

ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO POR *Leptospira spp.* EM GATOS

Joyce Cappa Mittestainer¹
Alessandra Melchert²
José Francisco Antunes Ribeiro³
Raissa Saran Sartori⁴
Samea Fernandes Joaquim⁴
Katia Bresciani⁵
Helio Langoni⁶

RESUMO

A leptospirose destaca-se dentre as zoonoses de maior importância devido à sua ampla distribuição geográfica e por ter sua ocorrência favorecida principalmente em locais com climas tropicais e subtropicais, com altas temperaturas e índices pluviométricos. Em felinos, a leptospirose é de ocorrência rara, não apresentando especificidade por reagirem com diferentes sorotipos de *Leptospira spp.* São considerados mais resistentes à infecção. Porém, já foi comprovada experimentalmente a ocorrência de leptospirose em gatos inoculados com a bactéria sem que ocorra a manifestação de sintomas. O objetivo do presente estudo foi pesquisar anticorpos anti-leptospíricos frente a diferentes sorovares de leptospirose pela prova de Soroaglutinação Microscópica em soros de 155 felinos domiciliados. Nenhuma das amostras avaliadas revelou soropositividade para os 13 sorovares avaliados.

Palavras-chave: felinos, leptospirose, aglutininas anti-leptospíricas, soroaglutinação microscópica.

SEROLOGICAL STUDY OF *LEPTOSPIRA SPP.* INFECTION IN CATS

ABSTRACT

Leptospirosis is pointed out between the most important zoonosis due to its wide geographic distribution and for having its occurrence favored in tropical and subtropical climates, with present high temperatures and rain indexes. In cats, leptospirosis is unusual, not present specificity because they react to different types of *Leptospira spp.* They are considered more resistent to the infection. However, was proved the occurrence of *Leptospira spp.* in the urine of cats experimentally inoculated with the bactéria with no clinical signs. The aim of this study was the research of antibodies face to different leptospira sorovars by the Agglutination Test in blood serum of 155 domestic cats. None of the evaluated samples showed serum positivy to the 13 tested sorovars.

Keywords: cats, leptospirosis, anti-leptospiral agglutinins, agglutination test.

¹ Médica Veterinária, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Animal, FMVZ-UNESP-Botucatu

² Profa. Ass. Dra. Clínica Médica de Pequenos Animais – FMVZ-UNESP- Botucatu

³ Médico Veterinário, Clínica Médica de Pequenos Animais - Departamento de Clínica Veterinária - FMVZ-UNESP-Botucatu

⁴ Médica Veterinária Residente - Área Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - FMVZ-UNESP- Botucatu

⁵ Profa. Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

⁶ Prof. Titular Área Zoonoses e Saúde Pública, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - FMVZ-UNESP-Botucatu. Contato principal para correspondência

ESTUDIO SEROLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR LEPTOSPIRA SPP. EN GATOS

RESUMEN

La leptospira se destaca dentro de las zoonosis de mayor importancia debido a su amplia distribución geográfica y por tener su ocurrencia favorecida principalmente en localidades con climas tropicales y subtropicales, con altos índices pluviométricos y altas temperaturas. En felinos la leptospirosis es de ocurrencia rara, no se presenta especificidad por reacción con diferentes serotipos de *Leptospiraspp.* Son considerados más resistentes a la infección. Aunque ya fue comprobada experimentalmente la ocurrencia de leptospiruria en gatos inoculados con la bacteria sin manifestación de síntomas. El objetivo del presente estudio fue la búsqueda de anticuerpos frente a diferentes serovares de leptospirosis por la prueba de seroaglutinación microscópica en sueros de 155 felinos domésticos. Ninguna de las muestras analizadas reveló seropositividad para los 13 serovares analizados.

Palabras clave: felinos, leptospira, aglutinación antileptospira, seroaglutinación microscópica.

INTRODUÇÃO

O processo de urbanização e as mudanças ambientais, como as relacionadas ao clima, levam a um maior risco de contaminação ambiental e disseminação de doenças. Dentre as zoonoses a leptospirose destaca-se pela sua ampla distribuição geográfica, principalmente nas condições tropicais e subtropicais, pelas altas temperaturas e índices pluviométricos aumentados, principalmente em países em desenvolvimento, com condições precárias de saneamento básico e propensos às inundações.

A leptospirose é causada por diferentes sorovares de leptospirosis, e a infecção em humanos e em animais se dá pelo contato direto ou indireto com a urina contaminada de outros animais, ou pela penetração do agente a partir de membranas mucosas ou pela pele lesada, multiplicando-se no sangue e em órgãos-alvo como rins e fígado, podendo causar injúria renal e insuficiência hepática (1,2,3).

A leptospirose em felinos ocorre com menor frequência, sugerindo-se que sejam resistentes a essa doença, porém constituem potenciais fontes de infecção visto que podem excretar leptospirosis pela urina por mais de três meses após infecção experimental sem manifestar sintomas (4,5,6).

Larsson et al. (7), inocularam gatos pela via subcutânea com os sorovares *Icterohaemorrhagiae* e *Canicola*, e não observaram alterações clínicas, mas detectaram aglutininas anti-leptospíricas 8 a 12 semanas após inoculação, e leptospirúria apenas nos animais inoculados com o sorovar *Canicola*, 2 a 4 semanas após inoculação. Foi realizada também a infecção experimental a partir da ingestão de ratos infectados e de seus órgãos, como rins e bexiga, não se evidenciando sinais clínicos, mas apenas leptospirúria em um dos animais 12 dias após o fornecimento das vísceras, e 15 dias após a ingestão dos ratos. Duas semanas após a infecção experimental todos os animais foram positivos à Seroaglutinação Microscópica, com detecção de IgM nos gatos alimentados com ratos ou vísceras, e IgG nos alimentados apenas com vísceras. Tal resultado mostra a ocorrência da infecção.

Langoni et al (8) avaliaram 200 amostras de soros de gatos atendidos no período de um ano em clínicas particulares e no Hospital Veterinário da FMVZ - Unesp Campus de Botucatu para verificar a presença de aglutininas anti-leptospíricas, encontrando 4,5% de resposta aos sorovares *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Grippotyphosa*, *Copenhageni* e *Andamana*, com

títulos variando de 100 a 400, concluindo pela baixa soroprevalência de anticorpos anti-leptospíricos nesta espécie.

Em estudo realizado em um hospital veterinário em Quebec, por Lapointe et al. (9), 40 amostras de sangue de gatos foram testadas para os sorovares *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Bratislava*, *Pomona*, *Autumnalis*, *Kirschneri* e *Grippotyphosa*, considerando como positivos títulos de anticorpos ≥ 100 UI e como potenciais casos clínicos títulos de anticorpos ≥ 200 UI. Nove animais foram soropositivos com título de 100 UI, e um com título de 200 UI, sendo que todos foram reagentes para o sorovar *Bratislava* e apenas um para o *Autumnalis*. A alta soropositividade obtida sugere que a doença possa ter maior importância clínica, e que gatos com leptospirose tendem a apresentar títulos mais baixos.

A pesquisa de Yanaguita et al. (10) com amostras de 200 soros felinos, em São Paulo, revelou 14,5% de positividade para diferentes sorovares de leptospirosas, sendo os mais frequentes: *Shermani*, *Pomona* e *Icterohaemorrhagiae*. Resultado de outro inquérito soroepidemiológico com 172 amostras de soro felino em São Paulo revelou 12,87% de positividade, com maior prevalência dos sorovares *Icterohaemorrhagiae* e *Pomona* (11).

Apesar da leptospirose felina ser relatada como de rara ocorrência (4), inquéritos sorológicos mostram reações positivas, como Santos et al. (12), que obtiveram 22,6% de positividade com animais reagentes para os sorovares *Pyrogenes*, *Bratislava* e *Autumnalis*. Verifica-se diferenças nos resultados sorológicos provavelmente de acordo com as regiões de procedência dos animais.

Devido à importância dos felinos como animais de estimação e por terem conquistado um maior espaço e estreitado a relação humano-animal, aumenta-se o risco de ocorrência de zoonoses no núcleo familiar, principalmente por poderem ser portadores assintomáticos de várias enfermidades, incluindo-se a leptospirose. (4,5,6)

Tendo em vista o aumento no atendimento de felinos em hospitais veterinários, o objetivo desse trabalho foi avaliar a soroprevalência de anticorpos anti *Leptospira spp.* pela utilização de sorologia realizada junto ao Núcleo de Pesquisas em Zoonoses – NUPEZO, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Botucatu, SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram escolhidas aleatoriamente 155 amostras de soro de gatos domiciliados atendidos no período de 01/04/2014 a 01/09/2014 no Hospital Veterinário da FMVZ - Unesp Campus de Botucatu (n = 100) e de Araçatuba (n = 55) para pesquisar a presença de aglutininas anti-leptospíricas. O sangue foi coletado por venopunção jugular e, após obtenção do soro, armazenado em microtubos estéreis de 1,5mL a -20°C até seu processamento.

Foi utilizado o teste de soroprecipitação microscópica-SAM, de acordo com o Ministério da Saúde (13). Inicialmente realizou teste de triagem frente à vários sorovares, e em caso de positividade as amostras soropositivas, seriam submetidas à titulação, considerando-se como reagentes aquelas com título igual ou superior a 100, segundo as normas do Ministério da Saúde. Foram utilizados sorovares mantidos em meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) (DIFCO Laboratories[®], Detroit, USA), a 28°C, a saber: *Australis*, *Bratislava*, *Autumnalis*, *Canicola*, *Cynopteri*, *Djasiman*, *Grippotyphosa*, *Copenhageni*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Pyrogenes*, *Hardjo*, *NUP-01* pertencente ao sorogrupo *Canicola*, isolada no Núcleo de Pesquisa em Zoonoses – NUPEZO, a partir de urina canina.

Dos 155 animais testados, 86 eram machos (55,5%) e 69 fêmeas (44,5%) provenientes das cidades de Botucatu (n=73, 47,1%), Araçatuba (n=55, 35,5%), São Manuel (n=4, 2,5%), Bauru (n=3, 1,95%), Lençóis Paulista (n=3, 1,95%), São Paulo (n=2, 1,3%), Bofete (n=2,

1,3%), Avaré (n=1, 0,65%), Americana (n=1, 0,65%), Jumirim (n=1, 0,65%), Cerquilha (n=1, 0,65%), Macatuba (n=1, 0,65%), Promissão (n=1, 0,65%), Igarapu do Tietê (n=1, 0,65%), Porangaba (n=1, 0,65%), Quadra (n=1, 0,65%), Itatinga (n=1, 0,65%), Sorocaba (n=1, 0,65%), Conchas (n=1, 0,65%), Tatuí (n=1, 0,65%). Deste total, 143 (92,2%) eram mestiços, 6 (3,9%) eram persas e 6 (3,9%) eram siameses.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na prova de triagem os resultados para os diferentes sorovares testados foram negativos acarretando um novo re-teste para pesquisa de aglutininas anti-leptospíricas frente aos mesmos sorovares, cujos resultados mantiveram-se negativos.

Apesar de 100 amostras serem de casos de animais atendidos no HV de Botucatu, estes eram procedentes de uma grande área de abrangência, com animais de diferentes procedências, semelhantemente as 55 amostras procedentes de animais de Araçatuba. Os aspectos ambientais são importantes para a sobrevivência de leptospiras, considerando-se principalmente a temperatura e umidade. Ressalta-se que o número de animais é diferente de acordo com suas origens, mas de qualquer forma consideramos o resultado obtido no presente estudo incomum, comparando-se com os resultados de outros pesquisadores (6,7,8,9)

A análise dos resultados mostra que de fato os felinos são provavelmente mais resistentes à infecção leptospírica, quando se compara com outras espécies animais. Os gatos são considerados praticamente como refratários a leptospirose (4). Apesar da maior resistência desta espécie, não se deve descartar o papel desses animais na cadeia de transmissão da leptospirose na medida em que, quando a infecção ou doença ocorrem, há eliminação de leptospiras na urina (4, 7, 14, 15).

A ausência de resposta sorológica para os sorovares pesquisados pode ter ocorrido em função da resistência natural da espécie à infecção (4,5), entretanto, devem ser avaliadas as condições em que os animais eram criados e mantidos, pois em sua maioria trata-se de animais domiciliados e bem alimentados com ração comercial, de acordo com as informações dos proprietários no momento da coleta de sangue e do exame clínico. Apesar do hábito de carnivorismo, os mesmos provavelmente não consumiram roedores, evitando-se assim, fatores de risco para a infecção, pois sabe-se que roedores são potenciais reservatórios de leptospiras (16).

Outro aspecto que pode ser avaliado é o fato desses animais terem, possivelmente, menos contato com o ambiente externo, sujeito à contaminação por outras espécies animais, possíveis portadores renais, que contribuem para disseminação da infecção (17). Os gatos, apesar de seus hábitos instintivos de caça e exploratório, podem não ter entrado em contato com ambiente que favorece a manutenção de leptospiras. De fato, os animais eram, em sua maioria, procedentes da zona urbana central, e muitos deles residiam em apartamentos, diminuindo assim as chances de infecção pela menor exposição ao agente.

Frente aos resultados obtidos e pela importância da leptospirose como zoonose, e pela sua ampla distribuição, vê-se a necessidade de realização de novos estudos em que se correlacione os resultados sorológicos com a cultura de urina e/ou órgãos desses animais, para que se possa determinar a importância desta espécie na transmissão da doença para humanos e outros animais. A soroaglutinação microscópica é a prova padrão ouro pela Organização Mundial de Saúde para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira*, porém a correlação entre resultados sorológicos e pesquisa de DNA bacteriano em amostras de urina é bastante relevante, pois pode indicar o estado de portador renal e provável fonte de infecção com a eliminação do agente pela urina (2,4).

CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo, tanto os animais atendidos nos hospitais veterinários da FMVZ de Botucatu quanto os animais domiciliados de Araçatuba foram negativos para os sorovares testados que, de acordo com a literatura são os mais frequentes na infecção leptospírica nesta espécie. A despeito desses resultados, acredita-se ser importante associar a pesquisa sorológica à busca do agente por técnicas biomoleculares bem como pelo isolamento da bactéria em meios seletivos, a fim de evidenciar os portadores renais do agente.

REFERÊNCIAS

1. Neto GG. Frequência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil [dissertação]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2006.
2. Langoni H, Silva AV, Segismundo R, Lucheis SB, Paes AC. Variáveis epidemiológicas e alterações clínicas, hematológicas e urinárias em cães sororreagentes para *Leptospira* spp. *Semina, Cienc Agrar.* 2013;34(2):765-6.
3. Carlos ER, Kundin WD, Watten MD, Tsai CC, Irving GS, Carlos ET, et al. Leptospirosis in the Philippines: Felines studies. *Am J Vet Res.* 1971;32(9):1455-6.
4. Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. Athens: Saunders; 2012.
5. Correa WM, Correa CNM. *Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos.* Porto Alegre: Medsi; 1992.
6. Adler B, Moctezuma LP. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet Microbiol.* 2010;140(3-4):287-96.
7. Larsson CE, Santa-Rosa CA, Larsson MHMA, Birgel EH, Fernandes WR, Paim GV. Laboratory and clinical features of experimental feline leptospirosis. *Int J Zoonoses.* 1985;12(2):111-9.
8. Langoni H, Cabral KG, Kronfly CS. Pesquisa de aglutininas anti-leptospíricas em gatos. *Clin Vet.* 1998;3(17):24-6.
9. Lapointe C, Plamondon I, Dunn M. Feline Leptospirosis serosurvey from a Quebec referral hospital. *Can Vet J.* 2013;54(5):497-9.
10. Yanaguita RM, Santa-Rosa CA, Santos MAA, Ribeiro LOC. Inquérito sorológico para leptospirose em gatos de São Paulo. *Arq Inst Biol.* 1982;49(1-4):67-9.
11. Agunloye CA, Nash AS. Investigation of possible leptospiral infection in cats in Scotland. *J Small Anim Pract.* 1996;37(3):126-9.
12. Santos JP, Ferreira Júnior A, Mundim EV, Santos MP, Oliveira PR, Lima AMC. Pesquisa de Aglutininas anti-leptospíricas em gatos errantes da cidade de Uberlândia – MG. *Vet Not.* 2006;12(2):122.

13. Ministério da saúde. Manual de Leptospirose. Brasília: Fundação Nacional da Saúde; 1995.
14. Lau CL, Smythe LD, Craig SB, Weinstein P. Climate change flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2010;104(10):631-8.
15. Levett, PN. Leptospirosis: A forgotten zoonosis? *Clin Appl Immunol Rev.* 2004;4:435-48.
16. Victoriano AFB, Smythie LD, Gloriani-Barzaga N, Cavinta LL, Kasai T, Limpakarnjanarat K, et al. Leptospirosis in the Asia Pacific region. *Bmc Infect Dis.* 2009;9:147.
17. Ullmann LS, Langoni H. Interactions between environment, wild animals and human leptospirosis. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* 2011;17(2):119-29.

Recebido em: 07/11/2014

Aceito em: 25/06/2015