

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

**Leptospirose humana e animal: estudos transversais na região sul do Rio
Grande do Sul**

Gilmar Batista Machado

Pelotas, 2018

Gilmar Batista Machado

Leptospirose humana e animal: estudos transversais na região sul do Rio Grande do Sul

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Éverton Fagonde da Silva
Coorientadores: Amilton Clair Pinto Seixas Neto
Samuel Rodrigues Félix

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M149I Machado, Gilmar Batista

Leptospirose humana e animal: estudos transversais na região sul do Rio Grande do Sul/Gilmar Batista Machado; Everton Fagonde da Silva, orientador; Amilton Clair Pinto Seixas Neto, Samuel Rodrigues Felix, coorientadores. — Pelotas, 2018.

71 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Leptospira. 2. Doença ocupacional. 3. Saúde pública. 4. Zoonose. 5. Soroprevalência. I. Silva, Everton Fagonde da, orient. II. Seixas Neto, Amilton Clair Pinto, coorient. III. Felix, Samuel Rodrigues, coorient. IV. Título.

CDD : 636.089

Gilmar Batista Machado

Leptospirose humana e animal: estudos transversais na região sul do Rio Grande do Sul

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 26/02/2018

Banca examinadora:

Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Gilberto D'Avila Vargas
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dra. Fernanda de Rezende Pinto
Doutora em Veterinária Preventiva pela Universidade Estadual Paulista

Prof. Dr. Leandro Quintana Nizoli
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Aos meus pais, pelo carinho e amor, dedico.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço aos meus pais, Célio e Eliane por todos os esforços, apoio, preocupação, carinho, amor e atenção. Obrigado por sempre terem lutado por um futuro mais promissor e me motivarem a nunca desistirem dos meus sonhos.

Aos meus irmãos: Elicélio, Elisângela e Marciele, sempre me apoiando em minhas decisões.

Meus sobrinhos: Amanda, Gustavo e Alana pela alegria contagiante.

A minha esposa Carla pelo amor, paciência, confiança, compreensão, companheirismo e incentivo em todos os caminhos que escolhi seguir.

Ao meu orientador Éverton Fagonde da Silva, por toda a ajuda, dedicação, amizade e confiança em todas as etapas deste trabalho.

Tenho muito a agradecer aos meus colegas de trabalho Grupo de Estudos em Doenças Transmitidas por Animais, Tanise Fortes, Paula Pacheco, Caroline Dewes, Laís Freitas, Laura Colling, Samuel Félix e em especial ao Amilton Seixas pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho.

À Universidade Federal de Pelotas em especial ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária, pela oportunidade de cursar o doutorado.

A CAPES pela bolsa de estudo concedida, importantíssima para a realização do doutorado.

A todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho, o meu muito obrigado.

Resumo

MACHADO, Gilmar Batista. **Leptospirose humana e animal: estudos transversais na região sul do Rio Grande Sul**. 2018. 71f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

A leptospirose é uma zoonose bacteriana que possui distribuição mundial, ocorrendo de forma endêmica em países tropicais e subtropicais. A transmissão ocorre através de contato direto com animais portadores, contato com água ou solo contaminado, e também através da exposição à urina ou tecidos abortados de animais infectados. A bactéria *Leptospira* também pode afetar uma grande variedade de espécies animais domésticos, que servem como reservatórios para a infecção humana. Dessa maneira, neste trabalho avaliamos as informações disponíveis na literatura sobre a leptospirose na zona rural do Rio Grande do Sul nos últimos 25 anos, ressaltando a associação dos animais domésticos com a doença em humanos. Em uma comunidade rural do município de Pelotas, no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil, avaliamos a prevalência de leptospirose. Além de avaliar possíveis pistas epidemiológicas, associadas a soroprevalência. Dos 216 moradores que participaram do estudo 46 (21,29%) apresentaram prevalência para leptospirose com títulos variando de 25 a 800. Das variáveis testadas 13 apresentaram relevância estatística. Como limpeza de caixa d'água, pesca, limpeza de caixa de gordura, residência sujeita a inundações, entre outros foram associados a soroprevalência. Também constatamos a soroprevalência da leptospirose em ovinos abatidos na região sul Rio Grande do Sul, no período de maio a outubro de 2017. Dos 81 animais testados, 23 (28,39%) com títulos variando entre 100 e 1600, resultado próximo a média nacional. Dentre os sorovares patogênicos os mais prevalentes foram: Autumnalis (26,66%), Hardjo (20%). De acordo com a revisão bibliográfica, as populações rurais estão mais expostas a leptospirose que a urbana. As principais medidas necessárias para a prevenção da doença: manejo correto de resíduos e alimentos, bem como uso de EPIs ao se manusear água, solo e animais, além do controle sanitário dos rebanhos com vacinação dos suscetíveis. A prevalência de leptospirose em ovinos para o sorovar Autumnalis, relacionado principalmente a roedores, mostra a importância no controle destes.

Palavras-chave: *Leptospira*; doença ocupacional; saúde pública; zoonose; soroprevalência

Abstract

MACHADO, Gilmar Batista. **Human and animal leptospirosis: cross-sectional studies in the southern region of Rio Grande Sul**. 2018. 71f. Thesis (Doctor degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

Leptospirosis is a bacterial zoonosis that has a worldwide distribution, occurring endemic in tropical and subtropical countries. Transmission occurs through direct contact with carrier animals, contact with contaminated soil or water, and also through exposure to urine or aborted tissues from infected animals. The bacteria *Leptospira* can also affect a wide variety of domestic animal species, which serve as reservoirs for human infection. Thus, in this work we evaluate the information available in the literature on leptospirosis in the rural area of Rio Grande do Sul in the last 25 years, highlighting the association of domestic animals with the disease in humans. We also evaluated the prevalence of anti-*Leptospira* antibodies in a rural community in the municipality of Pelotas, State of Rio Grande do Sul, Brazil. In addition to evaluating possible epidemiological clues associated with seroprevalence. Of the 216 residents who participated in the study 46 (21.29%) presented a prevalence for leptospirosis with titres varying from 25 to 800. Of the variables tested 13 were statistically significant. Such as water box cleaning, fishing, fat box cleaning, residence subject to flooding, among others were associated with seroprevalence. Emphasizing the importance of using personal protective equipment when handling the soil, water and animals. We also verified the seroprevalence of leptospirosis in sheep slaughtered in southern Rio Grande do Sul from May to October 2017. Of the 81 animals tested, 23 (28.39%) had titers ranging from 100 to 1600, close to average national. Among the most prevalent pathogenic serovars were Autumnalis (26.66%) and Hardjo (20%). The most urgent measures needed to avoid the disease seem to be the proper disposal of trash and waste; use of personal protection when handling water, soil, and animals; and proper sanitary control of livestock, especially through vaccination. The prevalence of leptospirosis in sheep for the serovar Autumnalis, related mainly to rodents, shows an uncontrolled importance of these.

Keywords: *Leptospira*; occupational disease; public health; zoonosis; seroprevalence

Lista de Tabelas

Artigo 2 Seroprevalence of human leptospirosis in a rural district of Pelotas, a city in southernmost Brazil

Tabela 1	Antigen list used for the MAT, and results, with titers.....	44
Tabela 2	Epidemiological cues assessed and risk factor description for seropositivity to anti- <i>Leptospira</i> antibodies in a rural district of the city of Pelotas (RS).....	45

Artigo 3 Leptospirosis in sheep in southern Rio Grande do Sul, Brazil

Tabela 1	Seroepositivity, according to serovar of highest titre, of sheep slaughtered at an abattoir in southern Rio Grande do Sul state. Only positive results considered	50
----------	---	----

Lista de Abreviaturas e Siglas

MAT	Teste de Aglutinação Microscópica
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
OMS	Organização Mundial da Saúde
EPI	Equipamento de Proteção Individual
n	Número
COCEPE	Conselho Coordenador de Ensino, Pesquisa e Extensão
CEEA	Comissão de Ética em Experimentação Animal
EMJH	Ellinghausen McCullough Johnson and Harris
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina UFPel
LPS	Lipopolissacarídeo

Lista de Símbolos

%	Percentual
>	Maior
<	Menor
μl	Microlitro
°	Grau
mL	Mililitro
'	Minuto
”	Segundo
Σ	Somatório
°C	Grau Celsius
μm	Micrômetro
S	South
W	West

Sumário

1 Introdução.....	11
2 Hipótese.....	15
3 Objetivos.....	16
3.1 Objetivo Geral.....	16
3.2 Objetivos Específicos.....	16
4 Artigos.....	17
4.1 Artigo 1.....	17
4.2 Artigo 2.....	32
4.3 Artigo 3.....	46
5 Considerações Finais.....	54
Referências.....	55
Anexos.....	65

1 Introdução

A leptospirose é uma doença bacteriana zoonótica de distribuição mundial, endêmica em países tropicais e subtropicais (DREYFUS et al., 2016). A leptospirose possui um amplo espectro de manifestações clínicas, que vão desde a infecção subclínica, podendo apresentar doença febril anictérica com ou sem meningite, e uveíte, até a forma grave com icterícia, insuficiência renal, hemorragia e óbitos (doença de Weil) (KO et al., 2009) e síndrome hemorrágica pulmonar (GULATI; GULATI, 2012).

A doença é causada por bactérias do gênero *Leptospira* que compreendem 22 espécies e mais 300 sorotipos descritos (DREYFUS et al., 2016). As leptospiras são espiroquetas que podem ser encontradas habitando água doce, onde se comportam como micro-organismos saprófitas de vida livre, ou causando infecção em humanos e animais (LEVETT, 2015).

As leptospiras são micro-organismos helicoidais que medem 6 a 25µm de comprimento por 0,2µm diâmetro (BHARTI et al., 2003). Observadas através de microscopia de campo escuro e em meio líquido, as leptospiras são organismos pequenos, móveis e com forma helicoidal, geralmente com uma ou ambas as extremidades curvadas (FAINE, 1999). Aeróbios estritos e que apresentam uma ou ambas as extremidades curvadas ou em forma de gancho, dotados de grande motilidade conferida por um axóstilo (SIMÕES et al., 2016). Apresentam crescimento ótimo em uma faixa de temperatura entre 28 a 30°C, possuem multiplicação lenta e são exigentes no que se refere a meios de cultivo, sendo rotineiramente suplementados com soro de coelho ou suplementos comerciais (CAMERON, 2015).

A estrutura geral das leptospiras é similar à das bactérias Gram-negativas, com uma membrana externa onde o lipopolissacarídeo (LPS) está anexado, uma membrana interna e uma camada de peptidoglicano contendo o espaço periplasmático (CAMERON, 2015). A membrana externa que envolve toda a célula, os filamentos axiais denominados de flagelos periplasmáticos e os cilindros protoplasmáticos, que incluem a membrana celular e a capa de peptidoglicano da parede celular (SIMÕES et al., 2016). A motilidade das leptospiras em meio líquido

deve-se à atividade de dois flagelos periplasmáticos, localizados no espaço entre a membrana interna e a membrana externa (KO et al., 2009).

Cada flagelo está ancorado em uma das extremidades da célula bacteriana, conferindo à *Leptospira* suas pontas em formato de gancho (LAMBERT et al., 2012). A motilidade também é um dos principais fatores relacionados à patogenicidade da *Leptospira* (FERNANDES et al., 2016), uma vez que o flagelo incorporado permite que a bactéria execute o movimento de saca rolha característico, facilitando sua disseminação no hospedeiro e sobrevivência no ambiente (BUYUTIMKIN; SAIER, 2015).

A transmissão ocorre através de contato direto com animais portadores, contato com água ou solo contaminado, e também através da exposição à urina ou tecidos abortados de animais infectados (HARTSKEERL et al., 2011). A doença é considerada um problema de saúde pública e estima-se que mais de um milhão de casos humanos ocorram anualmente, resultando em aproximadamente 60 mil mortes (COSTA et al., 2015). A leptospirose é um importante problema de saúde pública para o Estado do Rio Grande do Sul, com uma média de 428 casos notificados anualmente. A incidência real é provavelmente muito maior, especialmente em populações vulneráveis, porque leptospirose é comumente diagnosticada e não declarada (SCHENEIDER et al., 2015).

A bactéria *Leptospira* também pode afetar uma grande variedade de espécies animais domésticos, que servem como reservatórios para a infecção humana (WHO, 2003). Os sorovares se alojam nos túbulos renais dos animais, que passam a excretá-las no ambiente durante meses ou anos, já os seres humanos são considerados hospedeiros acidentais que provavelmente não transmitem a bactéria (HARTSKEERL et al., 2011 ; ADLER & DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010).

A incidência humana da leptospirose é geralmente subestimada a falta de sistemas de vigilância no local, os sintomas clínicos inespecíficos e da complexidade de diagnóstico (BHARTI et al., 2003 ; LEVETT, 2001). Exposição à água e ao solo contaminado pela urina de animais infectados é a via de transmissão mais comum entre pessoas e animais domésticos (WHO, 2003).

Considerada também uma doença profissional, a leptospirose afeta trabalhadores de frigoríficos, mineiros de ouro, trabalhadores de esgotos e agricultores (BENSCHOP et al., 2009). Agricultores constituem os principais grupos de risco ocupacional, que são susceptíveis pela exposição ao solo úmido e água

durante as suas atividades diárias, por exemplo durante o cultivo do arroz, criação de animais (CHADSUTHI et al., 2017).

No ambiente, as leptospirosas podem sobreviver a partir de semanas a meses em solo úmido em dias secos ou em águas superficiais em dias chuvosos (SAITO et al., 2013). Condições ambientais como chuvas fortes ou inundações tem sido associadas ao aumento dos casos de leptospirose, também as condições do solo como pH de neutro a alcalino favorecem a manutenção das bactérias (SCHENEIDER et al., 2015). A diversidade de portadores animais representa um desafio significativo para prevenção e controle (PETRAKOVSKY et al., 2014).

A criação de gado e a agricultura representam um papel importante como fator de risco ocupacional para leptospirose humana, e também mostra o papel de animais selvagens como reservatórios de *Leptospira* (SUBHARAT et al., 2010). De acordo com Assenga et al. (2015) em seu estudo realizado na Tanzânia, existe uma via de transmissão bovino-humano comum em sistemas agropastoris.

Embora os estudos de soroprevalência transversais indicam principalmente passado exposição as leptospirosas, pessoas com altos títulos pode ter a doença aguda recente ou exposição recente recorrente (DREYFUS et al., 2016). Embora os seres humanos sejam considerados hospedeiros acidentais na cadeia epidemiológica da leptospirose, e que não existam relatos de qualquer associação com um particular sorovar, são descritas diferenças entre as fontes de infecção no meio urbano e no meio rural, além da atividade ocupacional e recreacional, e fatores climáticos, os quais os humanos estão expostos (LAU et al., 2016).

De acordo com Barcellos et al. (2003), em um estudo de casos notificados, Pelotas, apresentou uma incidência de 16,3 casos por 100 mil, uma frequência superior a média nacional que é de 3,5 casos por 100 mil habitantes. Já de acordo com Scheneider et al. (2015) também sobre casos notificados no Rio Grande do Sul, aponta a incidência de 1,2 a 2,4 casos para cada 10 mil habitantes no município de Pelotas.

Estudo sorológico de leptospirose no município de Pelotas foi realizado por (JOUGLARD; BROD, 2000), 213 propriedades da zona rural, analisaram 489 amostras sorológicas de caninos, encontrando 13 (2,66%) animais reagentes no MAT com os títulos de sorovares variando de 50 a 800, com reações para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Australis, Copenhageni e Canicola. De acordo com Scheneider et al. (2015) as populações rurais do Rio Grande do Sul têm cerca de

oito vezes maior risco de contrair leptospirose do que a populações urbanas, e os casos rurais estão principalmente em duas zonas, caracterizadas pela maior produção de tabaco (região central) e maior produção de arroz (região sul).

A importância zoonótica das leptospirosas patogênicas como agentes etiológicos já foram descritas em várias espécies de animais domésticos e selvagens que adquirem naturalmente a infecção (AMORIM et al., 2016). A espécie ovina é considerada a menos suscetível quando comparada a outras como a suína (FIGUEIREDO et al., 2013). Muitas vezes a evolução da doença é assintomática, podendo desencadear surtos com abortamento e morte de cordeiros (CICERONI et al., 2000; CARVALHO et al., 2011).

Nos ovinos, a leptospirose pode se manifestar de forma aguda, subaguda e crônica, caracterizando-se por quadros clínicos de septicemia, hemorragia, nefrite, icterícia, hemoglobinúria, mastite sanguinolenta, retorno ao cio, abortamento nas ovelhas e anemia hemolítica nos cordeiros, com morte na primeira semana de vida (CICERONI et al., 2000; BARBUDO-FILHO et al., 1999; AZEVEDO et al., 2004).

Neste trabalho, avaliamos as informações disponíveis na literatura sobre a leptospirose na zona rural do Rio Grande do Sul nos últimos 25 anos, ressaltando a associação dos animais domésticos com a doença em humanos. Inicialmente, apresentamos uma revisão de literatura intitulada “Leptospirose humana: uma revisão sobre a doença e os fatores de risco associados à zona rural” aceito para publicação na revista *Science and Animal Health*.

O segundo artigo teve como objetivo avaliar a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em uma comunidade rural da cidade de Pelotas, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Além de avaliar possíveis pistas epidemiológicas, associadas à soroprevalência. O artigo intitulado “Seroprevalence of human leptospirosis in a rural district of Pelotas, a city in southernmost Brazil” submetido a revista *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*.

Finalmente, o terceiro artigo intitulado “Leptospirosis in sheep in southern Rio Grande do Sul, Brazil”. Este artigo tem como objetivo constatar a soroprevalência da leptospirose em ovinos abatidos na região sul do Rio Grande do Sul, no período de maio a outubro de 2017. O artigo formatado de acordo com as normas da revista *Ciência Animal Brasileira*, a qual será submetido.

2 Hipótese

A prevalência de aglutininas anti-*leptospira* na população de Cerrito Alegre um distrito rural de Pelotas (RS) é maior do que a média nacional.

A prevalência de aglutininas anti-*leptospira* em ovinos encaminhados ao abate é elevada em áreas endêmicas para a leptospirose humana.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo transversal da leptospirose humana e animal, na região sul do Rio Grande do Sul.

3.2 Objetivos Específicos

Revisar a bibliografia disponível sobre a leptospirose humana e animal na zona rural do Rio Grande do Sul e sobre os principais aspectos envolvidos na leptospirose ovina;

Determinar o título de aglutininas anti-*Leptospira* através do MAT em amostras de soros humanos;

Determinar o título de aglutininas anti-*Leptospira* através do MAT em amostras de soros ovinos;

Aplicar um questionário epidemiológico na população pesquisada, visando a realização de uma análise de exposição-desfecho.

4 Artigos

4.1 Artigo 1

LEPTOSPIROSE HUMANA: UMA REVISÃO SOBRE A DOENÇA E OS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ZONA RURAL

Gilmar Batista Machado; Amilton Clair Seixas Neto; Caroline Dewes; Tanise Pacheco Fortes; Paula Soares Pacheco; Laís Santos Freitas; Samuel Rodrigues Felix; Éverton Fagonde da Silva

Artigo aceito para publicação na revista Science and Animal Health

SCIENCE AND ANIMAL HEALTH

Faculdade de Veterinária e Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas

A revista científica *Science and Animal Health* certifica que o artigo abaixo foi aceito para publicação:

Título: "LEPTOSPIROSE HUMANA: UMA REVISÃO SOBRE A DOENÇA E OS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ZONA RURAL"

Autores: Gilmar Batista Machado, Amilton Clair Seixas Neto, Caroline Dewes, Tanise Pacheco Fortes, Paula Soares Pacheco, Laís Santos Freitas, Samuel Rodrigues Felix, Éverton Fagonde da Silva.

Submissão: 19/06/2017.

Artigo aceito para publicação: 09/11/2017.

Pelotas, 10 de novembro de 2017.



Paulo Ricardo Centeno Rodrigues
Editor Gerente

LEPTOSPIROSE HUMANA: UMA REVISÃO SOBRE A DOENÇA E OS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À ZONA RURAL

MACHADO, Gilmar Batista¹;

SEIXAS NETO, Amilton Clair²;

DEWES, Caroline³;

FORTES, Tanise Pacheco⁴;

PACHECO, Paula Soares⁵;

FREITAS, Laís Santos⁶;

FELIX, Samuel Rodrigues²;

SILVA, Éverton Fagonde da⁷.

¹Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPel; ²PNPD do Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPel; ³Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPel; ⁴Doutora em Veterinária; ⁵Graduanda em Medicina em Veterinária, UFPel; ⁶Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Veterinária; ⁷Professor Doutor, Faculdade de Veterinária, UFPel.

RESUMO

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial cuja transmissão aos suscetíveis ocorre pelo contato direto ou indireto com os doentes. A moléstia é causada por bactérias do gênero *Leptospira*, a acomete tanto humanos quanto animais. No meio rural, o risco dos humanos em adquirir a doença é maior do que para os moradores do meio urbano, principalmente pelo contato com animais domésticos, sinantrópicos e silvestres. Neste contexto, este estudo objetivou revisar os principais estudos epidemiológicos sobre a leptospirose no meio rural do Estado do RS nos últimos vinte e cinco anos, inferindo sobre a influência das atividades agropecuárias nos casos da doença em humanos. Evidencia-se que as populações rurais no RS, principalmente as localizadas na região sul e central estão mais expostas e possuem maiores chances de contrair a leptospirose, quando comparadas com a zona urbana. No RS, as atividades que envolvem longos períodos de trabalho em contato com a água e a indisponibilidade, na maioria das vezes, de equipamentos de proteção individual (EPI), aumentam o risco para a contaminação com leptospirose. Entre os animais domésticos, destacam-se os caninos e bovinos como importantes transmissores da leptospirose para os humanos no meio rural. Além disso, falhas no saneamento e coleta de lixo favorecem a presença de roedores nas propriedades, elevando o risco para a ocorrência da doença. Assim, medidas como a reeducação, a informação sobre os principais fatores de

riscos da doença e o uso de EPI podem ser utilizadas para prevenir casos graves da leptospirose no meio rural do RS.

Palavras-chave: *Leptospira*. Saúde Pública. Doença Ocupacional. Zoonose.

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença bacteriana, zoonótica de distribuição mundial, endêmica em países tropicais e subtropicais (DREYFUS et al., 2016). A transmissão ocorre através da exposição, direta ou indireta à urina ou tecidos abortados de animais infectados, pelo contato direto com animais portadores, contato com água ou solo contaminados (HARTSKEERL et al., 2011). A doença é causada por bactérias do gênero *Leptospira* que compreendem 22 espécies e mais de 300 sorotipos descritos (DREYFUS et al., 2016).

Nas cidades brasileiras, sua ocorrência está relacionada a condições inadequadas de habitação, permitindo o contato dos humanos com águas ou solos contaminados principalmente em períodos de chuvas e enchentes, favorecendo a infecção (FONTES et al., 2010). A leptospirose foi descrita pela primeira vez em 1880, no Cairo por Larrey, no entanto foi em 1886 que Weil descreveu minuciosamente, quatro casos clínicos em humanos (SIMÕES et al., 2016). No Brasil, os primeiros relatos sobre leptospirose foram publicados no Rio de Janeiro, em 1917, por Aragão, sobre “A presença do *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* nos ratos do Rio de Janeiro”, (OLIVEIRA, 2008).

A leptospirose possui um amplo espectro de manifestações clínicas, que vão desde a infecção subclínica, podendo apresentar doença febril anictérica, com ou sem meningite, e uveíte; até as formas graves com elevada letalidade, com icterícia, insuficiência renal e hemorragia (doença de Weil) (KO et al., 2009) e síndrome hemorrágica pulmonar (GULATI; GULATI, 2012). De acordo com (COSTA et al., 2015) a estimativa é que ocorra mais de 1 milhão de casos, que ocasionam mais de 58 mil mortes anualmente em todo o mundo. No Estado do Rio Grande do Sul, mais de 400 casos são notificados anualmente, e estima-se que a real incidência da enfermidade seja mais elevada, especialmente em populações vulneráveis, onde a leptospirose é comumente diagnosticada e não declarada (SCHENEIDER et al., 2015).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo revisar a bibliografia disponível sobre leptospirose na zona rural do Rio Grande do Sul nos últimos 25 anos, ressaltando a associação dos animais domésticos com a doença em humanos.

A BACTÉRIA

A leptospirose é causada por bactérias do gênero *Leptospira*, que acomete humanos e animais, os quais participam da cadeia epidemiológica como doentes, portadores assintomáticos e reservatórios (FIGUEIREDO et al., 2001). A organização estrutural e a composição química das leptospiras são semelhantes às de bactérias Gram-negativas, como a membrana externa que envolve toda a célula, os filamentos axiais denominados de flagelos periplasmáticos e os cilindros protoplasmáticos, que incluem a membrana celular e a capa de peptidoglicano da parede celular (SIMÕES et al., 2016).

As leptospiras são micro-organismos helicoidais que medem 6 a 25 µm de comprimento por 0,2 µm diâmetro (BHARTI et al., 2003), aeróbios estritos e que apresentam uma ou ambas as extremidades curvadas ou em forma de gancho, dotados de grande motilidade conferida por um axóstilo (SIMÕES et al., 2016). Apresentam crescimento ótimo em uma faixa de temperatura entre 28 a 30 °C, possuem multiplicação lenta e são exigentes no que se refere a meios de cultivo, sendo rotineiramente suplementados com soro de coelho ou suplementos comerciais (CAMERON, 2015).

IMUNIDADE

A *Leptospira* penetra no hospedeiro através da mucosa, pele lesada ou íntegra. Após vencer as barreiras de porta de entrada, multiplica-se no espaço intersticial e nos humores orgânicos (sangue, linfa e líquido), caracterizando um quadro agudo septicêmico denominado de leptospiremia (SIMÕES et al., 2016).

A ausência de fagócitos no filtrado glomerular permite a multiplicação destes microrganismos nos túbulos contorcidos renais formando microcolônias. Desta localização, as leptospiras passam a ser eliminadas através da urina (leptospirúria) por períodos variáveis, de dias a anos. Tal fato explica a existência de portadores renais, fator primordial na epidemiologia da leptospirose, onde a transmissão ocorre pela exposição à urina de animais infectados e ambientes contaminados pela mesma (PLANK; DEAN, 2000; ACHA; SZYFRES, 2003).

Embora os seres humanos sejam considerados hospedeiros acidentais na cadeia

epidemiológica da leptospirose, e que não existam relatos de qualquer associação com um sorovar em particular, são descritas diferenças entre as fontes de infecção no meio urbano e no meio rural, além da atividade ocupacional e recreacional, e fatores climáticos, aos quais os humanos estão expostos (MORGAN et al. 2002; LAU et al. 2016).

A cadeia epidemiológica da leptospirose envolve três elos: a fonte de infecção, as vias de transmissão e o hospedeiro susceptível, sendo que as medidas de prevenção e controle da enfermidade deverão ser dirigidas a todos os elos dessa cadeia (BROD; FEHLBERG, 1992). De acordo com Blanco et al. (2016), o conhecimento dos sorovares prevalentes e seus hospedeiros de manutenção é essencial para o entendimento da cadeia epidemiológica da doença em qualquer área do mundo.

Segundo Jin et al. (2009), as bactérias são capazes de sobreviver no interior dos macrófagos e escapar da indução da apoptose, capacidade relacionada à virulência. A menos que ocorra a presença de anticorpos específicos, as leptospirosas patogênicas são capazes de resistir à fagocitose por macrófagos e neutrófilos (ADLER, 2014). Assim, diferentes consequências da infecção aguda estariam relacionadas aos diferentes resultados da interação da *Leptospira* sp. com macrófagos (LI et al., 2007).

DIAGNÓSTICO

Como diagnóstico laboratorial a principal ferramenta é o teste de aglutinação microscópica (MAT), sendo a técnica padrão para o diagnóstico da leptospirose (ADLER, 2014). Na técnica, antígenos vivos reagem com amostras de soro e a aglutinação resultante é examinada através da microscopia de campo escuro (MUSSO; SCOLA, 2013). O teste depende da presença de quantidades detectáveis de anticorpos anti-*Leptospira* em amostras de pacientes convalescentes (PICARDEAU et al., 2014).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda a utilização de um painel de cepas considerado padrão. A inclusão de um determinado sorovar no painel de antígenos vai depender do laboratório encarregado do teste (BLANCO et al., 2016), e o painel deverá conter amostras representando os sorovares de circulação local (PINTO et al., 2015), além dos mais prevalentes na espécie testada. Testes moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) demonstram a presença do agente na amostra clínica e permitem a confirmação da doença durante os primeiros dias após a apresentação dos sintomas

(PICARDEAU et al., 2014), uma das principais limitações do MAT.

A visualização direta de leptospiras em microscópio de campo escuro tem sido utilizada principalmente em amostras de urina durante a fase de leptospirose, este exame, quando realizado imediatamente após a colheita da urina aumenta as chances de um resultado positivo, uma vez que o diagnóstico é baseado na morfologia e motilidade das espiroquetas (FAINE et al., 1999). Este teste apresenta como principais limitações, baixa sensibilidade, necessidade de observador experiente para diferenciar leptospiras de artefatos presentes nas amostras e a eliminação intermitente de leptospiras pela urina (OLIVEIRA, 2008). O isolamento de leptospiras permite o diagnóstico definitivo da leptospirose e a identificação do sorovar infectante, dado importante para orientar ações destinadas ao controle e profilaxia da doença (VASCONCELLOS et al., 1997; FAINE et al., 1999).

ANIMAIS DOMÉSTICOS E A *LEPTOSPIRA* EM POPULAÇÕES RURAIS

De acordo com Scheneider et al. (2015) as populações rurais do Rio Grande do Sul, têm cerca de oito vezes maior risco de contrair leptospirose do que as populações urbanas, e os casos rurais estão principalmente em duas zonas, caracterizadas pela maior produção de tabaco (região central) e maior produção de arroz (região sul).

Um estudo realizado por Barcellos et al. (2003) de casos notificados em Pelotas no Rio Grande do Sul, apresentou uma incidência de 16,3 casos por 100 mil, uma frequência superior à média nacional de 3,5 casos por 100 mil habitantes. Já Scheneider et al. (2015) também sobre casos notificados no Rio Grande do Sul, indicam uma incidência de 1,2 à 2,4 casos para cada 10 mil habitantes no município de Pelotas.

Em seu estudo Schneider et al. (2015) revelou indícios de uma nova associação entre exposição-desfecho da leptospirose, que é a plantação de tabaco no RS. O principal fator relacionado a essa associação seria o pH do solo, já que para o crescimento do tabaco o solo deverá apresentar um pH entre 5,0 e 6,5 (FAO, 2013), semelhante ao pH ótimo do solo para a manutenção de alguns sorovares de *Leptospira*, que é um pH de 6,2 para a sobrevivência ao longo de sete semanas no ambiente (ACHA; SZYFRES, 2003). De acordo com Khairani-bejo et al. (2004) os requisitos de sobrevivência no solo podem variar entre os sorovares, como o caso do sorovar Hardjo, comumente associado aos ruminantes, o qual cresce em um pH entre 6,5 e 6,8.

A associação entre os trabalhadores da cultura do arroz e a leptospirose já foi descrito na literatura (CAMINITI et al., 2011; WHO, 2003). Destacam-se os riscos profissionais associados à infecção por leptospirose, tais como longo período de exposição à água, a falta de uso de equipamento de proteção individual (EPI) e presença de feridas na pele (CAMINITI et al., 2011). Assim, a conscientização de empregados e empregadores quanto à importância do uso de EPI, pode vir a amenizar a facilidade de contato com a bactéria no Rio Grande do Sul, propiciada por longas horas de trabalho em lavouras e condições ambientais ideais para multiplicação das bactérias.

Homem et al. (2001) na Amazônia Oriental Brasileira revelaram uma prevalência sorológica em humanos de 32,8%, no qual sorovares como Hardjo e Grippotyphosa estavam entre os mais importantes, apresentando 6% e 4,5% de prevalência, respectivamente. Além disso, o sorovar Hardjo também estava entre os mais frequentes nos bovinos analisados, corroborando com os dados epidemiológicos que mostram os bovinos como importantes transmissores desse sorovar para humanos. O Rio Grande do Sul carente em estudos sobre a relação entre a atividade pecuária com o risco para infecção por leptospirose. Em estudo realizado por Brod et al. (1995) sobre a prevalência da leptospirose em bovinos, na região Sul do Rio Grande do Sul mostrou 41,49% de soros reagentes, com predominância de Hardjo (82,25%). Também Herrmann et al. (2012), realizaram um estudo com bovinos na mesma região encontrando uma prevalência de 38,75%, apresentando títulos acima de 100, sendo o sorovar Hardjo o mais prevalente, entre outros que reagiram estavam: Pyrogenes, Australis e Pomona. Estes dados mostram a importância dos bovinos na manutenção da leptospirose no meio rural gaúcho, e a necessidade de estudos que incluam a população exposta nessa cadeia produtiva.

Alguns autores como Subharat et al. (2010) e Salgado et al. (2014) afirmaram que o gado e a agricultura representam um papel importante como fator de risco ocupacional para leptospirose humana, mas destacam também o papel de animais selvagens como reservatórios de *Leptospira*. Atividades externas, agricultura e contato com animais foram significativamente associados com a soropositividade para leptospirose (SETHI et al., 2003). Na mesma linha, Heath e Johnson (1994) observaram que grupos de alto risco para leptospirose são trabalhadores de fazendas e de matadouros, já que ficam expostos às *Leptospiras*, principalmente aos sorovares Pomona e Hardjo, e concluíram que geralmente a prevalência de leptospirose na população humana é um reflexo de prevalência na população

animal com a qual as pessoas têm contato.

No meio rural de Pelotas, um estudo realizado por Jouglard e Brod (2000) em 213 propriedades, analisou 489 amostras sorológicas de caninos, encontrando 13 (2,66%) animais positivos no MAT com os títulos variando de 50 a 800, com reações para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Australis, Copenhageni e Canicola. De acordo com Faine et al. (1999) cães, assim como ratos e camundongos, são as importantes fontes de infecção de *Leptospira* para o homem. Querino et al. (2003) demonstraram que o acesso à rua proporciona aos cães inúmeras possibilidades de se infectarem com *Leptospira* pelo contato direto ou indireto com outros animais, ou pelo acesso às áreas alagadiças.

Zacarias et al. (2008) reforçaram o papel de ratos como reservatório do sorovar Copenhageni e também colocam a urina de gado infectado como um fator de risco para a leptospirose humana. De acordo com Silva et al. (2015) práticas sanitárias precárias são amplamente observadas em propriedades rurais do Rio Grande do Sul, tais como lixo e acúmulo de lixo orgânico, falta de saneamento, falha no acondicionamento de alimentos e a qualidade da água negligenciada, promovendo a proliferação de ratos e animais silvestres de vida livre, facilitando a transmissão do agente etiológico para um hospedeiro susceptível.

CONTROLE

O controle da leptospirose animal deve assentar-se na integração de medidas profiláticas instituída nos três níveis da cadeia de transmissão: fontes de infecção (vertebrados infectados), vias de transmissão (água, solo e fômites contaminados) e susceptíveis (vertebrados não infectados e não imunizados) (OLIVEIRA, 2008). Aplicação de medidas de saneamento que incluem destino adequado do lixo, armazenagem correta dos alimentos de uso humano e animal em instalações construídas a prova dos roedores, evitar a armazenagem de entulhos ou objetos em desuso que possa fornecer abrigo para tais animais e, finalmente, a aplicação dos métodos ofensivos, representados pelo uso racional dos diversos tipos de rodenticidas (SIMÕES et al., 2016).

A proteção específica dos animais susceptíveis é obtida com o uso de vacinas inativadas que contenham os sorovares de leptospiros (SALLES; LILENBAUM, 2006). Eliminar o excesso de água livre, com o emprego de técnicas de drenagem e canalização dos cursos de água (SIMÕES et al., 2016), destinar adequadamente os esgotos e águas servidas é de grande importância para a redução do nível de contaminação ambiental (OLIVEIRA, 2008).

CONCLUSÕES

As populações rurais do Rio Grande do Sul, principalmente a região central e sul do estado, estão mais expostas e com mais chances de adquirirem a enfermidade quando comparadas a zonas urbanas. Em propriedades rurais, bovinos e cães infectados pela *Leptospira* são importantes para a manutenção da bactéria, representando elos importantes na cadeia de transmissão aos humanos. Sendo assim, a leptospirose torna-se a doença ocupacional de maior ocorrência em pecuaristas.

Além disso, práticas sanitárias mal conduzidas, como acúmulo de lixo, má qualidade da água e falha no acondicionamento de alimentos, propiciam a proliferação de ratos e outros animais silvestres, facilitando a transmissão do agente. Da mesma forma, a falta do uso de equipamentos de proteção individual em trabalhadores rurais, facilita a infecção por leptospirosas.

Vê-se, portanto, que as principais medidas necessárias para a prevenção da doença no meio rural são de reeducação dos trabalhadores, tanto agrícolas quanto pecuários, bem como dos moradores. Sugere-se que o manejo correto de resíduos e alimentos, bem como uso de EPI, poderiam diminuir os casos da doença em humanos, consideravelmente. Além disso, o controle sanitário dos rebanhos, através de vigilância permanente e vacinação de animais suscetíveis.

HUMAN LEPTOSPIROSIS: A REVIEW ON THE DISEASE AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH RURAL POPULATIONS

ABSTRACT

Leptospirosis is a zoonosis of worldwide distribution, transmission occurs through direct or indirect contact with carriers. Caused by bacteria of the *Leptospira* genus, it is a disease of both humans and other animals. Rural populations tend to be closer with animals, both wild and domestic, which increases the chance of contact with the agent. Thusly, this study reviews literature regarding leptospirosis in rural Rio Grande do Sul state, Brazil, in the last 25 years and infers on the risks associated with farming activities. We demonstrate that rural populations, mainly in the southern and central regions of the state, are more at risk of acquiring the disease, when compared to urban dwellers. The state conditions which, associated with long work hours and lack of use of individual protection equipment,

facilitates contact with the bacteria. Among domestic animals, dogs and cattle are important in maintaining and transmitting leptospirosis in these regions. Furthermore, sanitary shortcomings such as lack of proper sanitation and waste disposal favor the presence of rodents near homes, another possible risk factor. In this light, education regarding the disease, and proper use of individual protection equipment, seems to be the most needed measures to reduce human infection in rural Rio Grande do Sul state, Brazil.

Keywords: *Leptospira*. Public health. Occupational disease. Zoonosis.

LEPTOSPIROSIS HUMANA: UNA REVISIÓN SOBRE LA ENFERMEDAD Y LOS FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA ZONA RURAL

RESUMEN

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial cuya transmisión a los susceptibles ocurre por el contacto directo o indirecto con los enfermos. La molestia es causada por bacterias del género *Leptospira*, la cual ocurre tanto en humanos como en animales. En el medio rural, el riesgo de los humanos en adquirir la enfermedad es mayor que para los habitantes del medio urbano, principalmente por el contacto con animales domésticos, sinantrópicos y silvestres. En este contexto, este estudio objetivó revisar los principales estudios epidemiológicos sobre la leptospirosis en el medio rural del Estado del RS en los últimos veinte cinco años, inferiendo sobre la influencia de las actividades agropecuarias en los casos de la enfermedad en humanos. Se evidencia que las poblaciones rurales en el RS, principalmente las localizadas en la región sur y central están más expuestas y tienen mayores responsabilidades de contraer la leptospirosis, cuando comparadas con la zona urbana. En el RS, las actividades que involucran largos períodos de trabajo en contacto con el agua y la indisponibilidad, la mayoría de las veces, de equipos de protección individual (EPI), aumentan el riesgo para la leptospirosis. Entre los animales domésticos, se destacan los caninos y bovinos como importantes transmisores de la leptospirosis para los humanos en el medio rural. Además, fallas en el saneamiento y recolección de basura favorecen la presencia de roedores en las propiedades, elevando el riesgo para la ocurrencia de la enfermedad. Así, medidas como la reeducación, la información sobre los principales factores de riesgo de la enfermedad y el uso de EPI pueden ser utilizadas para prevenir casos graves de la leptospirosis en el medio rural del RS.

Palabras clave: *Leptospira*. Salud pública. Enfermedad Ocupacional. Zoonosis.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. In Vol I: **Bacterioses and Mycoses**, 3.ed. Washington, DC: Pan American Health Organization, p.157–168, 2003.

ADLER, B. Pathogenesis of leptospirosis: cellular and molecular aspects. **Veterinary Microbiology**, v.172, p.353-358, 2014.

BARCELLOS, C.; LAMMERHIRT, C. B.; ALMEIDA, M. A. B.; et al. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos, **Caderno Saúde Pública**, v.19, p.1283-1292, 2003.

BHARTI, A. R.; NALLY, J. E.; RICALDI, J. N.; et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infectious Diseases**, v.3, n.12, p.757-771, 2003.

BLANCO, R. M.; SANTOS, L. F.; GALLOWAY, R. L.; et al. Isthemic microagglutination test (MAT) good for predicting the infecting serogroup for leptospirosis in Brazil Comparative Immunology, **Microbiology and Infectious Diseases**, v.44, p.34-36, 2016.

BROD, C. S.; MARTINS, L. F. S.; NUSSBAUN, J. R.; et al. Leptospirose bovina na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v.14, p.15-20, 1995.

BROD, C.S.; FEHLBERG, M.F. Epidemiologia da leptospirose em bovinos. **Ciência Rural**, v. 22, p. 239-245, 1992.

CAMERON, C. E. Leptospiral structure, physiology and metabolism. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.387, p.21-42, 2015.

CAMINITI, T. R.; ROMANI, R. F.; WONG, C. P.; et al. Prácticas laborales de riesgo en cultivadores de arroz del valle del Alto Mayo, Región San Martín, Perú. **Revista Peruana de Epidemiología**, V. 15, p.6, 2011.

COSTA, F.; HAGAN, J. E.; CALCAGNO, J.; et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, 2015.

DREYFUS, A.; DYAL, J. W.; PEARSON, R.; et al. Leptospira Seroprevalence and Risk Factors in Health Centre Patients in Hoima District, Western Uganda. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 8, 2016.

FAINE, S.B.; ADLER, B.; BOLIN, C.; et al. **Leptospira and Leptospirosis**. Melbourne, Australia: MediSci, 1999.

FAO Geo Network-geo-spatial data [Internet]. 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/geonetwork/srv/en/main.home>>. Acesso em: 28 mar. 2017.

FIGUEIREDO, C. M.; MOURÃO, A. C.; OLIVEIRA, M. A.; et al. Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 34 n. 4, 331-338, 2001.

FONTES, A. P. A.; RIBEIRO, D. P.; JESUS, L. S. B.; et al. Aspectos funcionais respiratórios na leptospirose humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 161-165, 2010.

GULATI, S.; GULATI, A. Pulmonary manifestations of leptospirosis. **Lung India**, v. 29, p. 347–

353, 2012.

HARTSKEERL, R. A.; COLLARES, P. M.; ELLIS, W. A. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. **Clinical Microbiology and Infection**, v.17, p.494–501, 2011.

HEAT, S. E.; JOHNSON, R. Leptospirosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1518-1523, 1994.

HERRMANN, G. P.; RODRIGUES, R. O.; MACHADO, G.; et al. Soroprevalencia de leptospirose em bovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.13, n.1, p. 131-138, 2012.

HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; MORAES, Z.M.M.; et al. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.3, p.173-180, 2001.

JIN, D.; OJCIUS, D. M.; SUN, D.; et al. *Leptospira interrogans* induces apoptosis in macrophages via caspase-8 and caspase-3 dependent pathways. **Infection and Immunity**. v.77, p.799-809, 2009.

JOUGLARD, S.D.D.; BROD, C.S.; Leptospirose em caes: 463 prevalencia e fatores de risco no meio rural do Municipio de Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.67, n.2, p.181-185, 2000.

KHAIRANI-BEJO, S.; BAHAMAN, A. R.; ZAMRI-SAAD, M.; et al. The survival of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo in the Malaysian environment. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 3, p. 123-129, 2004.

KO, A.I.; GOARANT, C.; PICARDEAU, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen, **Nature Reviews Microbiology**, v.7, p.736–747, 2009.

LAU, C. L.; WATSON, C. H.; LOWRY, J. H.; et al. Human Leptospirosis Infection in Fiji: An Ecoepidemiological Approach to Identifying Risk Factors and Environmental Drivers for Transmission. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, p.1-25, 2016.

LI, L.; OJCIUS, D. M.; YAN, J. Comparison of invasion of fibroblasts and macrophages by high- and low-virulence *Leptospira* strains: colonization of the host-cell nucleus and induction of necrosis by the virulent strain. **Archives Microbiology**, v. 188, p. 591-598, 2007.

MORGAN, J.; BORNSTEIN, S. L.; KARPATI, A. M.; et al. Outbreak of Leptospirosis among Triathlon Participants and Community Residents in Springfield, Illinois, 1998. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, p. 1593-1599, 2002.

MUSSO, D.; SCOLA, B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: a challenge. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**. v.46, p.245-252, 2013.

- OLIVEIRA, F. C. S. **Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência de sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco.** São Paulo: USP, 2008. 123p. Dissertação (Mestrado em Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2008.
- PICARDEAU, M.; BERTHERAT, E.; JANCLOES, M.; et al. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.78, n.1, p.1-8. 2014.
- PINTO, P. S.; LOUREIRO, A. P.; PENNA, B.; et al. Usage of *Leptospira* spp. local strains as antigens in creases the sensitivity of the serodiagnosis of bovine leptospirosis. **Acta Tropica**. v.149, p.163-167, 2015.
- PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. In humans. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 1265-1276, 2000.
- QUERINO, A. M. V.; DELBEM, Á. C. B.; OLIVEIRA, R. C.; et al. Risk factors associated to leptospirosis in dogs in Londrina City – PR, **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, p. 27-34, 2003.
- SALLES, R. S.; LILENBAUM, W. Leptospirose bovina no Brasil. CFMV, Brasília, v. 21, p. 42-46, 2006.
- SALGADO, M.; OTTO, B.; SANDOVAL, E.; et al. A cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira* spp. serovars in small holder dairy cattle farms in southern Chile. **BioMed Central**, v. 10, n. 126, p. 1-6, 2014.
- SCHNEIDER, M. C.; NAJERA, P.; PEREIRA, M. M.; et al. Leptospirosis in Rio Grande do Sul, Brazil: Na Ecosystem Approach in the Animal-Human Interface. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v. 9, n. 11, 2015.
- SETHI, S.; SOOD, A.; POOJA; et al. Leptospirosis in northern India: a clinical and serological study. Southeast Asian. **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 34, n. 4, p. 822-825, 2003.
- SILVA, F. J.; SILVA, G. C. P.; LOFFLER, S. G.; et al. Isolation of *Leptospira* spp. from a man living in a rural area of the Municipality of Cruz Alta, RS, Brazil, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.1, p.47-51, 2015.
- SIMÕES, L. S.; SASAHARA, T. H. C.; FAVARON, P. O.; et al. Leptospirose – Revisão. **Pubvet**, v. 10, n. 2, p. 138-146, 2016.
- SUBHARAT, S. **Epidemiology, diagnosis and vaccination control of leptospirosis in farmed deer in New Zealand**, 2010. 271f. Thesis (Doctor of Philosophy in Veterinary Clinical Science) - Massey University Palmerston North, New Zealand.
- VASCONCELLOS, S. A.; BARBARINI JÚNIOR, O.; UMEAHARA, O.; et al. Leptospirose bovina.

Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 64, n. 2, p. 7-15, 1997.

ZACARIAS, F.G.S.; VASCONCELLOS, S. A.; ANZAI, E. K.; et al. Isolation of leptospira Serovars Canicola and Copenhageni from cattle urine in the state of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.39, n.4, p.484-488, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, International Leptospirosis Society. **Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control**. Geneva, Switzerland: WHO; 2003.

Autor para correspondência:

Gilmar Batista Machado.

Grupo de Estudos em Doenças Transmitidas por Animais, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário, Capão do Leão (RS). CEP 96010-900, CP. 354.

gilmar.machado84@hotmail.com

4.2 Artigo 2

Seroprevalence of human leptospirosis in a rural district of Pelotas, a city in southernmost Brazil

Gilmar Batista Machado; Amilton Clair Pinto Seixas Neto; Tanise Pacheco Fortes; Caroline Dewes; Suelen Costa Rodrigues; Sibeles Borsuk; Samuel Rodrigues Felix; Éverton Fagonde da Silva

Artigo submetido à revista The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene

Seroprevalence of human leptospirosis in a rural district of Pelotas, a city in southernmost Brazil

Gilmar Batista Machado, Amilton Clair Pinto Seixas Neto, Tanise Pacheco Fortes, Caroline Dewes, Suelen Costa Rodrigues, Sibebe Borsuk, Samuel Rodrigues Félix, and Éverton Fagonde da Silva

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil; Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil

Abstract: Leptospirosis is one of the most widespread zoonosis in the world. In humans, the disease is responsible for more than a million cases annually. The purpose of this study was to assess human seroprevalence to leptospirosis in a rural community of southernmost Brazil. Furthermore, we assess possible epidemiological cues associated with seroprevalence. A total of 216 individuals were enrolled in the study, with an overall seroprevalence of 21.29% (n=46), to the 12 antigens tested. Seropositivity was associated with 13 of the investigated cues, including those associated with the individuals, their behavior, environment, domestic animals, and synanthropic rodents. While seroprevalence was not particularly high when compared to other studies in similar populations, some of the risk factors associated with the disease are easy to circumvent, and indications for policymakers and future studies are made within.

INTRODUCTION

Leptospirosis is a zoonotic bacterial disease of global distribution, particularly prevalent in tropical and subtropical countries. The causative agents are pathogenic bacteria of the *Leptospira* genus, with over 300 described serovars¹. Transmission occurs through contact with infected animals, their urine or tissues, or indirectly through contact with water or soil contaminated by these².

Leptospirosis is considered an emerging, neglected disease, of public health concern, with more than 870 thousand severe human cases every year, and ~49 thousand deaths annually³. In the state of Rio Grande do Sul, the southernmost state in Brazil, leptospirosis is particularly burdensome, with an average of 428 cases notified annually⁴. True incidence is unknown however, since under diagnosis and under notification is common, especially in low income and/or rural communities, exactly the population considered to be at most risk, due to the occupational aspect of the disease.

Leptospirosis occurs disproportionately in people who practice certain activities or occupations. People working in mines, slaughterhouses, sewers, and farmers and field workers are at particular risk⁵. Farmers bring together a series of occupational risks to leptospirosis, such as exposure to water, to humid soils, and to animals, during their daily activities⁶. Besides the more obvious direct infection routes affecting these workers, such as bovine to human⁷, wild animals also play a role in rural communities⁸. According to Scheneider and co-workers (2015)⁴, rural populations in Rio Grande do Sul state are eight times more likely to contract leptospirosis than urban populations, especially those associated with the tobacco and rice production industries.

In this light, the purpose of this study was to assess the prevalence of anti-*Leptospira* spp. antibodies in a rural community of the city of Pelotas, Rio Grande do Sul state, Brazil. Furthermore, we assess possible epidemiological cues associated with seroprevalence.

MATERIAL AND METHODS

Study setting and population

Participants of the cross-section study were those living in the rural community of Cerrito Alegre (Third district of the city of Pelotas, RS;31°32'12"S, 52°21'51"W). To be included in the study, participants had to be residents of the third district, over 18 years old, and agree to participate (signing an informed consent). No exclusion criteria were applied, once the inclusion criteria were met. The study was submitted to, evaluated and approved by the ethics committee of the university's school of medicine (CEP/UFPel =1352717 and COCEPE/UFPel=6643). According to the 2010 census, Cerrito Alegre has a population of 3074 residents⁹. Sample size was calculated considering a confidence of 95% and an expected seroprevalence of 10% to 20% (15% +/- 5%), for a required minimum of 185 participants.

Blood sampling

Blood harvesting was carried out by able professional (either a nurse or a physician), with sterile, disposable material, in collection tubes free of anti-coagulants. After harvesting sera were separated through centrifugation, and stored at -20 °C until use.

Microscopic agglutination test (MAT)

The MAT was carried out as recommended¹⁰, and previously described. Briefly, *leptospira* strains were cultured in liquid EMJH (Difco) media, at 29 °C, and subcultured every seven days. To use in the MAT, cultures were standardized at $1-2 \times 10^8$ cells/mL. Sera samples were initially diluted at 1:12.5 in sterile saline, these were incubated with the antigen at a proportion of 1:1 (for a trial titer of 1:25), for two hours at 29 °C. Over 50% agglutination, when compared to control, was considered positive. Positive sera were then re tested at serial titers, from 1:25 to 1:3200. *Leptospira* species, serovar, and strains, used in this study can be seen on table 1.

Questionnaire and Statistics

Individuals sampled were asked to answer a questionnaire regarding possible risk factors to leptospirosis. Questions regarding the individuals, their behavior, environment, domestic animals, and synanthropic rodents can be seen on table 2. All statistics were carried out on the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 22.0; or on Epiinfo 7. A two tailed Fischer exact test was used to compare exposure and outcome in 2x2 tables. A power of 95% was used, with p values of 0.05 or less considered statistically relevant.

RESULTS

From October 2015 to July 2016, a total of 216 residents of Cerrito accepted participation in this study. Blood samples were harvested, and all of them answered the epidemiological questionnaire. Of the sampled individuals, 83 (38.43%) were men, and 133 (61.57%) were women.

Of the 216 samples, 46 (21.29%) were seropositive for at least one antigen, at a titer of 1:25. Results regarding seropositivity can be seen in full on table 1. Regarding possible risk factors to seropositivity, environmental issues, such as flooding of the residence (OR: 5.30 - $p < 0.05$); factors regarding the presence of rodents, such as their access to animal fodder (OR: 3.74 - $p < 0.01$); and behaviour issues, such as cleaning the water reservoir tank (OR: 3.74 - $p < 0.01$), were all associated with seropositivity, among others. Full results regarding risk factors for seropositivity can be seen on table 2.

DISCUSSION

In a rural district of Pelotas, southernmost Brazil, this study found an overall seroprevalence for human leptospirosis of 21.29% (46 of 216) with titers varying from 25 to 800. Pelotas is unique in its diversity of *Leptospira* species and serovars circulating in its animal and human population^{11,12,13,14}. Nonetheless, serological assessments in humans are few and far between, and none have been undertaken in rural populations, with most epidemiological information regarding notified cases⁴. In this light, the randomized sample of apparently healthy individuals found herein allows for a hereto unseen report on *Leptospira* spp. seropositivity in these populations.

In our study, Ballum and Canicola were the most frequent reacting serovars (19.56% and 17.39% of all the positive sera, respectively). Curiously, these were the two serovars in the test panel that were replaced with local isolates: Canicola/Kito¹¹ and Ballum/4E¹³. The use of local isolates in screening panels has been shown to increase the sensitivity of MAT¹⁵. Furthermore, these serovars are associated with domestic and synanthropic animals (Canicola with dogs and Ballum with rodents)¹⁶, present in most of the participants homes.

Schneider and co-workers (2015)⁴ indicate rice and tobacco cultures as possible risk factors for leptospirosis in Rio Grande do Sul state, common activities in the studied region,

especially tobacco, which is appropriate for the small agricultural units of Cerrito Alegre. Furthermore, we found that use of animal feed, rodents in the animal fodder, loose control over access to animal fodder (animal access), and frequent rodent control measures were associated with seropositivity in humans (Table 2). Needless to say, rodents are the most common species associated with human leptospirosis¹⁷, and the high Ballumseroreactivity, compared to other serovars, supports synanthropic rodents as the foremost maintenance hosts in the region.

Contact with water through fishing; cleaning water tanks; and cleaning grease traps, were also associated with seropositivity. In line with this, the residence being prone to flooding, and the high humidity of fields where the livestock are kept were also associated with seropositivity (Table 2). All these water related risk factors were expected, as these bacteria are easily carried by water, where it can survive for long periods of time¹⁸. Nonetheless, orientation towards prevention of the disease seldom regards household chores, such as cleaning water tanks, as important risk factors, and the population of these rural communities usually undertakes these activities without specialized help or appropriate equipment. Policymakers should therefore be advised to emphasize the need of protection equipment whenever handling these materials.

Most of the houses where people were interviewed had vegetable gardens. If these were fenced, or otherwise isolated from animals, a protection from seropositivity to leptospirosis was observed (Table 2). This is likely due to the manipulation of humid soil, which can be a risk factor if dogs, or other animals have urinated on it, since *Leptospira* spp. can survive in these conditions, especially in gardens where the pH of soil is often corrected to numbers that favor bacterial survival (pH ~6,2)^{19,20}. Likewise, the presence of cats was expected to be a protection factor, since previous studies have described it as such²¹, however, our findings reveal the contrary in the studied population, where housed cats were, in fact, a

risk factor (Table 2). Cats are known to suffer from leptospirosis, sometimes with relatively high seroprevalence (25.2%)²², but clean habits usually prevent them from transmitting the disease to humans. Nonetheless, these animals may be carrying rodents into the houses, or exposing their owners in other fashions, yet to be revealed.

General seroprevalence was relatively average, compared to similar studies in similar settings which have found both lower (12.2%)²³ and higher (34.8%)²⁴ general seroprevalence. Nonetheless, measures to control the disease are essential and should be undertaken. Policymakers that work with rural populations should emphasize the use of protective equipment when handling water, soil, and animals. Further studies in different settings and sustained surveillance in these populations are also recommended to aid control and reduce leptospirosis cases. Rural populations in the city of Pelotas have a seroprevalence of 21.29% to anti-leptospira antibodies. Furthermore, risk factors, mostly associated with lifestyle, are described; and practices that seem to be protective against the disease include the use of personal protection equipment when handling soil, water, and animals.

Acknowledgments: We are grateful to staff at the Centro de Saúde (Cerrito Alegre, Pelotas, RS) for all the assistance. This work was supported by the CNPq (grant number 458509/2014-0 and 309163/2012-9). G.B.M., T.P.F., C.D., A.C.P.S.N., and S.R.F. were supported by scholarships from CAPES.

Authors' addresses: Gilmar Batista Machado, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil, E-mail: gilmar.machado84@hotmail.com. Amilton Clair Pinto Seixas Neto, Tanise Pacheco Fortes, Caroline Dewes, Samuel Rodrigues Félix, and Éverton Fagonde da Silva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil, E-mails: amiltonseixas@gmail.com, tanisefortes@gmail.com,

caroldewesvet@hotmail.com, samuelrf@gmail.com, andfagondee@gmail.com. Suelen Costa Rodrigues, and Sibebe Borsuk, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brazil, E-mails: suelencrodrigues@yahoo.com, and sibebeborsuk@gmail.com.

REFERÊNCIAS

1. DREYFUS A, et al., 2016. Leptospira Seroprevalence and Risk Factors in Health Centre Patients in Hoima District, Western Uganda. *PLoS Negl Trop Dis* 10: 8.
2. HARTSKEERL RA, COLLARES-PEREIRA M, ELLIS WA, 2011. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. *ClinMicrobiolInfect* 17: 494–501.
3. PICARDEAU M, BERTHERAT E, JANCLOES M, SKOULLOUDIS AN, DURSKI K, HARTSKEERL RA, 2014. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies Diagnostic. *Microbiol Infect Dis* 78; 1: 1-8.
4. SCHNEIDER MC, et al., 2015. Leptospirosis in Rio Grande do Sul, Brazil: An Ecosystem Approach in the Animal- Human Interface. *PLoS Negl Trop Dis* 9: 11.

5. BENSCHOP J, HEUER C, JAROS P, COLLINS-EMERSON J, MIDWINTER A, WILSON P, 2009. Sero-prevalence of leptospirosis in workers at a New Zealand slaughterhouse. *N Z Med J* 122; 1307: 39–47.
6. CHADSUTHI S, BICOUT DJ, WIRATSUDAKUL A, SUWANCHAROEN D, PETKANCHANAPONG W, MODCHANG C, TRIAMPO W, RATANAKORN P, CHALVET-MONFRAY K, 2017. Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010-2015. *PLoS Negl Trop Dis* 11: 2.
7. ASSENGA JA, MATEMBA LE, MULLER SK, MHAMPHI GG, KAZWALA RR, 2015. Predominant Leptospiral Serogroups Circulating among Humans, Livestock and Wildlife in Katavi-Rukwa Ecosystem, Tanzania. *PLoS Negl Trop Dis* 9: 3.
8. SUBHARAT S, 2010. *Epidemiology, diagnosis and vaccination control of leptospirosis in farmed deer in New Zealand*, 271f. Thesis (Doctor of Philosophy in Veterinary Clinical Science) - Massey University Palmerston North, New Zealand. Available at: <https://mro.massey.ac.nz/handle/10179/1678>. Accessed October 25, 2017.
9. IBGE, 2010. *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*. Available at: https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/sinopse/sinopse_tab_brasil_zi_p.shtm. Accessed September 10, 2017.
10. WHO; 2003. *Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.

11. SILVA ÉF, et al., 2008. Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in a hamster model. *Vaccine* 26; 31: 3892-3896.
12. SILVA ÉF, et al., 2009. *Leptospira* noguchii and Human and Animal Leptospirosis, Southern Brazil. *Emerg Infect Dis* 15: 621-623.
13. SILVA ÉF, FELIX SR, CERQUEIRA GM, FAGUNDES MQ, NETO AS, GRASSMANN AA, AMARAL M, GALLINA T, DELLAGOSTIN OA, 2010. Preliminary Characterization of *Mus musculus*-Derived Pathogenic Strains of *Leptospira borgpetersenii* Serogroup Ballum in a Hamster Model. *Am J Trop Med Hyg* 83: 336-337.
14. CUNHA CEP, et al., 2016. Infection with *Leptospira kirschneri* Serovar Mozdok: First Report from the Southern Hemisphere. *Am J Trop Med Hyg* 94: 519-521.
15. FAINE SB, ADLER B, BOLIN C, PEROLAT P, 1999. *Leptospira and leptospirosis*. 2 nd edition. Melbourne, Australia: MediSci.
16. BHARTI AR, et al., 2003. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis* 3: 757-771.
17. ZACARIAS FGS, VASCONCELLOS SA, ANZAI EK, GIRALDI N, FREITAS JC, HARTSKEERL R, 2008. Isolation of *leptospira* Serovars Canicola and Copenhageni from cattle urine in the state of Paraná, Brazil. *Braz J Microbiol* 39; 4: 484-488.

18. CAMINITI TR, ROMANI RF, WONG CP, ALARCON VJ, 2011. Prácticas laborales de riesgo en cultivadores de arroz Del Valle del Alto Mayo, Región San Martín, Perú. *Rev Per Epid* 15: 6.
19. ACHA PN, SZYFRES B, 2003. *Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals*. In Vol I: Bacterioses and Mycoses. 3.ed. Washington, DC: Pan 393 American Health Organization, 157–168.
20. KHAIRANI-BEJO S, BAHAMAN AR, ZAMRI-SAAD M, MUTALIB AR, 2004. The survival of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo in the Malaysian environment. *J An Vet Adv* 3: 123-129.
21. GUIMARÃES, L. K. P, 2017. *Geoepidemiologia da infecção por Leptospira spp. em bovinos do sítio histórico e patrimônio cultural Kalunga*. [in Portuguese] Goiânia: UFG, 54p. Dissertation (Mestrado em Ciência Animal), Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2017. Available at: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/7313>. Accessed October 25, 2017.
22. AZÓCAR-AEDO L, MONTI G, JARA R, 2014. *Leptospira* spp. in domestic cats from different environments: prevalence of antibodies and risk factors associated with the seropositivity. *Animals* 4: 612-626.

23. ESCADÓN-VARGAS K, OSORIO L, ASTUDILLO-HERNÁNDEZ MIRYAM, 2017. Seroprevalence and factors associated with *Leptospira* infection in an urban district of Cali, Colombia. *C S P* 33;5: 1-14.

24. SAMSUDIN S, MASRI SN, JAMALUDDIN TZMT, SAUDI SNS, ARIFFIN UKM, NAMRAN F, OSMAN M, 2015. Seroprevalence of Leptospiral Antibodies among Healthy Municipal Service Workers in Selangor. *Adv Public Health*. 2015: 1-6.

Table 1. Antigen list used for the MAT, and results, with titers.

Serovars ^{ab}	Results and titers						Total	%
	25	50	100	200	400	800		
Australis	2	-	2	-	1	1	6	13,05
Ballum	5	2	2	-	-	-	9	19,56
Canicola	3	2	3	-	-	-	8	17,39
Copenhageni	5	1	1	-	-	-	7	15,22
Hardjo	3	1	-	-	-	-	4	8,69
Pomona	-	2	-	-	-	-	2	4,34
Patoc	6	-	-	-	-	-	6	13,05
Pyrogenes	-	1	-	-	-	-	1	2,18
Ballum/Copenhageni ^c	-	1	-	-	-	-	1	2,18
Australis/Pyrogenes ^c	1	1	-	-	-	-	2	4,34
Total	25	11	8	-	1	1	46	100

^a When coagglutination occurred, the serovar reacting at the highest titer was considered.

^b Serovars assessed that did not react: Autumnalis, Bataviae, Grippotyphosa, and Icterohaemorrhagiae. ^c Coagglutination at the highest titer.

Table 2. Epidemiological cues assessed and risk factor description for seropositivity to anti-*Leptospira* antibodies in a rural district of the city of Pelotas (RS).

Variable	Answer	Total	positive	%	O.R.	C.I. ^a
Variables regarding the individuals, their home, and their environment						
Cleaning grease trap	Yes	112	30	26.78	2.01	1.02-3.96**
	No	104	16	15.38		
Cleaning water tank	Yes	119	34	28.57	2.83	1.37-5.84*
	No	97	12	12.37		
Fishing	Yes	79	24	30.37	2.28	1.17-4.42**
	No	137	22	16.05		
House prone to flooding	Yes	7	4	57.14	5.30	1.14-24.59**
	No	209	42	20.09		
House in humid location	Yes	34	24	70.58	17.02	7.15-40.53*
	No	170	21	12.35		
Fenced vegetable garden	Yes	124	21	16.93	0.2	0.09-0.42*
	No	46	23	50		
Variables that did not associate with seroprevalence: Cleaning septic tanks; Use of swimming pool; Bathing in natural pools (ponds or dams); Hunting; contact with animal blood; Contact with flood water; Contact with sewer or drainage water; Contact with marsh water; Contact with muddy soil; contact with flood moved soil; Contact with humid soil; contact with animal carcass; Contact with people with leptospirosis; Presence of vegetable garden; Presence of water tank; Is the water tank lidded; Cleaning sewers						
Variables regarding domestic animals and synanthropic rodents						
Cats inside the house	Yes	68	23	33.82	2.77	1.42-5.43*
	No	148	23	15.54		
Livestock fed with concentrated fodder	Yes	97	10	10.30	0.25	0.11-0.54*
	No	115	36	31.30		
Livestock graze in humid fields	Yes	34	24	70.58	17.02	7.15-40.53*
	No	170	21	12.35		
Livestock graze in Dry fields	Yes	156	20	12.82	0.18	0.09-0.37*
	No	59	26	44.06		
Animal access to fodder storage	Yes	17	11	64.70	8.48	2.94-24.48*
	No	197	35	17.76		
Presence of rodents in animal fodder	Yes	49	20	40.82	3.74	1.84-7.58*
	No	167	26	15.56		
Routine rodent control	Yes	161	43	26.70	6.31	1.87-21.28*
	No	55	3	5.45		
Variables that did not associate with seroprevalence: Contact with domestic animal urine; Possession of cattle; Sheep; Pigs; Dogs; Cats; Horses; Dogs inside the house; Animal access to the vegetable garden; Animals vaccinated against leptospirosis; Abortion in the livestock; Contact with rodent urine; presence of rodents. Regarding animal feed: Natural pastures; Sowed pastures; Corn; Silage. Regarding storage of animal fodder: Separate room; In the house; In a shed; Lidded barrel; Un-lidded barrel.						

^a P value calculated using a two tailed exact Fischer test: * p<0.01; ** p<0.05

4.3 Artigo 3

Leptospirosis in sheep in southern Rio Grande do Sul, Brazil

Gilmar Batista Machado; Caroline Dewes; Laís Santos Freitas; Paula Soares Pacheco; Samuel Rodrigues Felix; Éverton Fagonde da Silva

Artigo será submetido à revista Ciência Animal Brasileira

Leptospirosis in sheep in southern Rio Grande do Sul, Brazil

Leptospirose em ovelhas no sul do Rio Grande do Sul, Brasil

Gilmar Batista Machado^{1*}

Caroline Dewes¹

Laís dos Santos Freitas¹

Paula Soares Pacheco¹

Samuel Rodrigues Félix¹

Éverton Fagonde da Silva¹

¹Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

*Corresponding author – gilmar.machado84@hotmail.com

Abstract

Leptospirosis is a globally occurring zoonosis. The disease is mostly asymptomatic in sheep, but is a major cause of reproductive losses. In Rio Grande do Sul state, commercial sheep herds total over 3.94 million animals. In this light, our study aims to identify seroprevalence of anti-*Leptospira* anti-bodies in sheep slaughtered at a commercial abattoir. Blood collections were carried out from May to October 2017, at the time of bleeding in the slaughter line. The serum samples were subjected to the Microscopic Agglutination Test (MAT), with a panel of 12 antigens (serovars). A total of 81 sheep were included, of these, 23 (28.39%) were seropositive for at least one serovar. According to the most prevalent serovars (Autumnalis, Hardjo, and Bratislava), grazing alongside cattle, and the presence of rodents, may be influencing the epidemiology of the disease in these sheep. Though the prevalence was similar to the national average (26%), it is lower than the most recently described for the region (34.26%), which may indicate progress in technification and/or policymaking.

Keywords: Sheep Leptospirosis; seroprevalence; slaughterhouse; MAT; zoonosis.

Resumo

A leptospirose é uma zoonose de ocorrência global. A doença é principalmente assintomática em ovinos, mas é uma das principais causas de perda reprodutiva. No estado do Rio Grande do Sul, a criação de ovelhas é uma indústria de 3,942 milhões de cabeças. Nesta luz, nosso estudo tem como objetivo identificar a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em ovelhas abatidas em um matadouro comercial. As coletas de sangue foram realizadas de maio a outubro de 2017, no momento do sangramento na linha de abate. As amostras de soro foram submetidas ao Teste de Aglutinação Microscópica (MAT), com um painel de 12 antígenos (sorovares). Um total de 81 ovelhas foram incluídas, destes, 23 (28,39%) foram soropositivos para pelo menos um sorovar. De acordo com os sorovares mais prevalentes (Autumnalis, Hardjo e Bratislava), pastar ao lado do gado e a presença de roedores, podem estar influenciando a epidemiologia da doença nestas ovelhas. Embora a prevalência tenha sido

semelhante à média nacional (26%), é menor que o descrito mais recentemente para a região (34,26%), o que pode indicar avanços na tecnificação e / ou elaboração de políticas.

Palavras-chave: Leptospirose ovina; soroprevalência; frigorífico; MAT; zoonose.

Introduction

Leptospirosis is a globally occurring zoonosis caused by pathogenic bacteria of the *Leptospira* genus⁽¹⁾. The disease is often asymptomatic in sheep, but abortions and lamb deaths may occur^(2,3). When the symptomatic disease occurs, common complications include sepsis, hemorrhaging, icterus, nephritis, hemoglobinuria, mastitis, and reproductive setbacks, such as fetal absorption, abortion, and weak newborns which usually die before one week⁽⁴⁾. Leptospirosis in sheep herds is usually associated with grazing alongside cattle, where the smaller ruminant will infect themselves through direct or indirect contact with contaminated bovine urine^(5,6).

In Rio Grande do Sul, the southernmost state in Brazil, commercial sheep herds total over 3.94 million animals⁽⁷⁾, that are mostly under technified. In this light, our study aims to identify seroprevalence of anti-*Leptospira* antibodies in sheep slaughtered at a commercial abattoir in southern Rio Grande do Sul, an important sheep rearing region in the state.

Material and Methods

This study was conducted in a slaughterhouse under state health inspection (DISPOA), operating in the city of Capão do Leão, in the southernmost state of Brazil (Rio Grande do Sul -RS). The studied population were sheep reared for, and slaughtered at slaughterhouse mentioned above. All animals that were approved for slaughter by the inspection agency were included, no exclusion criteria were applied. This study was approved by the ethics committee for animal experimentation of the Universidade Federal de Pelotas (CEEAA-UFPel: 0678-2017).

Blood collections were carried out from May to October 2017, at the time of bleeding in the slaughter line. Sterile tubes were used, and the sera separated through centrifugation at 5000 G for 10 minutes. Sera were kept at -20 °C until use. Kidneys were also collected in the slaughter line to attempt bacterial isolation. The left kidney was collected and processed upon arrival at the laboratory. Sterile fragments (0.5 cm³) were macerated into EMJH media, left for one hour, and 500 µL were sub cultured into fresh EMJH media supplemented with 10% Difco™ *Leptospira* supplement. The cultivation attempts were observed weekly under dark field microscopy, for up to 10 weeks (unless contaminated).

The serum samples were subjected to the Microscopic Agglutination Test (MAT). This was carried out according to World Health Organization recommendations, as previously described^(8,9). Samples were diluted 1:50, for a trial titter of 100. A total of 12 antigens were used, serovars: *Canicola*, *Australis*, *Bataviae*, *Autumnalis*, *Bratislava*, *Copenhageni*, *Grippothyphosa*, *Hardjo*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Pyrogenes*, and *Patoc*. These were kindly provided by the provided by *the Coleção de Leptospira (CLEP)/Laboratório de Referência Nacional para Leptospirose (LNRNL), FIOCRUZ*. Positive samples were then tittered from 1:100 to 1:3200. When co-agglutination occurred, the highest titter was considered positive.

Results

A total of 81 sheep were included, from seven different herds and three different municipalities of the region (Capão do Leão; Arroio Grande; and Pedro Osório). Of these, 23 (28.39%) were seropositive for at least one serovar, in the MAT. Patoc was the most prevalent serovar overall (N=8, 34.78%), and Autumnalis (N=4, 17,39%) and Hardjo (N=3, 13.04%) were the most prevalent, among the pathogenic serovars. Titters varied from 1:100 to 1:1600. Complete results regarding seropositivity and titters can be seen on table 1. Furthermore, though no contamination occurred in the isolation attempts, and all potential cultures were kept and observed for the full period, no isolate was obtained.

Table 1. Seropositivity, according to serovar of highest titre, of sheep slaughtered at an abattoir in southern Rio Grande do Sul state. Only positive results considered

Antigen ^a	Titre					Total
	100	200	400	800	1600	
Autumnalis	1	2	1			4
Bratislava	1					1
Copenhageni	1	1				2
Grippothyphosa	1					1
Hardjo				1	2	3
Icterohaemorrhagiae	1					1
Pomona	1	1				2
Pyrogenes		1				1
Patoc	8					8
Total	14	5	1	1	2	23

^aA total of 12 antigens were assessed, no positive results were found for: Canicola, Australis, and Bataviae.

Discussion

In our study, and overall prevalence of 28.39% for anti-*Leptospira* antibodies was found in sheep slaughtered at Capão do Leão. This result was very close to the national average in sheep, which is 26%⁽¹⁰⁾, and slightly lower than the most recently described seroprevalence in Rio Grande do Sul state, of 34.78%⁽¹¹⁾. However, in other regions of the country, low seropravalence has been found, from 8.6%⁽¹²⁾, to 3.5%⁽¹³⁾, and 3%^(14,10).

Regarding serovar specific reactions, Patoc was by far the most prevalent in our study. Patoc is a serovar of the *L. biflexa* species of nonpathogenic leptospiaras. It is usually included in the MAT antigenic panel as a sentinel for possible cross reactions of serovars that are not present⁽¹⁵⁾. In this light, it may be possible to assume that unusual serovars are likely circulating in the herds studied. The region of Pelotas, where Capão do Leão is situated, is known for its unusually high variability of circulating serovars, in humans and animals, and unexpected species and serovars of *Leptospira* are described circulating there, ever more frequently⁽¹⁶⁾.

Disregarding Patoc, Autumnalis and Hardjo were the most prevalent serovars. Studies assessing seroprevalence in cattle are more frequent than in sheep, and these serovars are common in bovines of southern Rio Grande do Sul^(17,18). Considering that sheep and cattle are usually kept in the same pastures, grazing together and sharing the same watering opportunities, the circulation of the same serovars among these species is not surprising, and has been suggested before⁽¹¹⁾. Furthermore, Autumnalis has also been implicated in ovine leptospirosis, and found as the most prevalent serovar in past studies^(19,20), with some authors suggesting sheep as important risk factors for human infection with this serovar⁽⁴⁾. Likewise, though the prevalence for serovar Copenhageni was relatively low in our study (8.69% of all positive), the fact that it is circulating in the herds is worthy of note. This serovar has synanthropic rodents as its most important maintenance host⁽²¹⁾, and is one of the most important causative agents of leptospirosis in humans⁽²²⁾.

Conclusion

Sheep in southernmost Rio Grande do Sul have a prevalence of 28.39% seropositive for anti-*Leptospira* antibodies. The most prevalent pathogenic serovar was Autumnalis, associated with rodents, reiterating the need for pest control.

References

1. Ellis WA. Animal leptospirosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2015; 387: 99-137.
2. Ciceroni L, Lombardo D, Pinto A, Ciarrochi S, Simeoni J. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. *Journal of Veterinary Medicine*. 2000; 47 (3): 217-223.
3. Carvalho SM, Gonçalves LMF, Macedo NA, Goto H, Silva SMMS, Mineiro ALBB, Kanashiro EHY, Costa FAL. Infecção por *leptospiras* em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2011; 31 (8): 637-642.
4. Alves CJ, Alcino JF, Farias AEM, Higino SSS, Santos FA, Azevedo SS, Costa DF, Santos CSAB. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslançados do semiárido brasileiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2012; 32 (6): 523-528.
5. Fernandes CE. Papel do ovino na cadeia epidemiológica da leptospirose pela *Leptospira* spp. sorovar Hardjo: fatores de risco que envolvem a infecção e transmissão entre ovinos e bovinos, 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal, Segurança Alimentar e o Ambiente), Instituto Biológico de São Paulo, Brasil. Available from: <http://www.bv.fapesp.br/pt/bolsas/123389/papel-do-ovino-na-cadeia-epidemiologica-da-leptospirose-pela-leptospira-spp-sorovar-hardjo-fatores/>.

6. Escocio C, Genovez ME, Castro V, Piatti RM, Gabriel FHL, Chiebao DP, Azevedo SS, Vieira SR, Chiba M. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP. *Arquivos do Instituto Biológico*. 2010; 77 (3): 371-379.
7. IBGE 2010. Censo Agropecuário. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Brasília, DF. Available from: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/tabelas_pdf>Acesso em 19 set. 2017.
8. World Health Organization, International Leptospirosis Society. 2003. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control. Geneva, Switzerland, p.64.
9. Faine SB, Adler B, Bolin C, Perolat P, 1999. *Leptospira* and leptospirosis. 2 nd edition. Melbourne, Australia: MediSci.
10. Amorim RM, Nascimento EM, Santa Rosa BP, Dantas GN, Ferreira DOL, Gonçalves RC, Ulmann LS, Langoni H. Soroprevalência da leptospirose em ovinos da região Centro-Oeste do estado de São Paulo. *Veterinária e Zootecnia*. 2016; 23 (2): 297-305.
11. Herrmann GP, Lage AP, Moreira EC, Haddad JPA, Resende JR, Rodrigues RO, Leite RC. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospira* spp. em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*. 2004; 34 (2): 443-448.
12. Barbudo-Filho J, Girio RJS, Mathias LA, Oliveira AV, Marinho, M. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* interrogans em soros de ovinos do Estado de São Paulo. Avaliação do sorotipo jequitaiá de *Leptospira* biflexa como antígeno de triagem sorológica. *ArsVeterinária*. 1999; 15 (1): 26-32.
13. Azevedo SS, Alves CJ, Andrade JSL, Batista CSA, Clementino IJ, Santos FA. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 2004; 11 (3): 167-170.
14. Seixas LS, Melo CB, Leite RC, Moreira EC, MC Manus CM, Castro MB. Anti-*Leptospira* sp. agglutinins in ewes in the Federal District, Brazil. *Tropical Animal Health & Production*. 2011; 4 (1): 9-11.
15. Levett PN. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001; 14 (2): 296-326, 2001.
16. Cunha CEP, Felix SR, Seixas Neto ACP, Campello-Felix A, Kremer FS, Monte LG, Amaral MG, Nobre MO, Silva EF, Hartleben CP, MC Bride AJA, Dellagostin OA. Infection with *Leptospira kirschneri* Serovar Mozdok: First Report from the Southern Hemisphere. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2016; 94: 519-521.
17. Brod CS, Martins LFS, Nussbaun JR, Fehlberg MFB, Furtado LRI, Rosado RLI. Leptospirose bovina na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*. 1995; 14: 15-20.
18. Herrmann GP, Rodrigues RO, Machado G, Lage AP, Moreira EC, Leite RC. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*. 2012; 13 (1): 131-138.
19. Araujo Neto JO, Silva MLCR, Azevedo SS, Batista CSA, Gomes AAB, Alves CJ, Lima FS, Alves FAL. Soroprevalência e fatores de risco associados a infecção por *Leptospira* spp. em rebanhos caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Rio Grande do Norte, Brasil. *Anais Encontro Nacional de Diagnostico Veterinário*. Campo Grande, MS. 2008; 201-202.

20. Higino SSS, Santos FA, Costa DF, Santos CSAB, Silva MLCR, Alves CJ, Azevedo SS. Flock-level risk factors associated with leptospirosis in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. *Preventive Veterinary Medicine*. 2012; 109 (1-2): 158-161.
21. Zacarias FGS, Vasconcellos SA, Anzai EK, Giraldo N, Freitas JC, Hartskeerl R. Isolation of *leptospira* Serovars Canicola and Copenhageni from cattle urine in the state of Paraná, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2008; 39 (4): 484-488.
22. Silva FJ, Silva GCP, Loffler SG, Brihuega B, Samartino LE, Alarcon MFF, Santos CEP, Mathias LA. Isolation of *Leptospira* spp. from a man living in a rural area of the Municipality of Cruz Alta, RS, Brazil, *Ciência Rural*, v.45, n.1, p.47-51, 2015.

5 Considerações Finais

De acordo com a revisão bibliográfica, as populações rurais do Rio Grande do Sul, estão mais expostas a leptospirose quando comparadas a zona urbana. As principais medidas necessárias para a prevenção da doença no meio rural são a reeducação dos trabalhadores tanto agrícolas como pecuários. Manejo correto de resíduos e alimentos, bem como utilização de EPIs. Além do controle sanitário de dos rebanhos, através da vigilância permanente e vacinação de animais suscetíveis.

As populações rurais da cidade de Pelotas têm uma soroprevalência geral de 21,29% para a leptospirose. Além disso, os fatores de risco, principalmente associados ao estilo de vida, também são descritos. Enfatizando o uso de equipamentos de proteção ao manusear água, solo e animais.

A prevalência de leptospirose em ovinos na região sul do Rio Grande do Sul foi de 28,39%, sendo que o sorovar patogênico mais prevalente foi o Autumnalis, relacionado principalmente a roedores, mostrando a importância no controle destes.

Referências

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals. In Vol I: **Bacterioses and Mycoses**. 3.ed. Washington, DC: Pan 393 American Health Organization, p. 157–168, 2003.

ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 149, n. 3-4, p. 287-296, 2010.

ADLER, B. Pathogenesis of leptospirosis: cellular and molecular aspects. **Veterinary Microbiology**, v.172, p.353-358, 2014.

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; VASCONCELLOS, S. A.; SOUZA, G. O.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; GENNARI, S. M. Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em ovinos do Município de Monte Negro, Estado de Rondônia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 529-532, 2010.

AGUNLOYE, C. A. Leptospiral agglutinating antibodies in sheep and goats in South-west Nigeria. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 57, p. 28-30, 2002.

ALVES, C. J.; ALCINO, J. F.; FARIAS, A. E. M.; HIGINO, S. S. S.; SANTOS, F. A.; AZEVEDO, S. S.; COSTA, D. F.; SANTOS, C. S. A. B. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à leptospirose em ovinos deslançados do semiárido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 32, n. 6, p. 523-528, 2012.

AMORIM, R. M.; NASCIMENTO, E. M.; SANTA ROSA, B. P.; DANTAS, G. N.; FERREIRA, D. O. L.; GONÇALVES, R. C.; ULMANN, L. S.; LANGONI, H. Soroprevalência da leptospirose em ovinos da região Centro-Oeste do estado de São Paulo. **Veterinária e Zootecnia**, v. 23, n. 2, p. 297- 305, 2016.

ARAUJO NETO, J. O.; SILVA, M. L. C. R.; AZEVEDO, S. S.; BATISTA, C. S. A.; GOMES, A. A. B.; ALVES, C. J.; LIMA, F. S.; ALVES, F. A. L. Soroprevalência e fatores de risco associados a infecção por *Leptospira* spp. em rebanhos caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Rio Grande do Norte, Brasil. **Anais Encontro Nacional de Diagnostico Veterinário**, Campo Grande, MS, p.201-202, 2008.

ARAÚJO NETO, J. O.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S.; SILVA, M. L. C. R.; BATISTA, C. S. A. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.47, n.2, p.150-155, 2010.

ASSENGA, J. A.; MATEMBA, L. E.; MULLER, S. K.; MHAMPHI, G. G.; KAZWALA, R. R. Predominant Leptospiral Serogroups Circulating among Humans, Livestock and Wildlife in Katavi-Rukwa Ecosystem, Tanzania. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 3, 2015.

AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J.; ANDRADE, J. S. L.; BATISTA, C. S. A.; CLEMENTINO, I. J.; SANTOS, F. A. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 3, p. 167-70, 2004.

AZÓCAR-AEDO, L.; MONTI, G.; JARA, R. *Leptospira* spp. in domestic cats from different environments: prevalence of antibodies and risk factors associated with the seropositivity. **Animals**, v. 4, p. 612-626, 2014.

BARBUDO-FILHO, J.; GIRIO, R. J. S.; MATHIAS, L. A.; OLIVEIRA, A. V.; MARINHO, M. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira interrogans* em soros de ovinos do Estado de São Paulo. Avaliação do sorotipo jequitaiia de *Leptospira biflexa* como antígeno de triagem sorológica. **Ars Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 26-32, 1999.

BARCELLOS, C.; LAMMERHIRT, C. B.; ALMEIDA, M. A. B.; SANTOS, E. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos, **Caderno Saúde Pública**, v.19, p.1283-1292, 2003.

BENSCHOP, J.; HEUER, C.; JAROS, P.; COLLINS-EMERSON, J.; MIDWINTER, A.; WILSON, P. Sero-prevalence of leptospirosis in workers at a New Zealand slaughterhouse. **New Zealand Medical Journal**, v. 122, n. 1307, p. 39–47, 2009.

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 Infectious Diseases**, v.3, n.12, p.757-771, 2003.

BLANCO, R. M.; SANTOS, L. F.; GALLOWAY, R. L.; et al. Isthemic microagglutination test (MAT) good for predicting the infecting serogroup for

leptospirosis in Brazil Comparative Immunology, **Microbiology and Infectious Diseases**, v.44, p.34-36, 2016.

BROD, C.S.; FEHLBERG, M.F. Epidemiologia da leptospirose em bovinos. **Ciência Rural**, v. 22, p. 239-245, 1992.

BROD, C. S.; MARTINS, L .F .S.; NUSSBAUN, J. R.; et al. Leptospirose bovina na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v.14, p.15-20, 1995.

BUYUTIMKIN, B.; SAIER, M. H. Comparative genomic analyses of transport proteins encoded with the genomes of *Leptospira* species. **Microbial Pathogenesis**, v.88, p.52-64. 2015.

CALDAS, E. M.; VIEGAS, E. A.; MASSA, L. F. M.; REIS, R. Comportamento de estirpes apatogênicas no diagnóstico sorológico de leptospirose em animais. **Arquivos da Escola de Medicina Veterinária UFBA**, v. 14, n. 1, p. 324, 1991.

CAMERON, C. E. Leptospiral structure, physiology and metabolism. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.387, p.21-42, 2015.

CAMINITI, T. R.; ROMANI, R. F.; WONG, C. P.; ALARCON, V. J. Prácticaslaborales de riesgoen cultivadores de arroz del valle del Alto Mayo, Región San Martín, Perú. **Revista Peruana de Epidemiología**, v. 15, 2011.

CARVALHO, S. M.; GONÇALVES, L. M. F.; MACEDO, N. A.; GOTO, H.; SILVA, S. M. M. S.; MINEIRO, A. L. B. B.; KANASHIRO, E. H. Y.; COSTA, F. A. L. Infecção por *leptospiras* em ovinos e caracterização da resposta inflamatória renal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 8, p. 637-642, 2011.

CHADSUTHI, S.; BICOUT, D. J.; WIRATSUDAKUL, A.; SUWANCHAROEN, D.; PETKANACHANAPONG, W.; MODCHANG, C.; TRIAMPO, W.; RATANAKORN, P.; CHALVET-MONFRAY, K. Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010-2015. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 2, 2017.

CICERONI, L.; LOMBARDO, D.; PINTO, A.; CIARROCHI, S.; SIMEONI, J. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in sheep and goats in Alto Adige-South Tyrol. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 47, n. 3, p. 217-223, 2000.

COSTA, F.; HAGAN, J. E.; CALCAGNO, J. KANE, M.; TORGERSON, P.; MARTINEZ-SILVEIRA, M. S.; STEIN, C.; ABELLA-RIDER, B.; KO, A. L. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, 2015.

CUNHA, C. E. P.; FELIX, S. R.; SEIXAS NETO, A. C. P.; CAMPELLO-FELIX, A.; KREMER, F. S.; MONTE, L. G.; AMARAL, M. G.; NOBRE, M. O.; SILVA, É. F.; HARTLEBEN, C. P.; MCBRIDE, A. J. A.; DELLAGOSTIN, O. A. Infection with *Leptospira kirschneri* Serovar Mozdok: First Report from the Southern Hemisphere. **The American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 94, p. 519-521, 2016.

DREYFUS, A.; DYAL, J. W.; PEARSON, R.; KANKYA, C.; KAJURA, C.; ALINAITWE, L.; KAKOOZA, S.; PELICAN, K. M.; TRAVIS, A. D.; MAHERO, M.; BOULWARE, D. R.; MUGISHA, L. *Leptospira* Seroprevalence and Risk Factors in Health Centre Patients in Hoima District, Western Uganda. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 8, 2016.

ELLIS, W. A. Animal leptospirosis. **Current Topics in Microbiology and Immunology** v.387, p.99-137, 2015.

ESCADÓN-VARGAS, K.; OSORIO, L.; ASTUDILLO-HERNÁNDEZ, M. Seroprevalence and factors associated with *Leptospira* infection in an urban district of Cali, Colombia. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 5, p. 1-14, 2017.

ESCOCIO, C.; GENOVEZ, M. E.; CASTRO, V.; PIATTI, R. M.; GABRIEL, F. H. L.; CHIEBAO, D. P.; AZEVEDO, S. S.; VIEIRA, S. R.; CHIBA, M. Influência das condições ambientais na transmissão da leptospirose entre criações de ovinos e bovinos da região de Sorocaba, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 371-379, 2010.

FAINE, S.B.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**. 2. Ed. Melbourne, Australia: MediSci, 1999, 296p.

FAO Geo Network-geo-spatial data [Internet]. 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/geonetwork/srv/en/main.home>>. Acesso em: 28 mar. 2017.

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, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.

FERNANDES, C. E. **Papel do ovino na cadeia epidemiológica da leptospirose pela *Leptospiraspp.* sorovarHardjo: fatores de risco que envolvem a infecção e transmissão entre ovinos e bovinos**, 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal, Segurança Alimentar e o Ambiente), Instituto Biológico de São Paulo, Brasil.

FERNANDES, L. G.; SIQUEIRA, G. H.; TEIXEIRA, A. R. F.; SILVA, L. P.; FIGUEREDO, J. M.; COSATE, M. R.; VIEIRA, M. L.; NASCIMENTO, A. L. T. *Leptospiraspp*: novel insights into host-pathogen interactions. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.176, p.50- 57, 2016.

FIGUEIREDO, C. M.; MOURÃO, A. C.; OLIVEIRA, M. A.; et al. Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 34 n. 4, 331-338, 2001.

FIGUEIREDO, I. L.; HIGINO, S. S. S.; ALVES, C. J.; DEL FAVA, C.; CARRETERO, M. E.; AZEVEDO, S. S. Interrelação entre frequência de anticorpos anti-*Leptospira spp.* e exames histopatológicos (Hematoxilina-eosina e Warthin-Starry) em suínos abatidos no semiárido paraibano. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, p. 27-34, 2013.

FONTES, A. P. A.; RIBEIRO, D. P.; JESUS, L. S. B.; et al. Aspectos funcionais respiratórios na leptospirose humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 161-165, 2010.

GULATI, S.; GULATI, A. Pulmonary manifestations of leptospirosis. **LungIndia**, v. 29, p. 347–353, 2012.

GUIMARÃES, L. K. P. **Geoepidemiologia da infecção por *Leptospiraspp.* em bovinos do sítio histórico e patrimônio cultural Kalunga**, Goiânia: UFG, 2017. 54p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, 2017.

HAAKE, D. A.; LEVETT, P. N. Leptospirosis in humans. **Curr Top Microbiol Immunol**. v.387, 2015, p.65-97.

HARTSKEERL, R. A.; COLLARES-PEREIRA, M.; ELLIS, W. A. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, p. 494–501, 2011.

HEAT, S. E.; JOHNSON, R. Leptospirosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1518-1523, 1994.

HERRMANN, G. P.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; HADDAD, J. P. A.; RESENDE, J. R.; RODRIGUES, R. O.; LEITE, R. C. Soroprevalência de aglutininas anti-*Leptospiraspp.* em ovinos nas Mesorregiões Sudeste e Sudoeste do Estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 2, p. 443-448, 2004.

HERRMANN, G. P.; RODRIGUES, R. O.; MACHADO, G.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. Soroprevalencia de leptospirose em bovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.13, n.1, p. 131-138, 2012.

HIGINO, S. S. S., SANTOS, F. A.; COSTA, D. F.; SANTOS, C. S. A. B.; SILVA, M. L. C. R.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S. Flock-level risk factors associated with leptospirosis in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 109, n. 1-2, p. 158-161, 2012.

HOMEM, V. S. F.; HEINEMANN, M. B.; MORAES, Z. M. M.; VASCONCELLOS, S. A.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.3, p.173-180, 2001.

JIN, D.; OJCIUS, D. M.; SUN, D.; et al. *Leptospira interrogans* induces apoptosis in macrophages via caspase-8 and caspase-3 dependent pathways. **Infection and Immunity**. v.77, p.799-809, 2009.

JOUGLARD, S.D.D.; BROD, C.S.; Leptospirose em caes: prevalencia e fatores de risco no meio rural do Municipio de Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.67, n.2, p.181-185, 2000.

IBGE, 2010. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/sinopse/sinopse_tab_brasil_zip.shtm. Acesso em: 10 set. 2017.

KHAIRANI-BEJO, S.; BAHAMAN, A. R.; ZAMRI-SAAD, M.; MUTALIB, A. R. The survival of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo in the Malaysian environment. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 3, p. 123-129, 2004.

KO, A.I.; GOARANT, C.; PICARDEAU, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen, **Nature Reviews Microbiology**, v.7, p.736–747, 2009.

LAMBERT, A.; PICARDEAU, M.; HAAKE, D. A.; SERMSWAN, R. W.; SRIKRAM, A.; ADLER, B.; MURRAY, G. A. FlaA proteins in *Leptospira interrogans* are essential for motility and virulence but are not required for formation of the flagellum sheath. **Infection and Immunity**, v.80, n.6, p.2019-2025, 2012.

LAU, C. L.; WATSON, C. H.; LOWRY, J. H.; DAVID, M. C.; CRAIG, S. B.; WYNWOOD, S. J.; KAMA, M.; NILLES, E. J. Human Leptospirosis Infection in Fiji: An Ecoepidemiological Approach to Identifying Risk Factors and Environmental Drivers for Transmission. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, p.1-25, 2016.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 1, p. 296-326, 2001.

LEVETT, P. N. Systematics of *Leptospiaceae*. **Current Topics Microbiology and Immunology**. v.387, p. 11-20, 2015.

LI, L.; OJCIUS, D. M.; YAN, J. Comparison of invasion of fibroblasts and macrophages by high- and low-virulence *Leptospira* strains: colonization of the host-cell nucleus and induction of necrosis by the virulent strain. **Archives Microbiology**, v. 188, p. 591-598, 2007.

LIMA, P. C. R. Diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: exames laboratoriais em fêmeas suínas descartadas em frigoríficos e em reprodutores de granjas com e sem problemas de reprodução, durante o período de um ano. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 24, p. 119-121, 1996.

LUCAS, D. S. D.; LO, M.; BULACH, D. M.; QUINSEY, N. S.; MURRAY, G. L.; ALLEN, A.; ADLER, B. Recombinant LipL32 stimulates interferon-gamma production in cattle vaccinated with a monovalent *Leptospira borgpeterseni* serovar *Hardjo* subtype *Hardjobovis* vaccine. **Veterinary Microbiology**. v.169, p.163-170, 2014.

MACHADO, A. C.; OLIVEIRA, J. M. B.; SILVA JÚNIOR, J. L.; ASSIS, N. A.; BRANDESPIM, D. F.; MATHIAS, L. A.; MOTA, R. A.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W. Epidemiologic analysis of *Leptospira* spp. infection among sheep in Pernambuco state, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, p. 1-7, 2016.

MARTINS, G.; PENNA, B.; HAMOND, C.; LEITE, C. K.; SILVA, A.; FERREIRA, A.; BRANDÃO, F.; OLIVEIRA, F.; LILENBAUM, W. Leptospirosis as the most frequent infectious disease impairing productivity in small ruminants in Rio de Janeiro, Brazil. **Tropical Animal Health Production**, v. 44, p. 773-777, 2012.

MELO, L. S. S.; CASTRO, M. B.; LEITE, R. C.; MOREIRA, E. C.; MELO, C. B. Principais aspectos da infecção por *Leptospiras* em ovinos. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1235-1241, 2010.

MORGAN, J.; BORNSTEIN, S. L.; KARPATI, A. M.; et al. Outbreak of Leptospirosis among Triathlon Participants and Community Residents in Springfield, Illinois, 1998. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, p. 1593-1599, 2002.

MUSSO, D.; SCOLA, B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: a challenge. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**. v.46, p.245-252, 2013.

OLIVEIRA, F. C. S. **Leptospirose bovina no Estado da Bahia Brasil. Prevalência de sorovares predominantes, distribuição espacial e fatores de risco**. São Paulo: USP, 2008. 123p. Dissertação (Mestrado em Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2008.

PETRAKOVSKY, J.; BIANCHI, A.; FISUN, H.; NÁJERA-AGUILAR, P.; PEREIRA, M. A. Animal Leptospirosis in Latin America and the Caribbean countries: Reported outbreaks and literature review (2002–2014). **International Journal Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 10, 10770–10789, 2014.

PICARDEAU, M.; BERTHERAT, E.; JANCLOES, M.; SKOULLOUDIS, A. N.; DURSKI, K.; HARTSKEERL, R. A. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 78, n. 1, p. 1-8, 2014.

PINTO, P. S.; LOUREIRO, A. P.; PENNA, B.; et al. Usage of *Leptospira* spp. local strains as antigens increases the sensitivity of the serodiagnosis of bovine leptospirosis. **Acta Tropica**. v.149, p.163-167, 2015.

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

QUERINO, A. M. V.; DELBEM, Á. C. B.; OLIVEIRA, R. C.; et al. Risk factors associated to leptospirosis in dogs in Londrina City – PR, **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, p. 27-34, 2003.

SAITO, M.; VILLANUEVA, S. Y.; CHAKRABORTY, A.; MIYAHARA, S.; SEGAWA, T.; ASOH, T.; OZURU, R.; GLORIANI, N. G.; YANAGIAHARA, Y.; YOSHIDA, S. Comparative analysis of *Leptospira* strains isolated from environmental soil and water in the Philippines and Japan. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 2, 601-609, 2013.

SALGADO, M.; OTTO, B.; SANDOVAL, E.; et al. A cross sectional observational study to estimate herd level risk factors for *Leptospira* spp. serovars in small holder dairy cattle farms in southern Chile. **BioMed Central**, v. 10, n. 126, p. 1-6, 2014.

SALLES, R. S.; LILENBAUM, W. Leptospirose bovina no Brasil. CFMV, Brasília, v. 21, p. 42-46, 2006.

SAMSUDIN, S.; MASRI, S. N.; JAMALUDDIN, T. Z. M. T.; SAUDI, S. N. S.; ARIFFIN, U. K. M.; NAMRAN, F.; OSMAN, M. Seroprevalence of Leptospiral Antibodies among Healthy Municipal Service Workers in Selangor. **Advances in Public Health**, v. 2015, p. 1-6, 2015.

SCHNEIDER, M. C.; NAJERA, P.; PEREIRA, M. M.; MACHADO, G.; DOS ANJOS, C. B.; RODRIGUES, R. O.; CAVAGNI, G. M.; MUÑOZ-ZANZI, C.; CORBELLINI, L. G.; LEONE, M.; BUSS, D. F.; ALDIGHERI, S.; ESPINAL, M. A. Leptospirosis in Rio Grande do Sul, Brazil: An Ecosystem Approach in the Animal-Human Interface. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 11, 2015.

SEIXAS, L. S.; MELO, C. B.; LEITE, R. C.; MOREIRA, E. C.; MCMANUS, C. M.; CASTRO, M. B. Anti-*Leptospira* sp. agglutinins in ewes in the Federal District, Brazil. **Tropical Animal Health & Production**, v. 4, n. 1, p. 9-11, 2011.

SETHI, S.; SOOD, A.; POOJA; et al. Leptospirosis in northern India: a clinical and serological study. Southeast Asian. **Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 34, n. 4, p. 822-825, 2003.

SILVA, E. F.; BROD, C. S.; CERQUEIRA, G. M.; BOURSCHEIDT, D.; SEYFFERT, N.; QUEIROZ, A.; SANTOS, C. S.; KO, A. L.; DELLAGOSTIN, O. A. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. **Veterinary Microbiology**, v. 121, n. 1-2, p. 133-149, 2007.

SILVA, É. F.; SANTOS, C. S.; ATHANAZIO, D. A.; SEYFFERT, N.; SEIXAS, F. K.; CERQUEIRA, G. M.; FAGUNDES, M. Q.; BROD, C. S.; REIS, M. G.;

DELLAGOSTIN, O. A.; KO, A. L. Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in a hamster model. **Vaccine**, v. 26, n. 31, p. 3892-3896, 2008.

SILVA, É. F.; CERQUEIRA, G. M.; SEYFFERT, N.; SEIXAS, F. K.; HARTWIG, D. D.; ATHANAZIO, D. A.; PINTO, L. S.; QUEIROZ, A.; KO, A. L.; BROD, C. S.; DELLAGOSTIN, O. A. *Leptospiranoguchii* and Human and Animal Leptospirosis, Southern Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 4, p. 621-623, 2009.

SILVA, É. F.; FELIX, S. R.; CERQUEIRA, G. M.; FAGUNDES, M. Q.; NETO, A. S.; GRASSMANN, A. A.; AMARAL, M.; GALLINA, T.; DELLAGOSTIN, O. A. Preliminary Characterization of *Mus musculus*-Derived Pathogenic Strains of *Leptospira borgpetersenii* Serogroup Ballum in a Hamster Model. **The American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 83, p. 336-337, 2010.

SILVA, F. J.; SILVA, G. C. P.; LOFFLER, S. G.; et al. Isolation of *Leptospira* spp. from a man living in a rural area of the Municipality of Cruz Alta, RS, Brazil, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.1, p.47-51, 2015.

SIMÕES, L. S.; SASAHARA, T. H. C.; FAVARON, P. O.; MIGLINO, M. A. Leptospirose – Revisão. **Pubvet**, v. 10, n. 2, p. 138-146, 2016.

SUBHARAT, S. **Epidemiology, diagnosis and vaccination control of leptospirosis in farmed deer in New Zealand**, 2010, 271f. Tese (Doctor of Philosophy in Veterinary Clinical Science) - Massey University Palmerston North, New Zealand. Disponível em: <https://mro.massey.ac.nz/handle/10179/1678>. Acessado em 25 de Outubro, 2017.

VASCONCELLOS, S. A.; BARBARINI JÚNIOR, O.; UMEAHARA, O.; et al. Leptospirose bovina. Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Rio Grande do Sul. Período de janeiro a abril de 1996. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 64, n. 2, p. 7-15, 1997.

ZACARIAS, F. G. S.; VASCONCELLOS, S. A.; ANZAI, E. K.; GIRALDI, N.; FREITAS, J. C.; HARTSKEERL, R. Isolation of *Leptospira* Serovars *Canicola* and *Copenhageni* from cattle urine in the state of Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n. 4, p. 484-488, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, International Leptospirosis Society. 2003. **Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control**. Geneva, Switzerland, p.64.

Anexos

Anexo 1

Parecer circunstanciado do CEP

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo epidemiológico da leptospirose humana em um distrito rural de Pelotas/RS

Pesquisador: Everton Fagunde da Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50084015.0.0000.5317

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pelotas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.352.717

Apresentação do Projeto:

A leptospirose é uma zoonose de importância social e econômica por apresentar elevada incidência, alto custo hospitalar e perdas de dias de trabalho, como também por sua morbidade e letalidade. A leptospirose humana possui um amplo espectro de manifestações clínicas, que vão desde a infecção subclínica, podendo apresentar doença febril antictérica com ou sem meningite, até a forma grave com icterícia, insuficiência renal, hemorragia e óbitos. O diagnóstico da leptospirose humana continua sendo um sério problema médico e de saúde pública. Na maioria dos casos, a história epidemiológica, os sinais e sintomas clínicos da doença não permitem o diagnóstico da enfermidade, sendo necessária a confirmação laboratorial. Em relação a prevalência da leptospirose humana no meio rural de Pelotas, nenhum estudo epidemiológico foi publicado nos últimos 10 anos. Neste contexto, o presente projeto tem como objetivo realizar um estudo transversal da leptospirose humana, em moradores de Cerro Alegre, um distrito rural de Pelotas, Rio Grande do Sul.

Objetivo da Pesquisa:

Realizar um estudo transversal da leptospirose humana, em moradores de Cerro Alegre, um distrito rural de Pelotas, Rio Grande do Sul.

Endereço: Rua Prof. Araújo, 485 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4980

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



Continuação do Parecer: 1.352.717

Objetivo Secundário:

Coletar sangue de humanos para determinar a frequência de indivíduos reagentes no teste de soroaglutinação microscópica (MAT), utilizando cepas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS); Determinar o título de aglutininas anti-leptospiras através do MAT em amostras de soros humanos; Isolar leptospiras do sangue de casos suspeitos de leptospirose; Aplicar um questionário epidemiológico na população pesquisada, visando a realização de uma análise de exposição-desfecho.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os autores relatam que o risco da pesquisa é baixo. Os benefícios apontado são: O estudo permitirá o conhecimento do status da doença na população estudada, além de proporcionar ações de educação em saúde para a comunidade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa tem grande importância para o conhecimento da exposição epidemiológica da referida população a leptospirose. Estes resultados serão de suma importância para traçar políticas de ação para combater/acompanhar o problema.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os autores apresentam o TCLE e folha de rosto assinada pelo Coordenador do Projeto.

Recomendações:

OK

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

OK

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PS_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_604851.pdf	07/10/2015 15:19:36		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	07/10/2015 15:18:44	Éverton Fagonde da Silva	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto2.pdf	07/10/2015 15:16:36	Éverton Fagonde da Silva	Aceito

Endereço: Rua Prof Araújo, 485 sala 301
 Bairro: Centro CEP: 96.026-380
 UF: RS Município: PELOTAS
 Telefone: (53)3254-4080 Fax: (53)3221-3554 E-mail: cep.fmed@gmail.com

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS



Continuação do Parecer: 1.352.717

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_humanos.pdf	07/10/2015 15:11:05	Everton Fagundes da Silva	Aceito
---	---------------------	------------------------	------------------------------	--------

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não


PELOTAS, 06 de Dezembro de 2015

Assinado por:
Patricia Abrantes Duval
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. Araújo, 485 sala 201
Bairro: Centro CEP: 96.020-360
UF: RS Município: PELOTAS
Telefone: (53)3254-4080 Fax: (53)3221-3554 E-mail: cep.farmed@gmail.com

Anexo 2

Projeto de Pesquisa

	Universidade Federal de Pelotas Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Departamento de Pesquisa
Estudo epidemiológico da leptospirose humana em um distrito rural de Pelotas/R	

1. Identificação

Título do Projeto: Estudo epidemiológico da leptospirose humana em um distrito rural de Pelotas/R
Data Cadastro: 01/03/2018
Unidade: FV - Faculdade de Veterinária
Grupo de Pesquisa: GEDTA - Grupo de Estudos em Doenças Transmitidas por Animais
Período de Realização: 01/03/2018 até 01/03/2020
Carga Horária Semanal: 2 **Código COCEPE:** 8843

2. Dados Gerais

Grande Área CNPQ: 5.00.00.00-4 - Ciências Agrárias

Área CNPQ: 5.05.00.00-7 - Medicina Veterinária

Resumo: A leptospirose é uma zoonose de importância social e econômica por apresentar elevada incidência, alto custo hospitalar e perdas de dias de trabalho, como também por sua morbidade e letalidade. A leptospirose humana possui um amplo espectro de manifestações clínicas, que vão desde a infecção subclínica, podendo apresentar doença febril antitérica com ou sem meningite, até a forma grave com icterícia, insuficiência renal, hemorragia e óbitos. O diagnóstico da leptospirose humana continua sendo um sério problema médico e de saúde pública. Na maioria dos casos, a história epidemiológica, os sinais e sintomas clínicos da doença não permitem o diagnóstico da enfermidade, sendo necessária a confirmação laboratorial. Em relação a prevalência da leptospirose humana no meio rural de Pelotas, nenhum estudo epidemiológico foi publicado nos últimos 10 anos. Neste contexto, o presente projeto tem como objetivo realizar um estudo transversal da leptospirose humana, em moradores de Cerrito Alegre, um distrito rural de Pelotas, Rio Grande do Sul.

Envolve experimentação com animais sob registro CEEA: Não

Objetivos: **Objetivo Geral** Realizar um estudo transversal da leptospirose humana, em moradores de Cerrito Alegre, um distrito rural de Pelotas, Rio Grande do Sul. **Objetivos específicos** - Coletar sangue de humanos para determinar a frequência de indivíduos reagentes no teste de soroprecipitação microscópica (MAT), utilizando oepas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS); - Determinar o título de aglutininas anti-leptospiras através do MAT em amostras de soros humanos; - Isolar leptospiras do sangue de casos suspeitos de leptospirose; - Aplicar um questionário epidemiológico na população pesquisada, visando a realização de uma análise de exposição-defecho

3. Equipe

Coordenador

SIAPE	Nome	Email
1732097	EVERTON FAGONDE DA SILVA	efsilva@ufpel.edu.br


Professores

SIAPE - Nome	Unidade	C.H. Sem.	C.H. Total
01110710038 - AMILTON CLAIR PINTO SEIXAS NETO	Não ufpel	5	1045
61478571004 - FLAVIA ALEIXO VASCONCELLOS	Não ufpel	2	418
1227535 - ODIR ANTONIO DELLAGOSTIN	CDTEC - Centro de Desenvolvimento Tecnológico	1	209

Alunos

Matricula - Nome	Curso	C.H. Sem.	C.H. Total
13102024 - Tanice Paheco Fortes	Veterinária	6	1046
16103468 - Caroline Dewec	Veterinária	2	418
13100110 - LEONARDO MARINS	Medicina Veterinária	12	2608
14101878 - Gilmar Batista Machado	Veterinária	20	4180
14103761 - PAULA SOARES PACHECO	Medicina Veterinária	8	1872

Para validar este documento acesse o site da UFPEL Item Validador de documentos e informe o código 8X32117K8V

	Universidade Federal de Pelotas Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação Departamento de Pesquisa
	Estudo epidemiológico da leptospirose humana em um distrito rural de Pelotas/R

4. Fonte financiadora

Fonte Financeira	Valor
- Recursos próprios	R\$ 0,00

O Coordenador deste projeto declara, formalmente, que:

- I. Tem pleno conhecimento dos trâmites a serem seguidos para cadastro junto ao Departamento de Pesquisa da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PRPPG) e o registro no COCEPE;
- II. Se responsabiliza pelo encaminhamento do projeto em seu Departamento e no Conselho Superior da unidade para sua aprovação;
- III. Assume inteira responsabilidade pela veracidade das informações contidas na presente solicitação e pelos danos pessoais, materiais e ambientais, decorrentes da execução do projeto e aplicação de seus resultados.

 EVERTON FAGONDE DA SILVA - Coordenador
 18 Novembro 2017

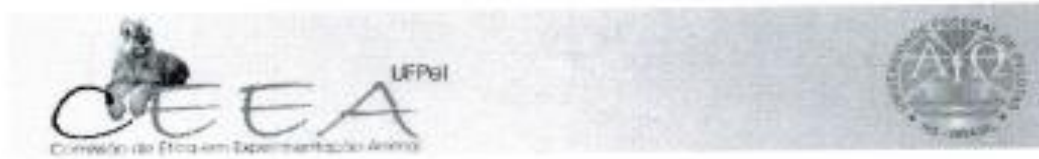
 Chefe do Departamento

 Presidente do Conselho Departamental

Para validar este documento acesse o site da UFPEL item Validador de documentos e informe o código 8X32117K8V

Anexo 3

Parecer da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA – UFPel)



Pelotas, 04 de abril de 2017

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Isolamento de micro-organismos patogênicos durante o abate de animais em frigoríficos**” registrada com o nº 23110.000679/2017-41, sob a responsabilidade de **Éverton Fagonde da Silva** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 27/03/2017.

Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	05/04/2017 a 31/12/2022
Espécie/linhagem/raça	Bovinos, ovinos, suínos, aves/variável
Nº de animais	384 de cada espécie
Idade	variável
Sexo	Ambos
Origem	Frigoríficos da região sul do Rio Grande do Sul

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao **COBALTO** para posterior registro no **COCEPE** (código para cadastro nº **CEEA 0678-2017**).



M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix
Presidente da CEEA

Ciente em: ____/____/2017

Assinatura do Professor Responsável: _____