superior	17 (15,32%) b	94 (84,68%)	111 (11,1%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

Os nove cães de proprietários sem estudos apresentaram resultados negativos para a sorologia. Fato que se mostrou significativo para indicar diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em relação aos proprietários com ensino fundamental, médio e superior de animais sororeagentes, os quais não diferiram entre si.

**Tabela 11** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo a renda familiar e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Renda familiar (R\$)	Reagente	Não-Reagente	Total
< 1 salário	11 (18,97%) ab	47 (81,03%)	58 (5,8%)
1   3 salários	83 (20,19%) b	328 (79,81%)	411 (41,1%)
3   5 salários	53 (16,99%) ab	259 (83,01%)	312 (31,2%)
5   15 salários	30 (16,57%) ab	151 (83,43%)	181 (18,1%)
> 15 salários	2 (5,26%) a	36 (94,74%)	38 (3,8%)
Total	179 (17,9%)	821 (82,1%)	1 000 (100%)

Houve associação entre renda familiar e distribuição sorológica, indicando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os proprietários de animais sororeagentes

que ganham de um a três salários mínimos com os que ganham mais de 15 salários. Em relação às outras faixas salariais, não se verificou diferenciação nas porcentagens de respostas.

Na Tabela 12, estão representados os 20 postos onde foram realizadas as colheitas, com suas respectivas distribuições de resultados sorológicos contra *Leptospira* spp. em cães da área territorial urbana de Botucatu, SP.

**Tabela 12** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose nos 20 postos de colheita e a natureza do resultado. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Posto (indicação)	<i>Leptospira</i> spp.		Total (%)
	Reagente (%)	Não-Reagente (%)	
Vila São Luís (P1) <sup>1</sup>	19 (44,2%) f*	24 (55,8%)	43 (4,3%)
Jardim São Vicente (P2)	15 (34,9%) ef	28 (65,1%)	43 (4,3%)
COHAB-I (P3)	16 (31,4%) de	35 (68,6%)	51 (5,1%)
Jardim Continental (P4)	15 (31,2%) de	33 (68,8%)	48 (4,8%)
Jardim Peabiru (P5)	13 (26,0%) cde	37 (74,0%)	50 (5,0%)
Vila Antártica (P6)	13 (19,7%) bcd	53 (80,3%)	66 (6,6%)
Vila Assunção (P7)	11 (18,3%) bc	49 (81,7%)	60 (6,0%)
Vila Operária (P8)	9 (18,0%) bc	41 (82,0%)	50 (5,0%)
Vila dos Lavradores (P9)	7 (17,1%) abc	34 (82,9%)	41 (4,1%)
Parque Marajoara (P10)	8 (16,0%) abc	42 (84,0%)	50 (5,0%)
Jardim Monte Mor (P11)	8 (15,7%) abc	43 (84,3%)	51 (5,1%)
Centro (P12)	5 (13,9%) ab	31 (86,1%)	36 (3,6%)
Vila Santa Teresinha (P13)	7 (13,2%) ab	46 (86,8%)	53 (5,3%)
Vila Real (P14)	7 (12,7%) ab	48 (87,3%)	55 (5,5%)
Lageado (P15)	5 (10,0%) ab	45 (90,0%)	50 (5,0%)
Rubião Júnior (P16)	5 (9,8%) ab	46 (90,2%)	51 (5,1%)
Vila Sônia (P17)	5 (9,8%) ab	46 (90,2%)	51 (5,1%)
Vila Maria (P18)	4 (8,0%) ab	46 (92,0%)	50 (5,0%)
Parque 24 de Maio (P19)	4 (7,8%) ab	47 (92,2%)	51 (5,1%)
COHAB-V (P20)	3 (6,0%) a	47 (94,0%)	50 (5,0%)
<b>Total</b>	<b>179 (17,9%)</b>	<b>821 (82,1%)</b>	<b>1 000 (100%)</b>

<sup>1</sup> Postos onde foram realizadas as colheitas de sangue.

Os resultados revelam que há distribuição diferenciada da positividade entre os postos. Desta forma, o P1 (44,2%), o posto com maior ocorrência, se equivale ao P2 (34,9%), porém, P1 encontra-se estatisticamente diferente de

todos os outros postos ( $p < 0,05$ ). O P2 (34,9%), o segundo de maior frequência de positividade, apresenta resultado de igual valor desde P1 (44,2%) até P5 (26,0%). O P3 (31,4%) associa-se com P2 (34,9%) até P6 (19,7%). O P5 (26,0%) mostra semelhança de P2 (34,9%) até P11 (15,7%), enquanto P6 (19,7%) associa-se desde P3 (31,4%) até P19 (7,8%). A partir de P9 (17,1%) até P20 (6,0%), tem-se o grupo de menores ocorrências, cujos resultados não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ).

O bairro Vila São Luís (44,2%) apresentou a maior porcentagem e a menor foi no bairro COHAB – V (6,0%).



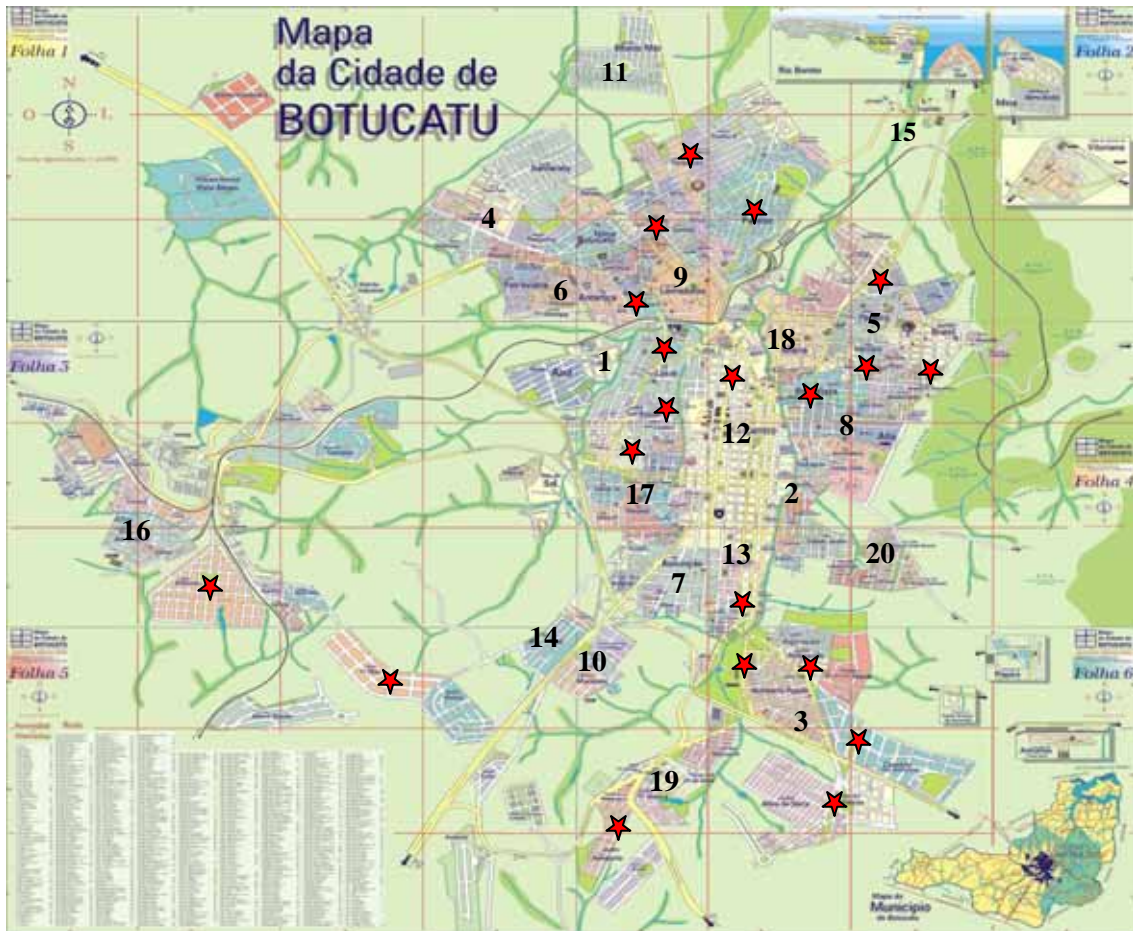
**Figura 4** – Esgotos a céu aberto desembocando dentro do córrego que margeia a Vila São Luís



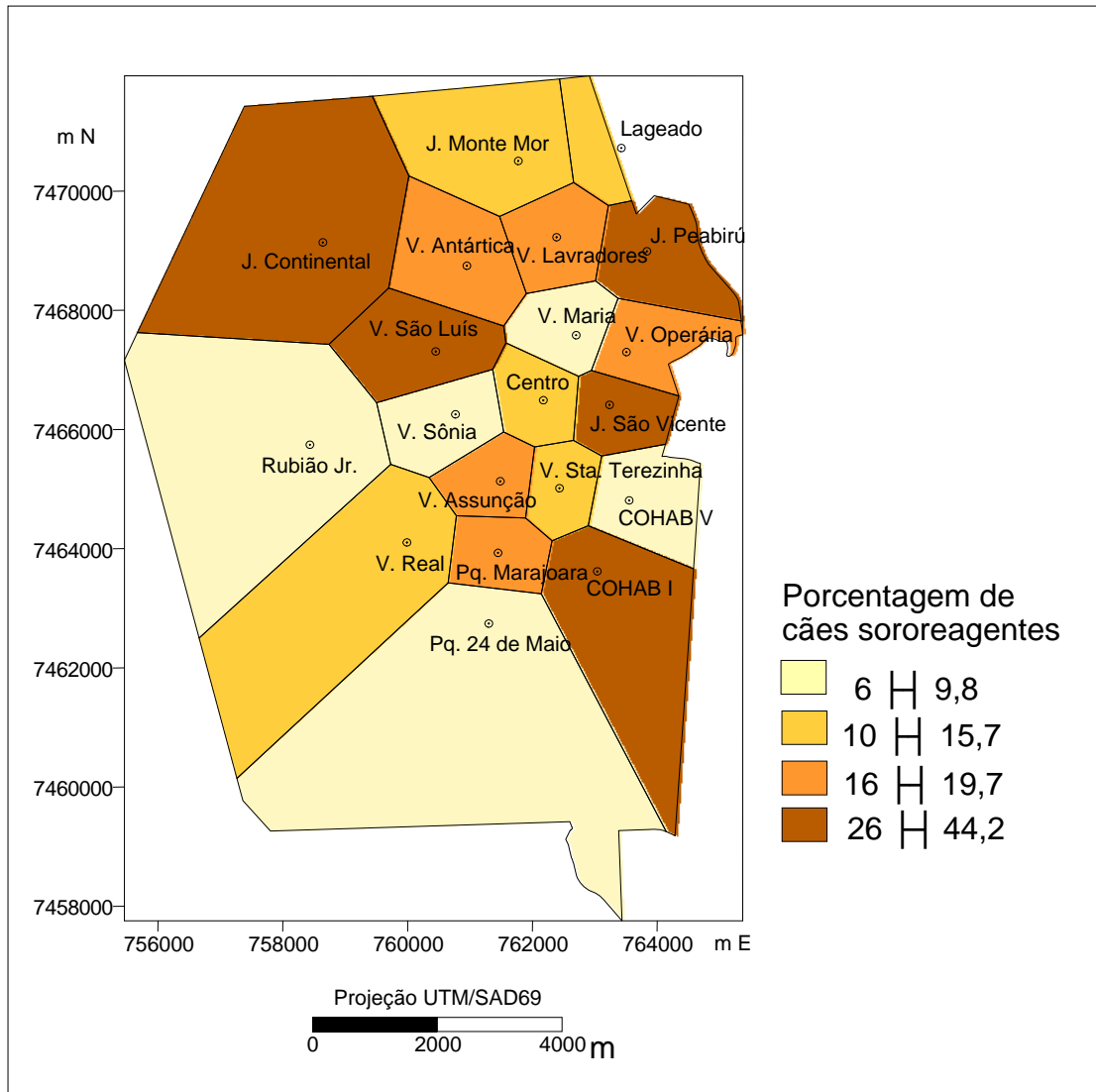
**Figura 5** – Lixos à revelia nas ruas da Vila São Luís



**Figura 6** – Cão urinando no meio ambiente na Vila São Luís

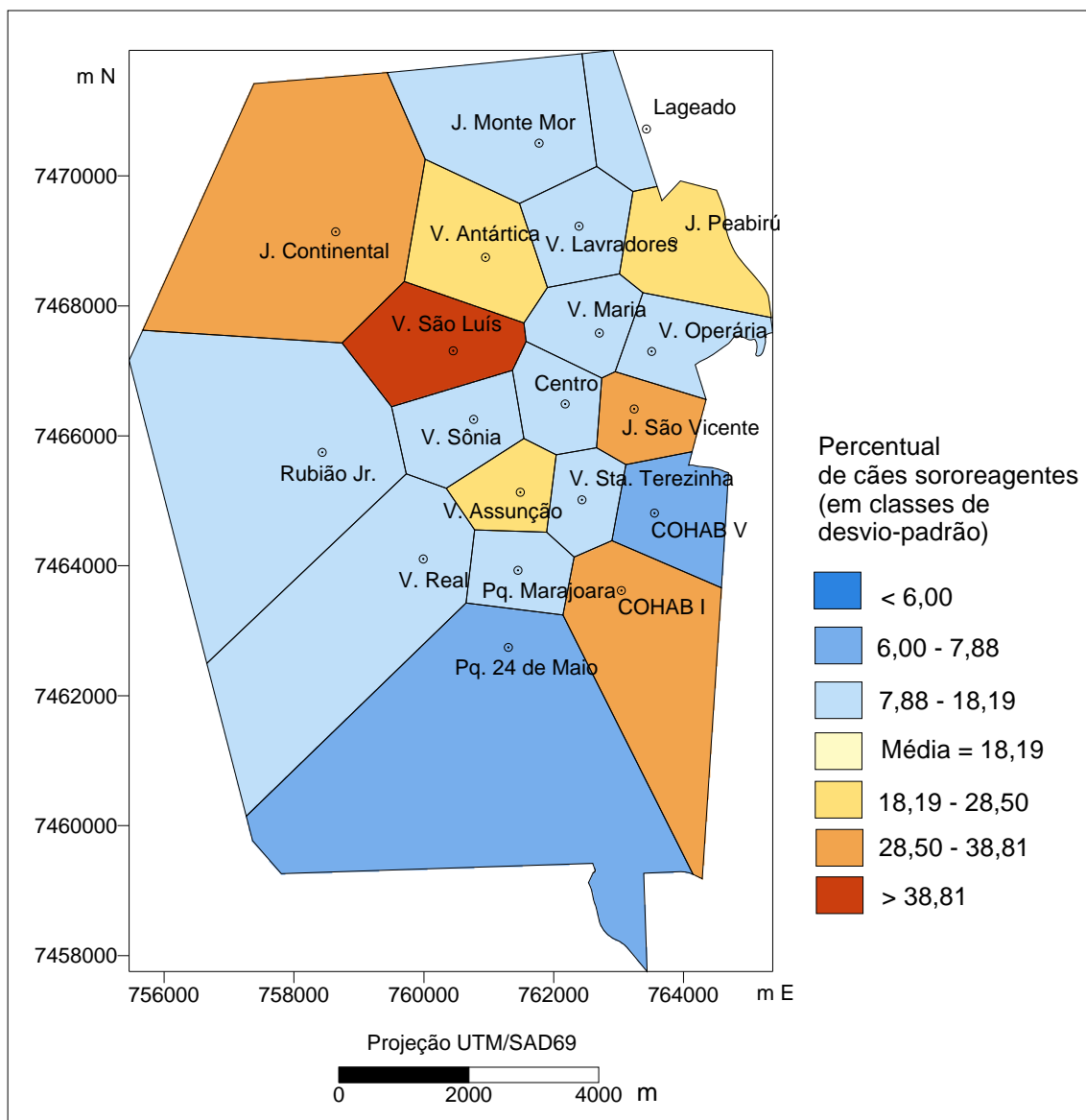


**Figura 7** – Mapa da área territorial urbana de Botucatu, SP, com demarcação dos 20 postos onde se realizaram as colheitas (as estrelas representam os postos de vacinação onde não foram obtidas amostras)



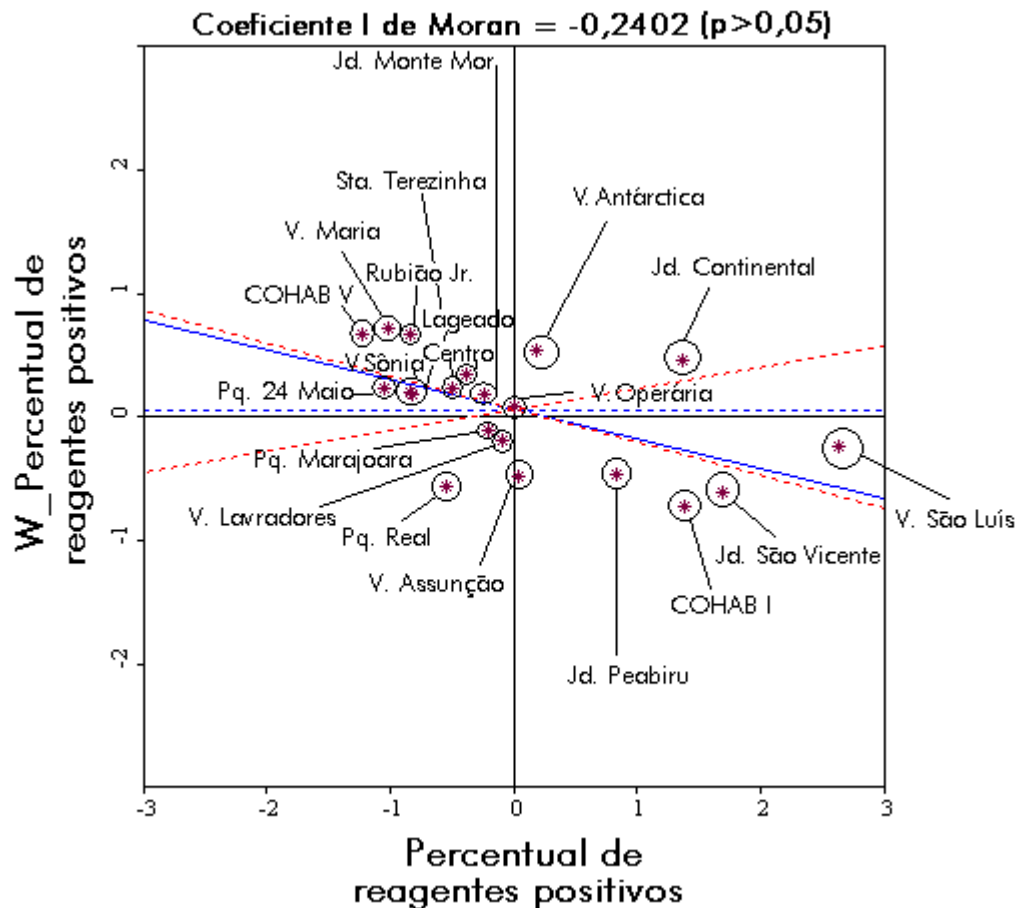
**Figura 8** – Distribuição espacial do resultado do levantamento sorológico realizado para leptospirose na área territorial urbana de Botucatu, SP

A Figura 8 mostra a distribuição dos cães sororeagentes à *Leptospira* spp. no município de Botucatu, SP, de acordo com quatro classes de igual intervalo. Embora o mapa não apresente um padrão espacial identificável visualmente, este pode ser melhor definido por meio de análise de autocorrelação espacial, cujos resultados se encontram na Figura 10.



**Figura 9** – Mapa do percentual de cães sororeagentes à *Leptospira* spp., em classes de desvio-padrão, abaixo (azuis) e acima da média (laranjas)

A Figura 9 tem por objetivo ilustrar a variação do percentual de cães sororeagentes no município, a partir dos valores dos desvios-padrão de cada polígono. Observa-se que o polígono formado pelo posto de vacinação da Vila São Luís apresenta o maior desvio em relação à média, podendo sugerir a presença de um possível conglomerado. Três outros polígonos, Pq. 24 de Maio, Rubião Jr. e COHAB V, apresentaram valores bem abaixo da média na periferia da área urbana.



**Figura 10** –Diagrama de dispersão de Moran: o eixo x refere-se ao desvio do percentual de reagentes e o eixo y, à defasagem espacial em relação à média ponderada. (As linhas tracejadas em vermelho indicam os limites a partir dos quais os valores podem se tornar significativos)

O resultado do coeficiente *I de Moran* para o percentual de cães reagentes pode ser observado na Figura 10. O valor não significativo de *I* indica que a soroprevalência não apresenta um padrão de distribuição espacial que envolva toda a área urbana. Portanto, os valores altos não se aglutinam como num processo de difusão e os polígonos com valores muito acima ou abaixo da média são respostas localizadas do processo de infecção. Pode-se deduzir que, na escala abordada, não há autocorrelação espacial que interesse do ponto de vista epidemiológico.

Embora não tenha sido observada dependência espacial global positiva, alguns polígonos poderiam apresentar valores discrepantes. Observa-se que, no diagrama (Figura 10), os pontos referentes aos polígonos Vila Maria e



Os resultados sorológicos dos cães vacinados contra leptospirose, e que o período poderia interferir no diagnóstico do exame laboratorial, encontra-se na Tabela 13.

**Tabela 13** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo o período da vacinação contra a leptospirose. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Período	Nº. cães	Sorovar (título)	Total (%)
Há 6 meses	1	Castellonis (100)	2 (1,92%)
	1	Pyrogenes (100)	
Há 5 meses	1	Castellonis (100)	1 (0,96%)
Há 3 meses	1	Canicola (200), Pyrogenes (200) Icterohaemorrhagiae (100)	1 (0,96%)
Agosto	1	Autumnalis (800)	2 (1,92%)
	1	Castellonis (100)	
Reagentes sem informação exata do mês	1	Autumnalis (200)	4 (3,85%%)
	1	Castellonis (100)	
	1	Castellonis (100), Canicola (100), Pyrogenes (100)	
	1	Panama (100)	
Não Reagentes	94	-	94(90,39%)
	104	-	104(100%)

Os resultados revelaram que do total de 104 cães vacinados contra leptospirose, num intervalo de até seis meses antes da colheita de sangue, dez (9,61%) foram reagentes, dentre esses, somente dois (1,92%) apresentaram reações sorológicas para os sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae (contidos nas vacinas comerciais).

Durante a prova laboratorial de SAM das amostras sorológicas caninas, houve casos de coaglutinações, ou seja, em que mais de uma variante sorológica apresentou titulação para uma mesma amostra de soro. A fim de identificar o mais provável sorovar infectante, considerou-se a positividade de um soro para um sorovar em que se observou a titulação mais elevada (Tabela 14).

**Tabela 14** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo sorovar e o título de reação. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Sorovar	Títulos de anticorpos (UI)							Total(%)
	100	200	400	800	1 600	3 200	6 400	
Castellonis	8	8	12	9	2	-	-	39 (28,68%)
Autumnalis	9	6	4	6	1	-	-	26 (19,12%)
Pyrogenes	4	4	6	6	3	1	-	24 (17,65%)
Icterohaemorrhagiae	9	1	4	1	-	-	-	15 (11,03%)
Canicola	2	3	2	1	-	2	3	13 (9,56%)
Australis	2	1	2	1	-	-	-	6 (4,41%)
Shermani	-	-	-	-	-	3	2	5 (3,68%)
Copenhageni	-	-	2	-	-	-	-	2 (1,47%)
Grippotyphosa	1	-	-	-	-	1	-	2 (1,47%)
Brasiliensis	1	-	-	-	-	-	-	1 (0,73%)
Butembo	-	1	-	-	-	-	-	1 (0,73%)
Panama	1	-	-	-	-	-	-	1 (0,73%)
Wolffi	-	1	-	-	-	-	-	1 (0,73%)
<b>Total</b>	<b>37</b>	<b>25</b>	<b>32</b>	<b>24</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>136 (100%)</b>

Não constam na tabela os sorovares com ocorrência de empate na titulação máxima.

Em coaglutinações com títulos máximos e idênticos para dois ou mais sorovares, esses foram separados, uma vez que não foi possível estabelecer o provável sorovar infectante (Tabela 15).

**Tabela 15** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo os títulos máximos de coaglutinações. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Sorovar	Títulos de anticorpos (UI)								Total (%)
	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	
Castellonis/Canicola	3	5	5	1	-	1	2	-	17 (39,54%)
Canicola/Pyrogenes	1	1	2	2	-	-	-	-	6 (13,96%)
Castellonis/Pyrogenes	-	-	-	2	1	-	-	-	3 (6,98%)
Castellonis/Canicola/ Pyrogenes	1	-	-	-	1	-	-	-	2 (4,65%)
Castellonis/ Icterohaemorrhagiae	1	1	-	-	-	-	-	-	2 (4,65%)
Canicola/ Icterohaemorrhagiae	1	-	-	1	-	-	-	-	2 (4,65%)
Icterohaemorrhagiae/ Pyrogenes	2	-	-	-	-	-	-	-	2 (4,65%)
Australis/Shermani	-	-	1	1	-	-	-	-	2 (4,65%)
Australis/Castellonis/ Canicola/Pyrogenes/ Icterohaemorrhagiae/ Shermani	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (2,33%)
Australis/Hebdomadis/ Copenhageni	-	1	-	-	-	-	-	-	1 (2,33%)
Autumnalis/ Grippotyphosa	-	1	-	-	-	-	-	-	1 (2,33%)
Autumnalis/ Hebdomadis	1	-	-	-	-	-	-	-	1 (2,33%)
Autumnalis/ Icterohaemorrhagiae	-	-	-	-	-	-	-	1	1 (2,33%)
Castellonis/Canicola/ Copenhageni	-	-	1	-	-	-	-	-	1 (2,33%)
Castellonis/Canicola/ Hardjo	-	-	-	1	-	-	-	-	1 (2,33%)
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>43 (100%)</b>

As reações sorológicas com títulos mais baixos e que, portanto, não foram consideradas como o provável sorovar infectante, estão representadas na Tabela 16.

**Tabela 16** – Cães da área territorial urbana de Botucatu, SP, submetidos ao exame de soroaglutinação microscópica aplicado ao diagnóstico de leptospirose segundo os títulos mais baixos. Colheita efetuada em 2001. Botucatu, 2006

Sorovar	Títulos de anticorpos (UI)						Total(%)
	100	200	400	800	1 600	3 200	
Icterohaemorrhagiae	17	12	3	3	-	-	35 (20,47%)
Canicola	7	10	8	3	-	-	28 (16,37%)
Pyrogenes	11	5	2	1	2	-	21 (12,28%)
Copenhageni	7	10	2	-	-	-	19 (11,11%)
Castellonis	1	5	7	3	-	1	17 (9,94%)
Australis	3	3	-	1	1	1	9 (5,26%)
Shermani	1	3	2	-	1	2	9 (5,26%)
Grippotyphosa	2	4	-	-	-	-	6 (3,51%)
Hebdomadis	4	1	-	-	1	-	6 (3,51%)
Djasiman	3	1	1	-	-	-	5 (2,92%)
Autumnalis	-	2	-	-	1	-	3 (1,75%)
Panama	3	-	-	-	-	-	3 (1,75%)
Pomona	3	-	-	-	-	-	3 (1,75%)
Javanica	1	1	-	-	-	-	2 (1,17%)
Wolffi	1	1	-	-	-	-	2 (1,17%)
Bratislava	1	-	-	-	-	-	1 (0,58%)
Sentot	1	-	-	-	-	-	1 (0,58%)
Hardjo	-	1	-	-	-	-	1 (0,58%)
Butembo	-	-	-	-	-	-	-
Bataviae	-	-	-	-	-	-	-
Brasiliensis	-	-	-	-	-	-	-
Whitcombi	-	-	-	-	-	-	-
Cynopteri	-	-	-	-	-	-	-
Tarassovi	-	-	-	-	-	-	-
Total	66	59	25	11	6	4	171 (100%)

# *D*ISSCUSSÃO

---

## VI - DISCUSSÃO

Em 20 postos homogeneamente distribuídos na área territorial urbana de 32 km<sup>2</sup> do município de Botucatu, SP, durante a 33a. campanha anual de vacinação anti-rábica, a proporção de 179/ 1 000 (17,9%) amostras sorológicas caninas reagiram para *Leptospira* spp.

No Brasil, valores mais baixos que o intervalo de confiança (15,52% - 20,28%) estabelecido estatisticamente para os 17,9% foram verificados em amostras sorológicas caninas por Veronesi et al. (1956) na cidade de São Paulo, SP (9,6%), Santa Rosa et al. (1969/1970) em São Paulo, SP (14%), Santa Rosa et al. (1974) em Belo Horizonte, MG (5,9%), Modolo et al. (2000) em Botucatu, SP (15,4%), Masculli et al. (2002) em Santana de Parnaíba, SP (15%), Silva et al. (2003a) em Ubatuba, SP (14,63%) e Blazius et al. (2005) em Itapanema, SC (10,5%). Esses valores podem ter sido diferentes dos apresentados neste estudo devido à quantidade e identidade de sorovares utilizados nas provas laboratoriais. Além disso, o título de corte utilizado por Veronesi et al. (1956), Santa Rosa et al. (1969/1970) e Santa Rosa et al. (1974) foi de 200, distinto do utilizado neste estudo, 100. Ademais, fatores topográficos, clima e estação do ano podem interferir nas avaliações epidemiológicas em estudos a campo (SILVA et al., 2003a).

Freqüências semelhantes, ou seja, que se encontram dentro do intervalo de confiança, foram observadas por Alves et al. (2000) em Patos, PB (20%), Lilenbaum et al. (2000) em Oriximiná, PA (18,4%), Favero et al. (2002) nos estados de São Paulo (17,9%) e Piauí (19,7%), Batista et al. (2004) em cães errantes do município de Patos, PB (20%), apesar de terem sido realizados em diferentes regiões do país, com presença de variações de temperatura, umidade, meio ambiente, relevo e em animais errantes e/ou domiciliados de área urbana.

No que concerne aos percentuais mais elevados de soros de cães reagentes à *Leptospira* spp., há descrições feitas por Caldas et al. (1977) em Salvador, BA (21,6%); por Yasuda et al. (1980), quando os mesmos, ao pesquisarem a variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, SP, constataram 21,6% de sororeagentes; por

Furtado et al. (1997) que, ao caracterizarem a prevalência e a avaliação de fatores de risco à leptospirose canina, no município de Pelotas, RS, obtiveram 28,9% de sororeagentes; por Viegas et al. (2001a), ao investigarem 663 hemossoros caninos sobre leptospirose no estado da Bahia, detectaram 294 (44,3%) de reagentes; e em outra pesquisa sorológica com 120 cães errantes de vários distritos sanitários na cidade de Salvador, BA, feita por Viegas et al. (2001b), obtendo-se 102 (85%) amostras reagentes. Em todas as pesquisas referidas, cujas taxas são mais elevadas, averiguou-se que nos exames laboratoriais foi utilizada uma quantidade menor de sorovares (18, 14, 8, 18 e 18, respectivamente) em comparação com a pesquisa aqui realizada. Se houvesse elevado o número de antígenos nas respectivas provas laboratoriais, as taxas poderiam ser ainda mais altas. Os resultados obtidos pelas pesquisas sobre o quadro soroepidemiológico de leptospirose em cães em todo o Brasil nos fornecem dados preocupantes, entretanto, ainda não há um trabalho efetivo com arrojo para tentar diminuir esta estatística.

Em trabalhos internacionais sobre leptospirose, também há relatos de dados com resultados sorológicos menores do que os 17,9% encontrados em amostras de soros dos cães de Botucatu, SP, pois Myburgh et al. (1993), na África do Sul, constataram que 7/400 (1,5%) soros de cães reagiram para sete sorovares, a partir do título 80. O'Keefe et al. (2002), na Nova Zelândia, utilizaram cinco sorovares patogênicos em 150 soros de cães urbanos e consideraram reagentes a partir da diluição 1:100, obtendo 19 (12,66%) animais reagentes. Ward (2002b) demonstrou em estudo retrospectivo, referente ao período de 1983 e 1998, que o número de casos de cães diagnosticados para leptospirose, examinados em 22 hospitais veterinários dos Estados Unidos da América e Canadá, foi de 340/1 035 366 (0,033%). Os resultados foram baixos principalmente porque, fatores como clima seco e temperaturas muito altas ou muito baixas não favorecerem o crescimento de leptospiros, diferente de Botucatu, SP, onde o clima subtropical é favorável, com chuvas constantes, propiciando a manutenção e a multiplicação das leptospiros.

Na Índia, em resultados sorológicos de cães realizados por Ratnam et al. (1994) e Thirunavukkarasu et al. (1995), foram observados 16,3% (16/98) e 17,19% (11/64) de sororeagentes, respectivamente, utilizando-se sete

sorovares como antígenos nas provas laboratoriais e ficando próximos da taxa apresentada neste trabalho. Contudo, a quantidade de sorovares utilizado foi menor que os 24 utilizados no presente trabalho, o que dificulta comparação e discussão.

Taxas superiores às obtidas no presente trabalho foram referidas por Rubel et al. (1997) 127/223 (57%) na área suburbana de Buenos Aires, Argentina; Montes et al. (2002) em Guzmán, México, 95/419 (22,6%); Prescott et al. (2002) em Ontário, Canadá, 111/462 (24%) com títulos entre 80 e 160, considerados suspeitos, e 119/462 (26%), com títulos  $\leq 320$  aceitos como positivos; Rodriguez et al. (2004) 81/197 (41,1%) dos cães de rua de Cali, Colômbia; e Aslantaş et al. (2005) em Ankara, Turquia, 51/116 (43,96%). Provavelmente essas taxas elevadas sejam reflexos de mudanças climáticas atuais, como precipitações pluviométricas elevadas responsáveis por alagamentos, com contaminação da água e alimentos, condições de vida inadequadas à população humana e, conseqüentemente, aos animais, pois favorecem a manutenção e a disseminação das bactérias.

A distribuição sorológica de anticorpos contra *Leptospira* spp. nos cães amostrados segundo a idade (Tabela 2), demonstrou que aqueles com idade de três meses a um ano tiveram 18/223 (8,07%) reagentes, os acima de um ano até cinco anos com 95/529 (17,96%) e os acima de cinco anos com 66/218 (26,61%), corroborando os achados de Pineda et al. (1996), no Chile, em cães com taxas de 21,05%, 43,75% e 55,55%, respectivamente, e Rubel et al. (1997), na Argentina, com porcentagens de 33%, 62% e 62%, respectivamente.

Ao exposto, verifica-se que o raio de perambulação dos animais mais novos é mais restrito que o dos adultos (PINEDA et al., 1996), além da atividade sexual ainda não ser intensa, bem como de usualmente receberem mais cuidados. Acredita-se ainda que quanto mais idoso, maior a chance da aquisição de doenças. Entretanto, há relatos de resultados um pouco diferenciados, como os de Caldas et al. (1977) em amostras de soros caninos de Salvador, BA, que apresentaram dados de 14,81%, 26,74% e 10,81%, e Aslantaş et al. (2005) na Turquia, com distribuição de 16,7%, 51,7% e 22,22%. Os valores citados por esses autores foram mais elevados em animais acima

de um ano até cinco anos, mas mesmo não sendo semelhantes aos do presente trabalho, que foi de forma crescente, não podem ser desconsiderados, já que a faixa de cães com porcentagens elevadas é a dos adultos.

De acordo com os resultados sorológicos referentes ao sexo, apresentados na Tabela 3, os 110/548 (20,07%) machos foram mais reagentes que as 69/452 (15,27%) fêmeas. Há pesquisas com taxas diferentes, como em Patos, PR, Batista et al. (2004), em que os machos foram 5/39 (12,8%) e as fêmeas 21/91 (23,1%) dos sororeagentes. Champion et al. (2004), em 31 cães com leptospirose atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba, referem que 19/31 (61,3%) eram fêmeas. Aslantaş et al. (2005), em Ankara, Turquia, encontraram 33/67 (49,3%) fêmeas no total de soros de animais reagentes para *Leptospira* spp., contudo não relataram os fatores desencadeantes para tornarem as fêmeas mais predisponentes. Outrossim, concordando com as taxas apresentadas no presente estudo, Venkataraman & Nedunchellian (1992), na Índia, relataram, 15/62 (24,19%) para os machos e 5/32 (15,62%) para as fêmeas. Pineda et al. (1996), no Chile, encontraram mais machos soropositivos que as fêmeas, com 46,15% comparado a 23,8%. Rubel et al. (1997), na Argentina, detectaram 85/134 (63%) cães machos reagentes e 34/75 (45%) fêmeas. Alves et al. (2000) em Patos, PB, constataram 18/79 (22,78%) cães machos e 5/35 (14,28%) fêmeas reagentes. Essas taxas elevadas em relação aos cães machos são reflexos do comportamento, portanto diferem nos indivíduos de sexos opostos. Como exemplo, a posição do macho adulto durante a micção que permite que os pêlos do prepúcio tenham contato com superfícies eventualmente contaminadas com leptospiros e, principalmente, o focinho que, ao cheirar essas mesmas superfícies para reconhecimento territorial e regiões urogenitais de outros cães, pode ser infectado (CALDAS et al., 1977).

No presente trabalho constatou-se que nos cães sem raça definida 127/670 (18,96%), houve mais reagentes que os de raça 52/330 (15,76%) (Tabela 4) ( $p > 0,05$ ). Champion et al. (2004), referem que os cães sem raça definida, 13/31 (41,9%), foram menos sororeagentes que os de raça definida,

18/31 (58,31%), contrapondo aos dados trazidos nesta pesquisa, e, por falta de informações referentes aos animais de Curitiba, PR, sobre suas características residenciais, ambientais, contato com outros animais, não há como confrontar e deduzir o porquê dos cães de raça terem sido mais reagentes. Em relação a valores descritos por Caldas et al. (1977), em Salvador, BA, em cães sem raça definida, 77/290 (26,55%), e os de raça, 16/140 (11,43%); por Modolo et al. (2000) em Botucatu, SP, em cães sem raça definida 100/564 (17,7%) e de raça 19/211 (9%), e por Batista et al. (2005) em Campina Grande, PB, estes últimos, observaram em cães sem raça definida 57/285 (24,4%) e de raça 4/51 (7,8%), caracterizam achados coincidentes com os do presente estudo. Salienta-se que os cães sem raça definida, por terem mais facilidade de andarem soltos e por mais tempo nas ruas, ficam também mais expostos ao contato com leptospiros presentes no ambiente, em lixos, em águas contaminadas, bem como com outros animais doentes.

Animais domésticos como bovinos, eqüinos, suínos, ovinos, cães e gatos são hospedeiros mantenedores comuns de leptospiros e carreadores para o meio ambiente (MAILLOUX, 1975; LEVETT, 2001, 2004; BHARADWAJ, 2004), para outros animais e para o homem. Langoni et al. (1998) examinaram 200 soros de gatos de vários municípios do estado de São Paulo e de Foz do Iguaçu, Paraná, encontrando nove (4,5%) reatores para leptospirose. Shimabukuro et al. (2001) encontraram 142/344 (28,8%) eqüídeos reagentes para *Leptospira* spp. oriundos de Jequié e Jacobina, BA. Viegas et al. (2001a) observaram na Bahia em 97/109 (89%) bovinos, 40/60 (66,7%) eqüinos, 294/663 (44,3%) caninos e 1/1 (100%) felino, reatores para leptospirose. Favero et al. (2002) relataram 2 147/5 148 (41,7%) eqüinos reagentes em vários estados do Brasil. Alves et al. (2003) encontraram 12/100 (12%) de gatos reagentes no município de Patos, PB. No presente estudo os cães que tiveram contato com a maior quantidade de espécies de animais (cão, gato, bovino, eqüino), 7/11 (63,6%), apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5) em relação aos de menor contato. A tendência de aumento na taxa, principalmente para outros sorovares que não o Canicola, pode ter sido em relação ao contato direto com outras espécies de animais ou quando exposto ao ambiente contaminado por essas espécies (WARD, 2002b; BATISTA et al.,

2004). No entanto, em análises de associação realizadas por Rubel et al. (1997), não foram reveladas diferenças significativas quando caracterizaram as espécies de animais domésticas presentes que tinham contato com os cães sororeagentes, porém notou-se que os soros dos caninos reagentes tiveram reações também para outros sorovares como Pyrogenes, o qual foi o de maior taxa, Ballum, Hebdomadis, Hardjo, Tarassovi, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae e Pomona, que não são muito comuns nos cães.

Nos cães com acesso a águas, houve maior frequência de sororeagentes, 23/107 (21,5%), que os sem acesso 156/893 (17,47%), todavia, esta diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ) (Tabela 6). Já Rubel et al. (1997) encontraram diferença significativa no grupo dos cães sororeatores que tiveram acesso à água parada localizada próxima a sua residência, 79/123 (64%), em relação aos animais sem esse tipo de acesso, 8/22 (36%), de fato Jouglard & Brod (2000), Michel et al. (2002), Trueba et al. (2002) e Nájera et al. (2005) constataram que as fontes de água parada ou córregos foram fatores determinantes de risco para leptospirose.

A análise da distribuição dos animais sororeatores para *Leptospira* spp. segundo a origem das águas (Tabela 7), indicou maior frequência de reatores para acesso a córrego/lago, 5/13 (38,46%), seguido por acesso a água de chuvas, 17/88 (19,32%), e, posteriormente, acesso a esgotos, 1/6 (16,67%), contudo, as diferenças absolutas não foram significativas ( $p > 0,05$ ). Estes achados confirmam as descrições de Lopes et al. (2005) em Botucatu, SP, que não constataram diferença significativa para a correlação com esgoto, contudo Furtado et al. (1997) em Pelotas, RS, evidenciaram que cães de residências sem rede de esgoto teriam 1,98 vezes mais chances de adquirirem a leptospirose, provavelmente devido ao contato com água contaminada proveniente de fossas ou valetas. Da mesma forma Rubel et al. (1997), Rodriguez et al. (2004) afirmam que a soropositividade aumenta linearmente com a presença transitória e/ou permanente de valas próximas à residência. Ward (2002a) verificou que, o risco de infecção de leptospirose nos cães aumentam por chuvas torrenciais e inundações. Batista et al. (2005) em Campina Grande, PB, verificaram que a taxa de reagentes à *Leptospira* spp.

foi mais elevada para os animais que tiveram contato com açudes 9/24 (37,5%) contra 52/261 (19,9%), entre os que não tiveram contato. Trueba et al. (2002) ressaltam a possibilidade de sobrevivência e multiplicação de leptospiros patógenas no meio ambiente, e afirmam que as águas correntes e arroios são muito mais perigosas que acumulações de água estática, pois são mais ricas em bactérias ambientais e com maiores concentrações de sais.

Entre os cães alimentados somente com ração houve 68/503 (13,53%) reagentes para a leptospirose, entre os que recebiam comida caseira 39/210 (18,57%) e com os dois tipos ração/comida 70/285 (24,56%) (Tabela 8). Os cães sororeagentes que se alimentavam de lixo não constam na tabela, pois houve apenas dois animais, prejudicando a correlação com os demais itens citados. No item onde ocorreu a taxa mais alta, pressupõe-se que poderia ter existido contaminação dos alimentos pela urina de animais infectados (BRASIL, 1995), visto que, quando houve uma interação entre ração/comida caseira, a taxa de sororeagentes foi maior e apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao item ração. Acredita-se que a ração/comida caseira tornou-se uma oferta maior de variedades de alimentos para possíveis roedores que poderiam ter acesso a estes locais. Quanto aos cães sororeagentes alimentados com lixo, ficou explícito e caracterizado como poderiam ter se infectado, fortalecendo a hipótese de Rubel et al. (1997) que encontraram maior frequência de reatores entre os cães que tinham contato com lixo, 48/73 (66%), contra 77/147 (52%), contudo, esta diferença não foi significativa.

A análise das proporções de cães sororeagentes quanto ao aspecto dos proprietários deixarem alimentos e água durante a noite, revelou 65/326 (19,94%) reagentes para os que não deixavam, contra 114/674 (16,91%) para os que deixavam, resultados que não indicaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) (Tabela 9). Os resultados percentuais destes dois itens ficaram bem próximos e relativamente baixos, com uma leve queda para os resultados dos que deixavam, todavia, não se pode descuidar da orientação da população quanto aos procedimentos corretos de armazenamento e disposições ideais dos alimentos e água para que os animais não se contaminem. Genovez (1996),

por sua vez, refere que restos alimentares podem favorecer a proliferação de doenças.

Os proprietários sem estudo não tiveram cão sororeagente para leptospirose, apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os que possuíam ensino fundamental 122/627 (19,46%), médio 40/253 (15,81%) e superior 17/111 (15,32%) (Tabela 10). Essas taxas diferem dos resultados obtidos por Johnson et al. (2004) no Peru, onde a prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. diminuiu com o aumento do nível de escolaridade da população pesquisada. Contudo, os nove proprietários mesmo sem estudos, foram zelosos e cuidaram bem dos seus animais.

Nas porcentagens restantes dos ensinos fundamental, médio e superior, nota-se que à proporção em que o nível de escolaridade se elevava, o percentual de cães sororeagentes diminuía. A educação propriamente dita deve ter contribuído para ações preventivas em saúde e manejos eficazes.

Na questão econômica, os valores obtidos indicaram que quanto mais altas foram as rendas familiares, menores foram os percentuais de cães sororeagentes para leptospirose, ocorrendo uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os proprietários que ganhavam de um a três salários mínimos em relação aos que ganhavam acima de 15 (Tabela 11). Gonçalves et al. (2002) referem que nas famílias de rendas mais baixas é que se concentra a maior ocorrência de doenças, o que as coloca como alvo de ações preventivas e assistenciais prioritárias. No Brasil, 24% da população humana vive com até US\$ 2/dia, ou seja, são classificados como miseráveis ou pobres (RIO DE JANEIRO, 2004). Com base nesses dados, em Botucatu, SP, no ano de 2001, a taxa de pobreza ficou em 5,8% (58/1 000) dos proprietários, mostrando renda familiar melhor do que a média brasileira.

Todos os 20 postos da área territorial urbana do município de Botucatu, SP, onde foram feitas as colheitas de sangue, apresentaram sororeagentes à *Leptospira* spp., uns com taxas mais baixas, outros bem mais elevadas. De fato, houve diferenças significativas entre alguns postos ( $p < 0,05$ ). O posto com

a menor taxa de reatores foi o da COHAB V, 3/50 (6,0%), e o de maior o da Vila São Luís, 19/43 (44,2%) (Tabela 12). A observação no foco da região em questão revelou a presença de esgotos a céu aberto desembocando em um córrego que margeia o bairro (Figura 4), lixo à revelia nas ruas (Figura 5), cães urinando no meio ambiente (Figura 6), aumentando assim risco de disseminação de agentes infecciosos.

A despeito de a Vila São Luís ser a área de maior risco no perímetro urbano, a ausência de vizinhos espaciais com altas taxas indica que o problema está localizado. Além disso, a aplicação da análise espacial neste estudo demonstrou a importância do espaço em estudos epidemiológicos e programas de vigilância. Deve-se destacar que, na análise exploratória realizada, não foram consideradas as co-variáveis como sexo, idade e raça, que podem ser importantes para a detecção de agrupamentos locais (SILVA et al., 2006. Prelo).

A ausência de um arranjo espacial para soroprevalência em Botucatu, SP, pode ser explicada pela topografia, que dificulta o acesso entre os bairros da periferia. No entanto, valores mais elevados, como no caso da Vila São Luís e da COHAB I, devem ser considerados no monitoramento e planejamento das ações no controle das zoonoses. Os valores elevados nesses bairros são problemas localizados, cujas causas devem ser investigadas. Também interessante é observar como a soroprevalência não reproduz a distribuição sócioeconômica da população de Botucatu, já que esta apresenta índices mais baixos na periferia.

O mapeamento geográfico desse evento foi fundamental para observar essas características, as quais dificilmente seriam percebidas em uma tabela. Os estudos dessa microlocalização possibilitarão a definição de prioridades para o planejamento de saúde, cujas ações, na origem do problema, levarão, por consequência, proteção e qualidade mais eficientes à saúde pública.

Para verificar uma possível interferência de títulos vacinais na prova de soroprecipitação microscópica, estudou-se 104 cães que haviam sido vacinados num intervalo de até seis meses antes da colheita de sangue. Desse total, dez (9,61%) foram reagentes, sendo que apenas dois (1,92%) apresentaram

reações para os sorovares contidos na vacina, Canicola e Icterohaemorrhagiae (Tabela 13). Bolin (1996) cita que a vacinação está associada a títulos na maioria das vezes abaixo de 300, podendo em alguns casos chegar até a 3 200, após um tempo ocorre o declínio que persiste em média de três meses, e em alguns cães pode permanecer por seis meses. Provavelmente, o uso da vacina não interferiu no percentual total de animais reagentes, sugerindo que a maioria teve contato com os agentes da leptospirose (SILVA et al., 2003c).

O sorovar Castellonis foi o de maior ocorrência (28,68%) no presente estudo (Tabela 14), assim como por Flores et al. (1999) em cães errantes na Cidade do México, com 50% do total das amostras reagentes. Também apareceu como o terceiro mais importante no trabalho de Caldas et al. (1977) com 10,29%, em quinto quando foi averiguado por Viegas et al. (2001a) com 6,2%, em sexto no relato de Viegas et al. (2001b) com 13,7% e em sétimo lugar na pesquisa de Mascolli et al. (2002) com 4,0%, caracterizando com isso sua presença nas diferentes localidades. Outros autores, como Furtado et al. (1997), Alves et al (2000), Jouglard & Brod (2000), Lilenbaum et al. (2000), Favero et al. (2002) e Batista et al. (2004), também incluíram o sorovar Castellonis em suas coleções de antígenos, no entanto não encontraram reações. Esse sorovar tem como reservatório os roedores silvestres (BARANTON, 1998) e acredita-se que no município de Botucatu, SP, por ser uma cidade longilínea cercada de fazendas, os roedores silvestres possam ter contato maior com os roedores urbanos, o que facilitaria uma introdução do sorovar Castellonis na área urbana.

O sorovar Autumnalis, o segundo mais freqüente com 19,12%, foi o mais destacado por Weekes et al. (1997) com 45%, Alves et al. (2000) com 34,78%, Viegas et al. (2001a) com 33,5%, Viegas et al. (2001b) com 41,2%, Batista et al. (2004) com 30,8%, e Batista et al. (2005) com 34,4%. O terceiro sorovar mais freqüente no presente estudo, o Pyrogenes (17,65%), também foi referido por Rubel et al. (1997) como o percentual mais alto (89,8%), Tenório et al. (2000) 62,8%, Silva et al. (2003a) 23,3% e Blazius et al. (2005) 41,9% em amostras de soros caninos errantes de Itapanema, SC, caracterizando, assim, outros sorovares que surgiram com destaque nos resultados de várias pesquisas.

Os sorovares Icterohaemorrhagiae e Canicola têm sido referidos com bastante freqüência em cães de todo o mundo. Neste estudo também apareceram e ficaram em quarto (11,03%) e quinto (9,56%) lugares, respectivamente. O sorovar Icterohaemorrhagiae foi encontrado em maior proporção por Venkataraman & Nedunchellian (1992), Lilenbaum et al. (2000) e Rodriguez et al. (2004), respectivamente com 50%, 55,9% e 55,6%. Já o Canicola, foi destacado por Furtado et al. (1997), Modolo et al. (2000), Montes et al. (2002) e Batista et al. (2005) respectivamente, com 37,33%, 64,7%, 35% e 2,1%. São estes dois sorovares que corriqueiramente causam doenças clínicas nos cães (CORRÊA & CORRÊA, 1992; GRENEE et al., 1998; ACHA & SZYFRES, 2003).

O sorovar Copenhageni, apesar de aparecer como o oitavo mais significativo nesta pesquisa, nos chama a atenção pela quantidade de citações feitas em sua referência com os percentuais mais elevados em cães do estado de São Paulo por Favero et al. (2002) com 17,3%, e Mascolli et al. (2002) com 24% no município de Santana de Parnaíba, por Champion et al. (2004) com 62% dos cães em Curitiba, PR, e O'Keefe et al. (2002) com 11,9% na Nova Zelândia. Esta característica de variabilidade dos sorovares, aflorada em diferentes regiões, deve ser considerada na elaboração de vacinas mais apropriadas contra a leptospirose.

As coagulações para dois ou mais sorovares foram observadas em 43/179 (24%) dos exames sorológicos realizados (Tabela 15), não sendo possível, a indicação do provável sorovar infectante. Também Bolin (1996), Favero et al. (2002), Mascolli et al. (2002) e Batista et al. (2005) observaram coagulações durante os exames sorológicos laboratoriais e designaram como um forte indicativo de reações cruzadas, sendo considerados, portanto, apenas os resultados com a titulação mais elevada como as prováveis variantes sorológicas.

Ficam também apresentados e descritos todos os sorovares com a titulação mais baixa (Tabela 16), não se constituindo, porém, como os possíveis infectantes.

O risco epidemiológico revelado pelas prevalências dos sorovares de *Leptospira* spp., associado a todas as variáveis trabalhadas com as amostras sorológicas caninas, sugere estes animais como indicadores de vários tipos de sorovares presentes nessa área, apresentando-os como um fator de risco à saúde pública.

# CONCLUSÕES

## VII - CONCLUSÕES

- 1) A porcentagem de amostras caninas sororeagentes contra *Leptospira* spp. na área territorial urbana de 32 km<sup>2</sup> de Botucatu, SP, foi de 17,9%.
- 2) Houve associação significativa entre animais sororeagentes para leptospirose e as variáveis idade, sexo, contato com outros animais, tipo de alimentação, grau de escolaridade, renda familiar e postos de colheita. Em relação à raça, acesso a águas, origem das águas e manutenção de alimento e água durante a noite não houve essa associação.
- 3) A distribuição espacial do percentual de cães sororeagentes indicou uma fraca dispersão espacial, não-significativa, que não pode ser explicada por um processo sistemático. A maior taxa no posto da Vila São Luís (44,2%), embora não represente um agrupamento significativo, deve ser alvo, em particular, de planejamentos de saúde e vigilância epidemiológica.
- 4) Os sorovares de leptospiros predominantes foram: Castellonis 39/136 (26,68%), Autumnalis 26/136 (19,12%), Pyrogenes 24/136 (17,65%), Icterohaemorrhagiae 15/136 (11,03%), Canicola 13/136 (9,56%), Australis 6/136 (4,41%), Shermani 5/136 (3,68%), Copenhageni e Grippotyphosa 2/136 (1,47%), Brasiliensis, Butembo, Panama e Wolffi 1/136 (0,73%) cada.

## CONCLUSÕES ADICIONAIS

- 1) Os cães sororeagentes à *Leptospira* spp, podem se tornar fatores de risco para as famílias que coabitam com esses animais.
- 2) A variabilidade de sorovares regional deve ser considerada na elaboração de vacinas mais apropriadas contra a leptospirose.

# ***B*IBLIOGRAFIA**

---

## VIII - BIBLIOGRAFIA\*

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003. v.1, p.175-186.

AIELLO, S.E.; MAYS, A. **Manual merck de veterinária**. 8. ed. São Paulo: Roca, 2001. 1861p.

ALVES, C.J.; ANDRADE, J.S.L.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; AZEVEDO, S.S.; SANTOS, F.A. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães no município de Patos - PB, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Vet.**, v.7, p.17-21, 2000.

ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; ANDRADE, J.S.L.; CLEMENTINO, I.J.; AZEVEDO, S.S.; SANTOS, F.A. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospiras em gatos no município de Patos - PB. **Clín. Vet.**, v.46, p.48-54, 2003.

ANSELIN, L. Local indicators of spatial association-LISA. **Geogr. Anal.**, v. 27, p. 93-115, 1995.

ANSELIN, L. **GeoDa 0.9 User's Guide**. Spatial Analysis Laboratory (SAL). Champaign. Department of Agricultural and Consumer Economics, University of Illinois, 2003. 225 p.

---

\* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.  
BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

ARAÚJO, W.B.; SA, M.E.P.; ELIAS, A.O.; SOUZA, L.C.; LANGONI, H.; DANTAS, L.O.; GERONUTTI, L.M.; LIMA, K.C.; SIMÕES, S.M.S. Pesquisa de aglutininas anti-leptospíricas em soros caninos do município de Cananéia – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., 2000, Águas de Lindóia. **Anais...Águas de Lindóia**, 2000. p.72.

ASLANTAŞ, Ö.; ÖZDEMİR, V.; KILIÇ, S.; BABÜR, C. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis, and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey. **Vet. Parasitol.**, v.129, p.187-191, 2005.

ASSUNÇÃO, R.M.; REIS, E.A. A new proposal to adjust moran's i for population density. **Stat. Med.**, v.18, p.2147-2162, 1999.

BAILEY, T.C. Spatial statistical methods in health. **Cad. Saúde Pública**, v.17, n.5, p.1083-1098, 2001.

BARANTON, G. DNA relatedness of serovars. Paris: Institut Pasteur, Unité de Bactériologie Moléculaire et Médicale, 1998. Disponível em <<http://www.pasteur.fr/recherche/leptospira/leptospira.html>>. Acesso em: 20 mar. 2004.

BARCELLOS, C.; BASTOS, F.I. Geoprocessamento, ambiente e saúde: uma união possível?. **Cad. Saúde Pública**, v.12, n.3, p.389-397, 1996.

BATISTA, C.S.A.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; CLEMENTINO, I.J.; ALVES, F.A.L.; LIMA, F.S.; ARAÚJO NETO, J.O. Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.2, p.179-185, 2005.

BATISTA, C.S.A.; AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; CLEMENTINO, I.J.; LIMA, F.S.; NETO, J.O.A. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.41, p.131-136, 2004.

BHARADWAJ, R. Leptospirosis – a reemerging disease?. **Indian J. Med. Res.**, v.120, p.136-138, 2004.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICALDI, J.N.; MATTHIAS, M.A.; DIAZ, M.M.; LOVETT, M.A.; LEVETT, P.N.; GILMAN, R.H.; WILLIG, M.R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J.M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infect. Dis.**, v.3, n.12, p. 757-771, dec. 2003.

BLAZIUS, R.D.; ROMÃO, P.R.T.; BLAZIUS, E.M.C.G.; SILVA, O.S. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na cidade de Itapanema, Santa Catarina, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v.21, n.6, p.1952-1956, nov.-dez., 2005.

BOLIN, C.A. Diagnosis of leptospirosis: A reemerging disease of companion animals. **Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.**, v.11, p.166-171, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de leptospirose**. 2. ed. Brasília: FUNASA, 1995. 98p.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 5. ed. Brasília: FUNASA, 2002. v.2, 842p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias**: guia de bolso. 4. ed. Brasília: FUNASA, 2004. 332p.

BRENNER, D.J.; KAUFMANN, A.F.; SULZER, K.R.; STEIGERWALT, A.G.; ROGERS, F.C.; WEYANT, R.S. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. Nov. and four new *Leptospira* genomospecies. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.49, p.839-858, 1999.

BROD, C.S.; ALEIXO, J.A.G.; JOUGLARD, S.D.D.; FERNANDES, C.P.H.; TEIXEIRA, J.L.R.; DELLAGOSTIN, O.A. Evidência do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito sorológico. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.38, n.4, p.294-300, 2005.

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

CARTER, G.R. **Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária**. São Paulo: Roca, 1988. p.205-206.

Center for Disease Control - CDC. Guidelines for investigating clusters of health events. **Morb. Mortal. Wkly Rep.**, v.39, n.RR-11, p.1-23, 1990.

CHAMPION, T.; BIONDO, A.; DITHRICH, R.L.; SINCERO, P.C.; ZANETTI, M.B.F.; SPREA, G.; BAUDI, D.L.K. Estudo retrospectivo de cães sororeagentes à *Leptospira sp* atendidos no hospital veterinário da UFPR. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 25., 2004, Gramado. **Anais...** Gramado, 2004. p.43.

COCHRAN, W. **Sampling techniques**. 3. ed. New York: John Wiley, 1977. 555p.

COLE JR., J.R.; SULZER, C.R.; PURSELL, A.R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. **Appl. Microbiol.**, v.25, n.6, p.976-980, 1973.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Leptospira canina*. In: \_\_. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.233-240.

CÔRTEZ, J.A. **Epidemiologia**: conceitos e princípios fundamentais. São Paulo: Varela, 1993. 227p.

CUMBERLAND, P.; EVERARD, C.O.R.; LEVETT, P.N. Assessment of the efficacy of an IgM – ELISA and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.61, n.5, p.731-734, 1999.

DAHER, E.F.; NOGUEIRA, C.B. Evaluation of penicillin therapy in patients with leptospirosis and acute renal failure. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.42, n.6, p.327-332, nov./ dec. 2000.

ENRIETTI, M.A. Contribuição ao conhecimento da incidência de leptospiras em murídeos, caninos e suínos no Paraná. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v.jubilee, p.311-342, dec. 2001.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.A.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272p.

FARRINGTON, N.P.; SULZER, K.R. Canine leptospirosis in Puerto Rico. **Int. J. Zoonoses**, v.9, p.45-50, 1982.

FAVERO, A.C.M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Leptospirose bovina – variantes sorológicas predominantes em colheitas efetuadas no período de 1984 a 1997 em rebanhos de 21 estados do Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, v.68, n.2, p.29-35, jul./dez. 2001.

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

FLORES, A.; RIOL, M.A.R.; BADILLO, M.L.O.; MOCTEZUMA, A.P. Seroprevalencia de leptospirosis em perros callejeros del norte de la ciudad de México. **Vet. Méx.**, v.30, p.105-107, 1999.

FURTADO, L.R.I.; FEHLBERG, M.F.B.; AVILA, M.O.; TEIXEIRA, M.M.; ROSADO, R.L.I.; MARTINS, L.F.S.; BROD, C.S. Prevalência e avaliação de fatores de risco à leptospirose canina, no município de Pelotas, RS. **Arq. Inst. Biol.**, v.64, n.1, p.57-61, jan./jun. 1997.

GENOVEZ, M.E. Leptospirose em cães. **Pet. Vet.**, v.1, n.1, p.6-9, mar./abr. 1996.

GONÇALVES, E.R.; PERES, M.A.; MARCENES, W. Cárie dentária e condições sócio-econômicas: um estudo transversal com jovens de 18 anos de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, v.18, n.3, p.699-706, maio/jun. 2002.

GONSALEZ, C.R.; CASSEB, J.; MONTEIRO, F.G.V.; PAULA-NETO, J.B.; FERNANDEZ, R.B.; SILVA, M.V.; CAMARGO, E.D.; MAIRINQUE, J.M.P.; TAVARES, L.C. Use of doxycycline for leptospirosis after high-risk exposure in São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.40, n.1, p.59-61, jan/fev. 1998.

GOODMAN, L.A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Ann. Math. Stat.**, San Francisco, v.35, n.2, p.716-725, 1964.

GREENE, C.E.; MILLER, M.A.; BROW, C.A. Leptospirose. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2. ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1998. p.273-281.

HORSCH, F. Leptospirose. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1999. v.2, p.305-324.

IBGE - FUNDAÇÃO DO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censos demográficos**. Rio de Janeiro, 2000. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 out. 2005.

JOHNSON, M.A.S.; SMITH, H.; JOSEPH, P.; GILMAN, R.H.; BAUTISTA, C.T.; CAMPOS, K.J.; CESPEDES, M.; KLATSKY, P.; VIDAL, C.; TERRY, H.; CALDERON, M.M.; CORAL, C.; CABRERA, L.; PARMAR, P.S.; VINETZ, J.M. Environmental exposure and leptospirosis, Peru. **Emerg. Infect. Dis.**, v.10, n.6, p.1016-1022, jun. 2004.

JOUGLARD, S.D.D.; BROD, C.S. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural do município de Pelotas, RS. **Arq. Inst. Biol.**, v.67, n.2, p.181-5, jul./dez. 2000.

KATZ, A.R.; ANSDELL, V.E.; EFFLER, P.V.; MIDDLETON, C.R.; SASAKI, D.M. Leptospirosis in Hawaii, 1974 – 1998: epidemiologic analysis of 353 laboratory – confirmed cases. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.66, n.1, p.61-70, 2002.

LANGONI, H. Leptospirosis: animal and public health aspects. **Rev. Educ. Cont. CRMV-SP**, v.2, n.1, p.52-58, 1999.

LANGONI, H.; CABRAL, K.G.; KRONFLY, C.S. Pesquisa de aglutininas anti-leptospíricas em gatos. **Clín. Vet.**, n.17, p.24-26, nov./dez., 1998.

LETOCART, M.; BARANTON, G.; PEROLAT, P. Rapid identification of pathogenic *Leptospira* species (*Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenii*, and *L. kirschneri*) with species-specific DNA probes produced by arbitrarily primed PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v.35, n.1, p.248-253, jan. 1997.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.14, n.2, p.296-326, apr. 2001.

LEVETT, P.N. Leptospirosis: a forgotten zoonosis?. **Clin. Appl. Immunol. Rev.**, v.4, p.435-448, aug. 2004.

LILENBAUM, W.; RODRIGUES, F.; BARBOZA, F. Aglutininas antileptospiras em caninos do município amazônico de Oriximiná - Pará, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Vet.**, v.7, n.3, p.133-135, set./dez. 2000.

LILENBAUM, W.; VARGES, R.; MORAES, I.A.; FERREIRA, A.M.R.; PISSINATTI, A. Leptospiral antibodies in captive lion tamarins (*Leontopithecus* sp) in Brazil. **Vet. J.**, v.169, p.462-464, 2005.

LOMAR, A.V.; VERONESI, R.; BRITO, T.; DIAMENT, D. Leptospiroses. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 2002. v.2, p.987-1003.

LOPES, A.L.S.; SILVA, W.B.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H.; MODOLO, J.R. Frequência sorológica antileptospírica em cães: sua correlação com roedores e fatores ambientais, em área territorial urbana. **Arq. Inst. Biol.**, v.7, n.3, p.289-296, jul./set. 2005.

MAILLOUX, M. Leptospiroses = zoonoses. **Int. J. Zoonoses**, n.2, p.45-54, 1975.

MARSHALL, R.J. A review of methods for the statistical analysis of spatial patterns of disease. **J. R. Stat. Soc. A**, v.154, p.421-441, 1991.

MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; FERREIRA, F.; MORAIS, Z.M.; PINTO, C.O.; SUCUPIRA, M.C.A.; DIAS, R.A.; MIRAGLIA, F.; CORTEZ, A.; COSTA, S.S.; TABATA, R.; MARCONDES, A.G. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. **Arq. Inst. Biol.**, v.69, n.2, p.25-32, abr./jun. 2002.

MERIEN, F.; PORTNOI, D.; BOURHY, P.; CHARAVAY, F.; BERLIOZ-ARTHAUD, A.; BARANTON, G. A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in human leptospirosis. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.249, p.139-147, 2005.

MESSNER, S.F.; ANSELIN, L.; BALLER, R.D.; HAWKINS, D.F.; DEANE, G.; TOLNAY, S.E. The spatial patterning of County homicide rates: an application os Exploratory Spatial Data Analysis. **J. Quant. Criminol.**, v.15, n.4, p. 423-450, 1999.

MICHEL, V.; BRANGER, C.; ANDRE-FONTAINE, G. Epidemiology of leptospirosis. **Rev. Cuba. Med. Trop.**, v.54, n.1, p.7-10, 2002.

MODOLO, J.R.; LANGONI, H.; SHIMABUKURO, F.H.; MENDONÇA, A.O.; VICTÓRIA, C.; PADOVANI, C.R. Inquérito soropidemiológico para leptospirose canina, no município de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., 2000, Águas de Lindóia. **Anais... Águas de Lindóia**, 2000. p.95.

MONTES, A.S.; DIMAS, J.S.; RODRÍGUEZ, F.J.P. La rata y perro, importantes vetores de la leptospirosis em explotaciones pecuarias de cd. Guzmán, Jalisco. **Rev. Cuba. Med. Trop.**, v.54, n.1, p.21-23, 2002.

MORALES, A.; GÍRIO, R.J.S.; MATHIAS, A. Casos de leptospirose em cães atendidos no Hospital Veterinário da FCAV – UNESP durante o período de 1986 a 1990. **Ci. Vet.**, v.4, n.2, p.5-6, 1990.

MORAN, P. Notes on continuous stochastic phenomenon. **Biometrika**, v.37, p.17-23, 1950.

MURHEKAR, M.V.; SUGUNAN, A.P.; VIJAYACHARI, P.; SHARMA, S.; SEHGAL, S.C. Risk factors in the transmission of leptospiral infection. **Indian J. Med. Res.**, v. 107, p. 218-223, 1998.

MYBURGH, J.G.; POSNETT, S.J.; LAWRENCE, J.V. Serological survey for canine leptospirosis in the Pretoria area. **J. S. Afr. Vet. Assoc.**, v.64, p.37-38, 1993.

NÁJERA, S.; ALVIS, N.; BABILONIA, D.; ALVAREZ, L.; MÁTTAR, S. Leptospirosis ocupacional en una región del Caribe colombiano. **Salud Pública Méx.**, v.47, n.3, p.240-244, may/jun. 2005.

O'KEEFE, J.S.; JENNER, J.A.; SANDIFER, N.C.; ANTONY, A.; WILLIAMSON, N.B. A serosurvey for antibodies to *Leptospira* in dogs in the lower North Island of New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v.50, n.1, p.23-25, 2002.

PEROLAT, P.; CHAPPEL, R.J.; ADLER, B.; BARANTON, G.; BULACH, D.M.; BILLINGHURST, M.L.; LETOCART, M.; MERIEN, F.; SERRANO, M.S. *Leptospira fainei* sp. Nov., isolated from pigs in Australia. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.48, p.851-858, 1998.

PINEDA, M.; LÓPEZ, J.; GARCIA, M. Frecuencia de leptospirosis en perros al test de aglutinación microscópica en Chillán - Chile. **Arch. Med. Vet.**, v.28, p.59-66, 1996.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. **Microbes Infect.**, v.2, p.1265-1276, 2000.

PRESCOTT, J.F.; McEWEN, B.; TAYLOR, J.; WOODS J.P.; ABRAMS-OGG, A.; WILCOCK, B. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: recent findings. **Can. Vet. J.**, v.43, p.955-961, dec. 2002.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737 p.

RATNAM, S.; EVERARD, C.O.R.; ALEX, C. A pilot study on the prevalence of leptospirosis in Tamilnades state. **Indian Vet. J.**, v.71, p.1059-1063, 1994.

RIO DE JANEIRO (Estado). Tribunal de Contas do Estado do Rio de Janeiro. Secretaria Geral de Planejamento. **Estudo socioeconômico 2004**: Areal. Rio de Janeiro, 2004. 99p.

RODRIGUEZ, A.L.; FERRO, B.E.; VARONA, M.X.; SANTAFÉ, M. Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali. **Biomédica**, v.24, p.291-295, 2004.

RUBEL, D.; SEIJO, A.; CERNIGOI, B.; VIALE, A.; WISNIVESKY-COLLI, C. *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Buenos Aires: variables asociadas con la seropositividad. **Rev. Pan. Salud Pública**, v.2, n.2, p.102-105, 1997.

RYU, E. An international survey of leptospiral agglutinin of dogs by RMAT. **Int. J. Zoonoses.**, v.3, p.33-60, 1976.

SANTA ROSA, C.A.; BATISTA JUNIOR, J.A.; TERUYA, J.M.; YANAGUITA, R.M. Inquérito sorológico para leptospirose e brucelose em cães da cidade de Belo Horizonte. **Arq. Esc. Vet. UFMG.**, v.26, n.3, p.339-342, 1974.

SANTA ROSA, C.A.; PESTANA de CASTRO, A.F.; SILVA, A.S.; TERUYA, J.M. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 29/30, p.19-27, 1969/70.

SARKAR, U.; NASCIMENTO, S.F.; BARBOSA, R.; MARTINS, R.; NUEVO, H.; KALAFANOS, I.; GRUNSTEIN, I.; FLANNERY, B.; DIAS, J.; RILEY, L.W.; REIS, M.G.; KO, A.I. Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.66, n.5, p.605-610, 2002.

SALLES, R.S.; LILENBAUM, W. Leptospirose bovina no Brasil. **Rev. CFMV – Supl. Téc.**, n.21, p.42-46, set./out./nov./dez., 2000.

SCANZIANI, E.; CALCATERRA, S.; TAGLIABUE, S.; LUINI, M.; GIUSTI, A.M.; TOMBA, M. Serological findings in cases of acute leptospirosis in the dog. **J. Small Anim. Pract.**, v.35, p.257-260, 1994.

SHIMABUKURO, F.H.; MORAES–SILVA, E.; MENDONÇA, A.O.; CERQUEIRA, E.J.L.; ARAÚJO, W.N.; SARKIS, D.T.; SHERLOCK, I.; LANGONI, H. Aspectos soroepidemiológicos da leptospirose em eqüídeos, dos municípios de Jacobina e Jequié, Bahia. **Ci. Vet. Trop.**, v.4, n.2/3, p.274-280, 2001.

SILVA, R.C.; ROLIM, R.G.; TANAKA, E.M.; LANGONI, H.; LOPES, A.L.S.; ROCHA, F.A.; CAVALHEIRO, J.S.; MEDEIROS, M.I.M.; BORGES, S.R.; BERETTA, T.C.; LIMA, V.Y.; AOKI, V.L.; DA SILVA, A.V.; SOUZA, L.C. Avaliação soroepidemiológica da toxoplasmose, leptospirose e leishmaniose canina no município de Ubatuba, SP. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 16., 2003, São Paulo. **Resumos...** São Paulo, 2003a. 1 CD – ROM.

SILVA, W.B.; LOPES, A.L.S.; MODOLO, J.R.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H. Freqüência de aglutinina antileptospira em cães, de acordo com a pavimentação da rua, na área territorial urbana de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 30., 2003, Manaus. **Anais...** Manaus, 2003b. p.01.

SILVA, W.B.; LOPES, A.L.S.; MODOLO, J.R.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H. Resultado sorológico antileptospírico em cães, frente a diferentes períodos de vacinação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2003c. p.220.

SILVA, W.B.; LOPES, A.L.S.; MODOLO, J.R.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H. Frequência de aglutinina antileptospira em cães de acordo com o manejo de criação, na área urbana de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 25., 2004, Gramado. **Anais...** Gramado, 2004. p.87.

SILVA, W.B.; SIMÕES, L.B.; LOPES, A.L.S.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H.; MODOLO, J.R. Avaliação de fatores de risco de cães sororreagentes à *leptospira* spp. e sua distribuição espacial, em área territorial urbana. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, 2006. (No prelo).

STREINER, D.L.; NORMAN, G.R. **Biostatistics: the bare essentials**. St. Louis: Mosby - Year Book, 1994. 260p.

TENÓRIO, T.G.S.; VASCONCELLOS, S.A.; LIMA, E.R.; MELO, L.E.H.; HIGA, Z.M.; BORBA, M.A.C.; MOURA, R.T.D. Estudo retrospectivo de aglutininas anti-leptospiras em soros caninos analisados no laboratório de zoonoses bacterianas no período de 1996 à 1999, VPS – FMVZ / USP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., 2000, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 2000. p.53.

THIRUNAVUKKARASU, P.S.; SRINIVASAN, S.R.; RATNAM, S., GNANAPRAKASAM, V. Ocular manifestations in canine leptospirosis. **Indian Vet. J.**, v.72, p.200-201, 1995.

TREVEJO, R.T.; RIGAU-PÉREZ, J.G.; ASHFORD, D.A.; McCLURE, E.M.; JARQUÍN-GONZÁLEZ, G.; AMADOR, J.J.; REYES, J.O.; GONZALEZ, A.; ZAKI, S.R.; SHIEH, W.J.; McLEAN, R.G.; NASCI, R.S.; WEYANT, R.S.; BOLIN, C.A.; BRAGG, S.L.; PERKINS, B.A.; SPIEGEL, R.A. Epidemic leptospirosis associated with pulmonar hemorrhage – Nicarágua, 1995. **J. Infect. Dis.**, v.178, p.1457-1463, 1998.

TRUEBA, G.; ZAPATA, S.; MADRID, K.; PEÑAFIEL, N. Adaptación de *leptospira interrogans (sensu stricto)* al agua dulce. **Rev. Cuba. Med. Trop.**, v.54, n.1, p.11-14, 2002.

VAN DEN BROEK, A.H.M.; THRUSFIELD, M.V.; DOBBIE, G.R.; ELLIS, W.A. A serological and bacteriological survey of leptospiral infection in dogs in Edinburgh and Glasgow. **J. Small Anim. Pract.**, v.32, p.118-124, 1991.

VARGA, A. **University research and regional innovation: a spatial econometric analysis of academic technology transfers.** Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 230p.

VASCONCELOS, L.M.; CISALPINO, E.O.; VIEIRA, M.N.R.; KOURY, M.C. Pesquisa de aglutininas antileptospira em diferentes grupos profissionais na cidade de Londrina, Paraná. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.25, n.4, p.251-255, out/dez, 1992.

VENKATARAMAN, K.S.; NEDUNCHELLIYAN, S. Epidemiology of an outbreak of leptospirosis in man and dog. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.**, v.15, n.4, p.243-247, 1992.

VERONESI, R.; NETO, V.A.; CORRÊA, M.O.A. Leptospirose em cães da cidade de São Paulo. Inquérito sorológico. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.16, p.78-84, 1956.

VIEGAS, S.A.R.A.; CALDAS, E.M.; OLIVEIRA, E.M.D. Aglutininas anti-leptospira em hemossoro de animais domésticos de diferentes espécies, no Estado da Bahia, 1997/1999. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.1, p.1-6, 2001a.

VIEGAS, S.A.R.A.; TAVARES, C.H.T.; OLIVEIRA, E.M.D.; DIAS, A.R., MENDONÇA, F.F.; SANTOS, M.F.P. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de Salvador - Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.2, p.21-30, 2001b.

WARD, M.P. Seasonality of canine leptospirosis in the United States and Canada and its association with rainfall. **Prev. Vet. Med.**, v.56, p.203-213, 2002a.

WARD, M.P. Clustering of reported cases of leptospirosis among dogs in the United States and Canada. **Prev. Vet. Med.**, v.56, p.215-226, 2002b.

WEEKES, C.C.; EVERARD, C.O.R.; LEVETT, P.N. Seroepidemiology of canine leptospirosis on the island of Barbados. **Vet. Microbiol.**, v.51, p.215-222, 1997.

YASUDA, P.H.; SANTA ROSA, C.A.; MYERS, D.M.; YANAGUITA, R.M. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.14, p.589-596, 1980.

**ANEXOS**

# ANEXOS

## ANEXO A

### 1. Preparo de meios de culturas

#### 1.1. Meio de Fletcher – Semi-sólido (para 500 mL)

- 1) Adicionar 1,25 g meio de Fletcher em 460 mL de água Mili-Q.
- 2) Autoclavar (121° C) por 15 minutos.
- 3) Deixar esfriar até 56° C.
- 4) Adicionar 40 mL de soro de coelho previamente filtrado e inativado (a 56° C por 30 minutos).
- 5) Acrescentar Ácido Nalidíxico (0,01 g).
- 6) Deixar aproximadamente cem tubos de rosca pequenos estéreis e o meio na capela sob ação da luz ultravioleta, por uma hora.
- 7) Passar 5 mL do meio para cada tubo de rosca.
- 8) Passar uma alíquota do meio para o Brain Heart Infusion (BHI) antes e depois de passar o meio, e deixar os tubos em estufa a 37° C por 24 a 48 horas (controle de esterilidade).

#### 1.2. Meio de Ellinghausen (EMJH) (Albumina bovina “Tween 80”)

Preparar as seguintes soluções-estoque em água Mili-Q:

- |  |       |
|--|-------|
| 1. Cloreto de Amônio (NH <sub>4</sub> CL).....   | 25%.  |
| 2. Sulfato de Zinco (ZnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O).....   | 0,4%. |
| 3. Cloreto de Magnésio (MgCl . 6H <sub>2</sub> O) e<br>Cloreto de Cálcio (CaCl . 2H <sub>2</sub> O)..... | 1,5%. |
| 4. Sulfato Ferroso (FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O).....  | 0,5%. |
| (Preparar a solução na hora de acrescentar ao suplemento de albumina)                                    |       |
| 5. Piruvato de Sódio.....  | 10%.  |
| 6. Glicerina.....  | 10%.  |
| 6. Tween 80.....   | 10%.  |
| 7. Tiamina (Vitamina B1).....  | 0,5%. |

8. Cianocobalamina (Vitamina B12).....0,02%.  
As soluções-estoque devem ser armazenadas no refrigerador.

### 1.2.1. Meio base

Em Erlenmeyer aferido de 1 000 mL, colocar:

1. Fosfato dissódico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ).....1,0 g.
2. Fosfato monopotássico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).....0,3 g.
3. Cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ).....1,0 g.

Dissolver as substâncias acima em cerca de 900mL de água Mili-Q e acrescentar os seguintes volumes das soluções:

1. Cloreto de amônio a 25%.....1,0 mL.
2. Tiamina a 0.5%.....1,0 mL.
3. Piruvato de sódio a 10%.....1,0 mL.
4. Glicerina a 10%.....1,0 mL.

Ajustar pH em 7,4 com hidróxido de sódio N/10 e completar o volume a 1 000 mL com água Mili-Q. Desprezar 100 mL.

Esterilizar os 900 mL restantes em autoclave a 121° C, por 15 minutos.

### 1.2.2. Suplemento de albumina

Dissolver 10 g de albumina bovina (fração V)<sup>1</sup> em 50 mL de água Mili-Q e acrescentar as soluções-estoque nos seguintes volumes:

1. Cloreto de cálcio/cloreto de magnésio a 1,5%.....1,0 mL.
2. Sulfato de Zinco a 0,4%.....1,0 mL.
2. Sulfato ferroso a 0,5%.....10 mL.
3. Cianocobalamina a 0,02%.....1,0 mL.
4. "Tween 80" a 10%.....12,5 mL.

Ajustar o pH em 7,4 e completar o volume a 100 mL com água Mili-Q. Esterilizar por filtração.

### 1.2.3. Meio líquido completo

Meio base estéril.....900 mL.  
Suplemento de albumina estéril.....100 mL.

<sup>1</sup> Albumina Bovina. COHN INLAB.

Distribuir em tubos de rosca, em volume de 5 a 10 mL. Realizar prova de esterilidade e viabilidade, utilizando o caldo BHI, antes e após a passagem do meio para os tubos e armazenar em refrigerador.

## ANEXO B

### 1. Análise espacial - procedimentos

Quando se estuda população, doença ou outros eventos, três tipos de distribuição espacial podem ocorrer: uniforme, em conglomerados ou aleatória. Um conglomerado (*cluster*) pode ser entendido como uma inesperada aglomeração, no espaço e/ou tempo, de eventos relacionados à saúde (CDC, 1990). O coeficiente *I de Moran* (1950) pode medir a probabilidade de um padrão espacial aparente ter sido produzido meramente por acaso.

O coeficiente *I* é similar ao coeficiente da correlação de Pearson. Na autocorrelação espacial, a correlação é examinada entre diferentes valores dentro da mesma variável e uma matriz de ponderação é incluída para definir as relações espaciais entre áreas. O coeficiente *I* é calculado como a razão entre a soma de produtos dos desvios médios e as somas dos quadrados das coordenadas *x* (longitude) e *y* (latitude):

$$I = \frac{N \sum_i \sum_j w_{ij} (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})}{J \sum_i \sum_j w_{ij} \sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

Onde, *N* é o número de polígonos no estudo, *J* o número de pares de polígonos examinados,  $x_i$  o valor (e.g., prevalência) do polígono *i*,  $x_j$  é o valor do polígono *j* ( $x_i$  e  $x_j$  são dois polígonos de vizinhos próximos) e  $w_{ij}$  é a matriz de ponderação. O coeficiente *I* de Moran varia de  $-1$  a  $+1$ , sendo  $0$  quando verifica-se a inexistência de autocorrelação (não há efeito da distância sobre a distribuição da variável). Um valor positivo de *I* implica em agrupamento e um negativo, em dispersão. O valor esperado de *I* é  $-1/(N-1)$ , que se aproxima de  $0$  à medida que *N* aumenta.

Embora seja capaz de apontar a tendência geral de agrupamento dos dados, o *I de Moran* é uma medida global e por isso não revela padrões locais de associação espacial. Existem duas metodologias para verificar essa estrutura: o diagrama de dispersão de Moran e os indicadores locais de associação espacial, LISA (*Local Indicators of Spatial Association*) (ANSELIN, 2003).

A estatística LISA é apropriada para identificar agrupamentos espaciais significativos e instabilidade local da medida de associação global (*I de Moran*), revelada por valores espaciais extremos. A hipótese nula continua sendo a de

ausência de associação espacial. Essa análise permite associar as estatísticas locais de Moran ao diagrama de dispersão de Moran, produzindo o chamado Mapa de Significância de Moran.

A estrutura de vizinhança pode ser estabelecida por meio de matrizes de pesos espaciais. Neste estudo, foram estabelecidas matrizes de pesos de contigüidade binária, segundo convenção *Rook*.

Os coeficientes de autocorrelação espacial global e associação local foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ . Como o evento (percentual de cães sororeagentes) era referente à taxa (proporção), foram aplicados os testes de Moran com Estimativa Bayesiana Empírica para taxas. O problema de instabilidade das taxas brutas na estimação de risco em pequenas áreas tem sido amplamente reconhecido na literatura (MARSHALL, 1991; ASSUNÇÃO & REIS, 1999; ANSELIN, 2003). Quando o número de pessoas expostas é pequeno, qualquer leve alteração no número de eventos, mesmo que devido ao mero acaso, provoca grandes variações no valor da taxa. Marshall (1991) propôs a aplicação de Estimadores Bayesianos Empíricos como alternativa ao uso de taxas brutas nessas condições. Essa estimativa computa a média ponderada entre a taxa bruta para cada polígono e a média de uma janela espacial, com pesos proporcionais à população em risco, resultando num mapa suavizado.

O diagrama de dispersão de Moran apresenta a tendência geral de associação por meio da reta que mostra como os dados ajustam-se entre os valores defasados espacialmente ( $W_i$ ) e os valores observados em cada unidade espacial ( $i$ ), além das tendências locais representadas por cada ponto no interior do diagrama. Como os valores de  $i$  e  $W_i$  são padronizados, é possível identificar valores discrepantes (*outliers*) e pontos de alavancagem (*leverage points*). Varga (1998), afirma que localizações que são extremas à tendência central são *outliers* e aquelas que têm grande influência sobre a tendência central são pontos de alavancagem. Em geral, pontos de alavancagem e *outliers* se encontram a mais de dois desvios-padrão do centro do diagrama.

O diagrama de Moran precisa ser complementado com os indicadores LISA porque não fornece indicações da significância do agrupamento espacial. Segundo Anselin (1995), indicadores LISA devem propiciar uma medida do

grau em que o agrupamento espacial de valores locais similares é significativo e devem ter soma proporcional ao indicador global. O indicador Moran Local avalia a significância dos agrupamentos espaciais locais, conhecidos como *hot spots*, ao redor de uma localização individual e indica focos de localizações atípicas. Quatro padrões podem ser visualizados no mapa de associação local:

1. Padrão Alto-Alto (AA): revela polígonos com alto valor da variável sob análise, cercados de vizinhos que também possuem valores semelhantes.
2. Padrão Baixo-Baixo (BB): revela polígonos com baixo valor circundados por outros de valores também baixos.
3. Padrão Alto-Baixo (AB): aponta polígonos de alto valor que possuem vizinhos com baixo valor.
4. Padrão Baixo-Alto (BA): aponta polígonos de baixo valor que são vizinhos de outros com alto valor.

Os padrões AA e BB revelam associação espacial positiva, enquanto que AB e BA, associação espacial negativa. Os valores de probabilidade fornecidos (*p-values*) devem ser vistos como níveis de pseudo-significância, tendo em vista que as inferências são feitas a partir da abordagem das permutações.