



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-  
UFRA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO  
ANIMAL NA AMAZÔNIA

LARISSA DOS SANTOS SEIXAS

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM FELINOS  
DOMÉSTICOS DA CIDADE DE BELÉM-PA

BELÉM – PA  
2013



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-  
UFRA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO  
ANIMAL NA AMAZÔNIA

LARISSA DOS SANTOS SEIXAS

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM FELINOS  
DOMÉSTICOS DA CIDADE DE BELÉM-PA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como exigência do Curso de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Saúde e Meio Ambiente, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Andre Marcelo Conceição Meneses

BELÉM – PA  
2013



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-  
UFRA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E PRODUÇÃO  
ANIMAL NA AMAZÔNIA

LARISSA DOS SANTOS SEIXAS

FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Leptospira* spp. EM FELINOS  
DOMÉSTICOS DA CIDADE DE BELÉM-PA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia: área de concentração Saúde e Meio Ambiente, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA EM: / /

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Andre Marcelo Conceição Meneses - Orientador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Cristina Guimarães de Moraes - 1º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

---

Prof. Dr. Evonildo Costa Gonçalves - 2º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andréa Maria Góes Negrão- 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelo dom da Vida.

A minha família por todo o apoio às minhas decisões.

Aos meus amigos, especialmente a Tinha, Nique, Preta, Leka e Dennis que me acompanharam e ajudaram cada uma da sua forma.

Ao meu amor distante, mas tão próximo...

Ao meu orientador, Prof. Dr. Andre Meneses, pelos anos de orientação.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carla Moraes, e sua orientada Giselle Paz pela ajuda ao projeto.

Ao Prof. Dr. Helio Langoni, por disponibilizar o Laboratório para o processamento das amostras.

A Universidade Federal Rural da Amazônia, ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Animal na Amazônia, e aos professores, funcionários e colegas.

## RESUMO

A leptospirose é uma das zoonoses mais difundidas no mundo. Assume um caráter epidêmico em determinadas regiões, com maior frequência em países tropicais e em desenvolvimento. Os gatos domésticos constituem-se potenciais fontes de infecção da antropozoonose, permanecendo os animais clinicamente assintomáticos e eliminadores. As amostras analisadas na presente pesquisa foram obtidas a partir de soroteca, alíquotadas em microtubos com capacidade de 2mL e mantidas em temperatura de -22°C. O período do estudo foi compreendido entre janeiro de 2012 e maio de 2013. Foram estudadas 254 amostras de soro de gatos domésticos para detectar anticorpos anti-Leptospira, segundo a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), no Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses, UNESP-Botucatu. Resultando em sete animais positivos para os sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae. Exames laboratoriais bioquímicos, a saber, Alanina Aminotransferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), Uréia e Creatinina, foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas, UFRA-PA. Apresentando alterações renais em um animal positivo com co-aglutinação.

**Palavras-chave:** Leptospira spp., Felinos domésticos, Soroaglutinação Microscópica (SAM)

## ABSTRACT

Leptospirosis is one of the most widespread zoonoses in the world. Assumes an epidemic in certain regions, most frequently in tropical and developing countries. Domestic cats constitute potential sources of infection anthroponosis animals remained clinically asymptomatic and erasers. The samples analyzed in this study were obtained from serum bank, aliquoted in microtubes with a capacity of 2 mL and maintained at a temperature of  $-22^{\circ}\text{C}$ . The study period was between January 2012 and May 2013. We studied 254 serum samples from cats to detect anti-*Leptospira*, using the technique of Microscopic Agglutination Test (MAT), the Diagnostic Laboratory of Zoonoses, UNESP-Botucatu. Resulting in seven animals positive for serovars Copenhageni and Icterohaemorrhagiae. Biochemical laboratory tests, namely, alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), urea and creatinine, were performed at the Laboratory of Clinical Analyses, UFRA-PA. Featuring renal changes in an animal with positive co-agglutination.

**Key words:** *Leptospira* spp., Domestic Cats, Microscopic Agglutination Test (MAT)

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Microscopia da bactéria do gênero *Leptospira* 17
- Figura 2:** Distribuição do soro diluído em SSTs no volume de 50  $\mu$ L na microplaca para realização da etapa de triagem para diagnóstico laboratorial de leptospirose pela prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) 23

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	<b>5</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b>	<b>7</b>
<b>1 CONTEXTUALIZAÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>1.1 OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
1.1.1 OBJETIVO GERAL	13
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
<b>1.2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>14</b>
1.2.1 EPIDEMIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE	14
1.2.2 ETIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE	16
1.2.3 PATOGENIA DA LEPTOSPIROSE	18
1.2.4 SINAIS CLÍNICOS DA LEPTOSPIROSE	20
1.2.5 DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE	21
1.2.6 LEPTOSPIROSE FELINA	24
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>27</b>
<b>2 Frequência de anticorpos anti-Leptospira spp. em felinos domésticos da cidade de Belém-PA</b>	<b>31</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>31</b>
<b>RESUMO</b>	<b>31</b>
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>32</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>32</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>33</b>
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>34</b>



**REFERÊNCIAS**

**35**

**ANEXO**

**37**

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A leptospirose é uma das zoonoses mais difundidas no mundo. Assume um caráter epidêmico em determinadas regiões, com maior frequência em países tropicais e em desenvolvimento (BHARTI et al., 2003), acarretando sérios problemas socioeconômicos (MARINHO, 2008). A incidência média de leptospirose humana em países de alta endemicidade é tão elevada como 975 por 100 000 habitantes (WHO, 2011). No Brasil, sua incidência aumenta principalmente no verão, em decorrência de chuvas e alagamentos de áreas urbanas, verificando-se comumente surtos epidêmicos em épocas de maior precipitação pluviométrica (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002).

O Brasil ocupa a 17ª posição no grupo de países endêmicos para leptospirose. Dentre as regiões brasileiras, o Sudeste compreende a área de maior registro de casos, tendo, no período de 2006 a 2011, notificado 36,8% dos casos. A Região Norte concentra 10,6% dos casos, onde nela o Estado do Pará lidera em números absolutos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

A ocorrência da leptospirose é variável em diferentes áreas geográficas, no entanto, são frequentes as situações de endemia, com variações sazonais revelando picos epidêmicos nos meses chuvosos, onde há associação entre as condições ambientais propícias - crescimento desordenado dos grandes centros urbanos, migrações e deficiências nas condições de saneamento básico - e a alta densidade de roedores infectados, que terão sua urina disseminada pelas enchentes, favorecida, entre outros fatores, pela obstrução dos cursos d'água e canais, e pela impermeabilização das vias públicas, decorrente do acúmulo desordenado de lixo. Estes aspectos, aliados a agentes patogênicos diversos, a exemplo das leptospiras, podem gerar graves problemas de

saúde nas populações humanas e animais, com perdas imensuráveis e graves repercussões (CÔRTEZ, 1993).

O interesse no controle da leptospirose deve-se a sua ocorrência como epidemia, tanto em países de clima tropical, subtropical ou temperado, desenvolvidos ou em desenvolvimento (BHARADWAJ, 2004). O Brasil e a China são os países em que a leptospirose é tida como um dos maiores problemas de saúde pública (MCBRIDE et al., 2005). Complicações com risco de vida grave em humanos, devido à lesão pulmonar aguda e renal aguda são comuns, com taxas de mortalidade de até 67% e 87%, respectivamente (WHO, 2011).

No Brasil, os primeiros trabalhos sobre a leptospirose foram realizados no Rio de Janeiro por Aragão e em São Paulo por Carini, em 1818. Em 1930, foi identificado o primeiro caso de leptospirose humana ocorrido na cidade de São Paulo.

Os gatos domésticos, bem como os demais animais da família Felidae, parecem ser mais resistentes à leptospirose (QUINN et al. 1994). MASON et al. (1972), descreveram dois casos suspeitos em gatos domésticos que vieram a óbito e relataram reação positiva para *Leptospira interrogans*, sorovar Pomona, em um dos animais.

Agunlove & Nash (1996), investigando a prevalência de infecção leptospírica e a possibilidade de ocorrência da doença em 87 gatos da área de Glasgow, na Escócia, detectaram 9,2% de positividade nos animais estudados, sendo que o sorovar Hardjo foi encontrado em cinco gatos, o Autumnalis em dois gatos e apenas um dos gatos foi reagente para *Icterohaemorrhagiae*. Dos animais positivos, quatro eram domiciliados em área rural.

A necessidade de se investigar a ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em gatos domésticos, se dá pela contribuição para elucidar a real participação dos felinos na epidemiologia dessa enfermidade e contribuindo para o monitoramento da

saúde dos animais de companhia e para a ampliação do conhecimento sobre esta importante zoonose.

Não existem estudos na região Amazônica acerca da detecção de anticorpos anti-*Leptospira* em felídeos domésticos. Portanto, a pesquisa fornecerá dados importantes a respeito do comportamento dos felinos frente à enfermidade no Estado do Pará, sendo esta uma pesquisa pioneira na Amazônia. Apesar de estudos nesta área demonstram a importância da espécie na epidemiologia dessa zoonose, muito ainda há de ser investigado, justificando deste modo, a presente pesquisa.

## **1.1 OBJETIVOS**

### 1.1.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em gatos domésticos na cidade de Belém –PA.

### 1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar os sorovares circulantes em gatos domésticos da cidade de Belém –PA;

Identificar quais as alterações laboratoriais envolvidas na infecção por *Leptospira* spp. em gatos domésticos.

## 1.2 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1 EPIDEMIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE

A leptospirose é uma enfermidade aguda e endêmica de caráter sistêmico que acomete o homem, animais silvestres e domésticos em grande parte do mundo. É transmitida por bactérias do gênero *Leptospira* e assume um caráter epidêmico em determinadas regiões, com maior frequência em países tropicais e em desenvolvimento (BHARTI et al., 2003).

Além dos condicionantes socioeconômicos, a distribuição geográfica da leptospirose é também fortemente favorecida pelas condições ambientais das regiões de clima tropical e subtropical (LEMOS et al., 2010).

O conhecimento das espécies animais que atuam como reservatório, bem como quais os sorovares prevalentes em determinada área, é importante do ponto de vista epidemiológico. Alguns sorovares apresentam certa eleição para algumas espécies, sendo chamados de hospedeiros primários, nos quais causam doença moderada com pequenos danos (MARINHO, 2008).

Dentre as modalidades de fonte de infecção dos animais acometidos, a de maior relevância é o papel dos portadores (convalescentes e sadios), excretores de leptospiras e a quem se atribui a maior parcela de culpa pela persistência de focos da doença. Devido à longa duração dessa condição e à ampla facilidade de deslocamento, por não manifestar sinais de infecção, eles se tornam os reservatórios de manutenção do agente no ambiente (BATISTA et al., 2005).

Há existência de relação simbiótica entre a leptospira e um hospedeiro animal, para a perpetuação da leptospirose em uma comunidade animal. Esta relação de

determinado sorovar por uma espécie animal particular, é devida à persistência de leptospiras nos túbulos contornados dos rins do hospedeiro, sem produzir qualquer efeito patogênico no epitélio tubular, sugerindo que alguns animais são hábeis no desenvolvimento de uma resistência local, evitando a invasão das células pelas leptospiras que colonizam os túbulos (SILVA, 2012). Estas permanecem livres da ação dos anticorpos, e há eliminação de forma intermitente pela urina por longos períodos, atuando como fonte de infecção para o homem e outros animais (MARINHO, 2008).

Em regiões particulares, diferentes sorovares leptospirais são prevalentes e estão associados com um ou mais hospedeiros mantenedores (silvestres ou domésticos), os quais servem de reservatórios de infecção. A transmissão do agente entre esses hospedeiros é eficiente e a incidência da infecção é relativamente alta. O contato com um hospedeiro mantenedor ou com áreas contaminadas com sua urina pode causar a infecção em outras espécies. Os hospedeiros acidentais não são importantes reservatórios das espiroquetas, sendo baixa a incidência de transmissão (BOLIN, 1996).

Bovet et al. (1999), através de um levantamento em pacientes humanos com reação positiva para leptospirose, observaram dados epidemiológicos importantes, entre eles a presença de gatos, sugerindo a espécie felina como um dos perpetuadores de leptospira no meio. Outros fatores como trabalho de risco, feridas na pele, excesso de chuvas, andar descalço, também foram fatores predisponentes (SILVA, 2012).

O impacto da leptospirose em termos da saúde pública reflete-se no alto custo do tratamento dos seres humanos acometidos com letalidade da ordem de 5 a 20% (MARINHO, 2008).

A leptospirose tem distribuição universal, porém aparece na América Latina como uma endemia, que ocasiona enormes prejuízos econômicos. O homem é tido

como um hospedeiro acidental e muito dificilmente transmite a doença (FAINE et.al., 1999).

### 1.2.2 ETIOLOGIA DA LEPTOSPIROSE

A doença é uma infecção aguda causada por uma bactéria helicoidal (espiroqueta) aeróbia obrigatória da família Leptospiraceae, composta por dois gêneros: *Leptospira* e *Leptonema* (BRASIL, 2005).

O gênero *Leptospira* compreende 13 espécies de leptospiras patogênicas, entre elas estão: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffi*, possuindo mais de 260 sorovares. Dentre as espécies saprófitas estão: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawe*, *L. kmetyim*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*, compreendendo mais de 60 sorovariedades (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2009).

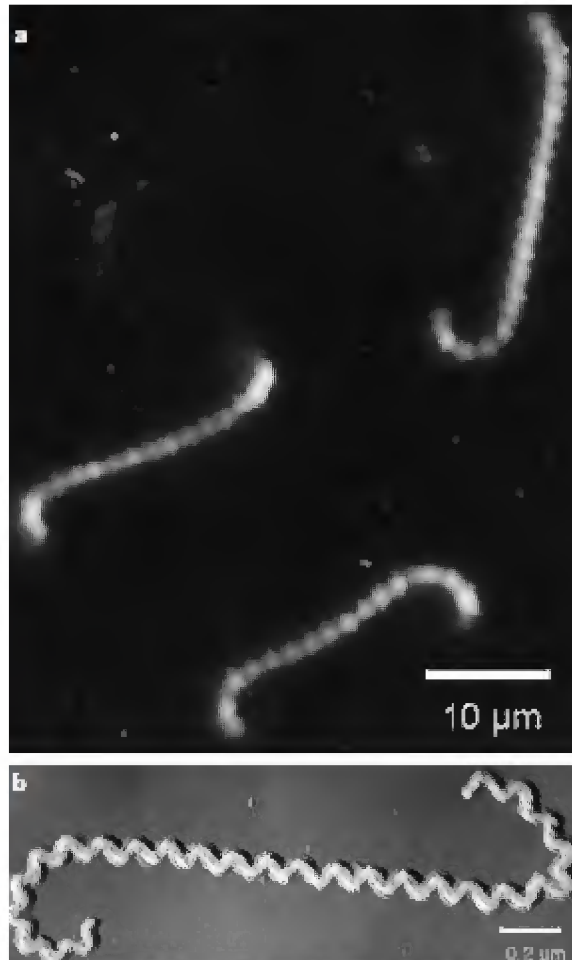
Mais de 200 sorovares já foram identificados e cada um tem o(s) seu(s) hospedeiro(s) preferencial(ais), ainda que uma espécie animal possa albergar um ou mais sorovares. Os sorovares da *L. interrogans* são Australis, Bratislava, Bataviae, Canicola, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Lai, Pomona, Pyrogenes, Hardjo e são divididos em sorogrupos (RIBEIRO, 2006).

Em 1917, o bacteriologista Hideyo Noguchi identificou a bactéria, dando-lhe o nome de leptospira (ALONSO et al., 2000).

Tratam-se de organismos helicoidais, flexíveis, delgadas e filamentosas, com 0,1 a 0,2 cm de largura por 6 a 12 cm de comprimento e existindo em uma ou nas duas de suas extremidades ganchos típicos(Figura 1) (REZENDE et al., 1997). São aeróbicas



obrigatórias, móveis, com dois flagelos inseridos em cada extremidade e que uma vez no organismo, ganham a corrente sanguínea e se disseminam amplamente (SLACK et al., 2006; SANTOS, 2008).



**Figura 1:** Microscopia da bactéria do gênero *Leptospira* (Hartmann et al., 2013)

Em meio líquido apresentam movimentos com rotação alternada ao longo do eixo e translação em direção à extremidade sem gancho. Em meio mais espesso são observados movimentos em curvas. As colônias mais difusas são formadas abaixo da superfície do meio com 1% de Agar; em ágar a 2% as colônias se apresentam turvas (GOMES et al., 2007). A temperatura ambiente ótima para sobrevivência e replicação da leptospira é entre 28 - 30°C, no solo o ideal é a permanência em pH neutro ou

levemente alcalino. Alta incidência sazonal da doença humana é descrita no verão e começo do outono (ADLER; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, 2009).

As variantes de *L. interrogans* não possuem especificidade por determinados hospedeiros, mas apresentam preferências em alguns casos, como por exemplo, o sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* que é o mais importante em termos de saúde pública, ocorrendo preferencialmente em rato de esgoto (*Rattus norvegicus*). O sorogrupo *Pomona* tem tropismo pelos suínos, o *Hardjo* por bovinos e o *Canicola* pelo canino (COSTA, 2010).

Um estudo realizado por Parreira (2009), demonstrou que felinos podem entrar em contato e reagir com diferentes sorotipos de *Leptospira* spp., não indicando uma especificidade nestes animais.

### 1.2.3 PATOGENIA DA LEPTOSPIROSE

Tanto animais domésticos como silvestres podem se tornar portadores e contribuir para a disseminação das leptospiros na natureza (GIRIO et al., 2004). A transmissão ocorre por meio do contato com água contaminada por espiroquetas eliminadas na urina de ratos, gatos, cães e outros animais, e ocorre por períodos de tempo que podem variar de poucas semanas a vários meses, entre os animais domésticos, e por toda vida no caso dos roedores (WEBSTER et al., 1995).

O principal reservatório é constituído pelos roedores sinantrópicos (domésticos), das espécies *Rattus norvegicus*, *Rattus rattus* e *Mus musculus*. Ao se infectarem, não desenvolvem a doença e tornam-se portadores, albergando a leptospira nos rins,

eliminando-a viva no meio ambiente, e contaminando, desta forma, água, solo e alimentos. O *Rattus norvegicus* (ratazana ou rato de esgoto) é o principal portador da *Leptospira icterohaemorrhagiae*, uma das mais patogênicas para o homem (BRASIL, 2005).

A *Leptospira* spp. pode penetrar no corpo através da pele íntegra ou escarificada e pelas mucosas oral, digestiva, genital, nasal e da conjuntiva. A transmissão venérea da leptospirose animal, tanto pela monta natural, como através da inseminação artificial é possível, devido à uretra constituir-se na via comum para eliminação de urina e sêmen, possibilitando que este último também venha a ser contaminado por leptospiros (BADKE, 2001; KOBAYASHI, 2001). Após a penetração da bactéria no organismo susceptível, o microrganismo dissemina-se pela corrente sanguínea atingindo todos os órgãos (HÜNTTER et al., 2002).

Os cães podem adquirir a infecção pela convivência com outros cães contaminados, bem como por ratos que urinam em áreas comuns. Esses animais são considerados a principal fonte da leptospirose humana em áreas urbanas, pois vivem em estreito contato com o homem e com outros animais, e podem eliminar leptospiros vivas através da urina durante vários meses, mesmo sem apresentar nenhum sinal clínico característico (JOUGLARD e BROD, 2000).

A sobrevivência de leptospiros no ambiente depende principalmente de umidade, temperatura elevada e pH levemente alcalino. Desse modo, a prevalência de leptospirose depende de um animal portador que é o disseminador, da contaminação e sobrevivência do agente no ambiente e do contato de indivíduos susceptíveis com o agente. Vários animais podem ser hospedeiros e cada sorovar tem um ou mais hospedeiros com diferentes níveis de adaptação. A persistência de focos de leptospirose

se deve aos animais infectados, convalescentes e assintomáticos, que servem como fonte contínua de contaminação ambiental (OLIVEIRA e PIRES NETO, 2004).

A transmissão via digestiva (ingestão de alimentos ou água contaminada por urina de animais portadores) já foi provada em gatos. Apesar de alguns autores referirem que o trato alimentar não é uma via de transmissão importante, em função de que o baixo pH estomacal seria capaz de destruir as leptospiros (SILVA et al., 2012).

Segundo Larson (1981), os gatos domésticos constituem potenciais fontes de infecção da antropozoonose, uma vez que já foi comprovada a ocorrência de leptospirose em 18 espécimes inoculados, permanecendo os animais clinicamente assintomáticos e eliminadores ocasionais do agente.

#### 1.2.4 SINAIS CLÍNICOS DA LEPTOSPIROSE

Após a penetração da bactéria no organismo susceptível, o microrganismo dissemina-se pela corrente sanguínea e atinge todos os órgãos, causando vasculite e conseqüentemente danos às células endoteliais capilares, gerando uma série de manifestações clínicas, tais como disfunção tubular renal, hepática, miocardite e hemorragia pulmonar (HÜTTNER et al., 2002). O período de incubação geralmente é em torno de 5 a 14 dias (JEZIOR, 2005).

As manifestações clínicas variam de acordo com a espécie. Os alvos primários da leptospirose são os rins e fígado. Nos rins ocorre replicação no endotélio tubular renal, causando lesão renal aguda com presença de oligúria ou anúria (especialmente o sorovar *L.canicola*). A colonização renal e a eliminação na urina são prolongadas até

mesmo por meses após a recuperação. No fígado a *Leptospira* pode lesar os hepatócitos resultando em necrose hepática aguda (especialmente a *L. Icterohaemorrhagiae*), icterícia, fibrose hepática e, ocasionalmente, hepatite ativa crônica podem estar presentes (BICHARD; SHERDING, 1998).

Outras manifestações clínicas são observadas em diversos órgãos: a) no pulmão, as lesões seriam secundárias ao dano vascular intersticial resultando em hemorragia; b) na pele, as lesões ocorrem em consequência à injúria epitelial vascular; c) no músculo esquelético, as lesões seriam secundárias ao edema, à vacuolização da miofibrila e aos danos dos vasos sanguíneos. As lesões do sistema vascular de uma maneira geral resultariam da ruptura capilar, da hipovolemia e do choque (JEZIOR, 2005).

Dentre os sinais sistêmicos da enfermidade estão: febre, depressão, anorexia, vômito, relutância em se mover (devido à dor muscular generalizada, uma dor renal ou meningite), desidratação e congestão das membranas mucosas. Sinais de Coagulação Intravascular Disseminada (CID) como: hemorragias petequiais e equimóticas disseminadas, melena, hematemesa e epístaxe (relatada no caso da *L. grippotyphosa*), além de colapso vascular e morte superaguda que também são relatadas em alguns animais. Manifestações ocasionais como abortamento ou natimortos, uveíte e meningite também podem ocorrer. A infecção é tipicamente subclínica nos cães vacinados (imunes), adultos e em todos os gatos (BIRCHARD; SHERDING, 1998).

No homem e nos cães os sintomas clínicos mais frequentes são nefrite e hepatite graves. Os felinos são refratários (ACHA; SZYFRES, 2003). Entretanto, inquéritos soroepidemiológicos nesta espécie, conduzidos por diferentes autores relatam a soroconversão para vários sorovares de *Leptospira* spp. (LANGONI et al., 1998; ALVES et al., 2003).

### 1.2.5 DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE

O diagnóstico de leptospirose se baseia na combinação de histórico, sinais clínicos, achados laboratoriais não específicos, como hemograma e bioquímica sérica, e testes confirmatórios, (NOEL; LAMITER, 2009).

Esses exames podem ser diretos, detectando diretamente o agente etiológico, e indiretos, detectando anticorpos produzidos pelos mecanismos de defesa do hospedeiro infectado (BRASIL, 2011).

Os exames complementares, como o hemograma e a bioquímica sérica, podem revelar alterações causadas pela leptospirose no hospedeiro. A contagem sanguínea completa pode demonstrar anemia, que se deve às alterações vasculares, como a vasculite e lise de hemácias; leucopenia, no início da infecção; neutrofilia com desvio a esquerda; trombocitopenia e hemostasia normal (BICHARD; SHERDING, 1998). Na bioquímica sérica observa-se o aumento das enzimas hepáticas, da uréia e creatinina, devido aos distúrbios hepáticos e renais resultante desta enfermidade (WOHL, 1996).

A soroglutinação microscópica (SAM) (Figura 2) é o teste padrão de referência para diagnóstico sorológico e para classificação de leptospiras, como preconiza a Organização Mundial de Saúde (OMS). Esse teste necessita de numerosos antígenos para identificação do sorovar causador da infecção (GREENE, 1990) e recomenda-se a sua realização com os antígenos vivos, cuja densidade ideal de crescimento é atingida em culturas de 4 a 14 dias. A SAM detecta tanto anticorpos IgM quanto IgG e é sorogrupo-específica, não permitindo a especificação do sorovar responsável pela infecção. A identificação deste só é possível através do isolamento do agente e do emprego de técnicas de absorção de aglutininas, anticorpos monoclonais ou técnicas moleculares (HERRMANN et al. 1992).



**Figura 2:** Distribuição do soro diluído em SSTs no volume de 50  $\mu$ L na microplaca para realização da etapa de triagem para diagnóstico laboratorial de leptospirose pela prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) (Parreira, 2009)

Para o resultado do teste, considera-se a proporção de sororeatores para o total dos animais examinados, o que indica o grau de infecção nessa população. O provável sorovar infectante é o que aparece com maior frequência e maior título. Sorovares de um mesmo sorogrupo, como Hardjo e Wolffi, podem apresentar reações cruzadas, pois compartilham antígenos (GENOVEZ, 2006).

Outro meio diagnóstico são os títulos de ensaio imunoabsorventes, ligados a enzima ELISA, de IgM e IgG combinados. Os títulos de IgM torna-se positivos dentro da primeira semana de infecção (antes do SAM) e persistem por duas semanas. Os títulos de IgG tornam-se positivos duas a três semanas após a infecção e permanecem por meses (BICHARD et al., 1998).

Testes baseados em diagnóstico molecular estão sendo cada vez mais utilizados para o diagnóstico de leptospirose. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) vem demonstrando ser importante ferramenta para detecção e confirmação do agente, uma



vez que, para o emprego da técnica não é necessário à viabilidade do patógeno, permitindo a detecção do agente em amostras autolisadas, congeladas ou mal conservadas, o que não seria possível no isolamento e a inoculação experimental (SCARCELLI et al., 2003).

A utilização de PCR para identificar os organismos na urina tem sido experimentalmente demonstrado ser sensível e específico, com a capacidade para estabelecer um diagnóstico numa fase muito precoce da infecção. Utilizando PCR, os organismos em portadores subclínicos e espécies de leptospira não viáveis também serão detectados. (HARTMANN et al., 2013)

## 2.6 LEPTOSPIROSE FELINA

Todos os mamíferos parecem ser susceptíveis a *Leptospira* spp., mas a doença parece ser rara em gatos (GOMES et al., 2007). Em felinos a leptospirose é descrita como de ocorrência incomum, apesar disto, inquéritos sorológicos relatam reações positivas em gatos no Brasil e em outros países (SILVA, 2012).

O papel dos gatos na epidemiologia da leptospirose ainda é pouco estudado. De acordo com Antech (2007) já foram identificados gatos soropositivos, porém com pequeno número de indivíduos com doença clínica, sugerindo-se que esta espécie seja relativamente resistente à leptospirose. Dessa forma, os gatos domésticos constituem-se potenciais fontes de infecção da antropozoonose, uma vez que já foi comprovada a ocorrência de leptospirúria em espécimes inoculados, permanecendo os animais clinicamente assintomáticos e eliminadores ocasionais do agente.



Os gatos podem adquirir leptospirose da ingestão de animais infectados, assim como a ingestão de água contaminada pela leptospira (MARKOVICH et al., 2012). Sendo esta última, a transmissão menos provável devido à aversão natural dos gatos à água. Os roedores são um reservatório natural para muitos sorovares e transmissão presa-predador entre gatos e roedores é observada. Os gatos também podem ser expostos a urina de cães que vivem juntos (HARTMANN et al., 2013).

A prevalência de anticorpos anti-Leptospira em gatos entre 0-35% foram identificados. Infecções com vários sorovares, incluindo Icterohaemorrhagiae, Canicola, Grippytyphosa, Pomona, Hardjo, Autumnalis e Ballum, têm sido isolados a partir de felinos domésticos (SYKES et al., 2011). Em estudo no estado de Goiás, observaram-se amostras reagentes a diferentes sorovares de *Leptospira* spp. em felinos, relatando maior prevalência nos sorovares Cynopteri e Djasiman. Mostrou também que os felinos podem entrar em contato e reagir com diferentes sorotipos da bactéria, não indicando uma especificidade nestes animais (PARREIRA, 2009).

Os sinais clínicos em gatos infectados pela *Leptospira* spp. parecem ser raros e infecção é geralmente subclínica (AGUNLOYE; NASH, 1996). A tese que os gatos são geralmente infectados sem sinais clínicos é apoiada por literatura que demonstrou não haver diferença significativa na prevalência de anticorpos entre gatos doentes e saudáveis (HARTMANN et al., 2013).

Infecção experimental de gatos resulta em leptospiremia e leptospirúria, mas a doença é geralmente leve, embora a evidência histopatológica da inflamação renal e hepática pode estar presente (SYKES et al., 2011). A manifestação clínica mais comum em gatos com leptospirose parece ser uma nefrite intersticial causada diretamente pela espiroqueta. Em um estudo, foi encontrada uma relação entre poliúria e polidipsia, e a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. (ARBOUR et al., 2012).

O diagnóstico diferencial de leptospirose, em felino, sugere: hemobartonelose, medicamentos como o paracetamol, sepse, doenças associadas à FIV e FELV, neoplasia hepática, lúpus eritematoso sistêmico, traumatismo, cálculos renais, neoplasia renal, Peritonite Infecciosa Felina (PIF), panleucopenia, herpesvírus, toxoplasmose, salmonelose. (TILLEY; SMITH JR, 2008).

## **REFERÊNCIAS**

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales: Bacteriosis y Micosis. Vol.1. 3ª ed. **Publicación Científica** n. 580, OPS, Washington, p.175-185, 2003.

ADLER, B.; DE LA PENÃ MOCTEZUMA, A. Leptospira and leptospirosis. **Vet. Microbiol.** (2009). doi:10.1016/j.vetmic.2009.03.012. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/vetmic>>. Acesso em: 15 mai 2013.

AGUNLOYE, C.A.; NASH, A.S. Investigation of possible leptospiral infection in cats in Scotland. **J Small Anim Pract.** 37: 126–129. 1996.

ALONSO, B.R.; HAZ, H.J.G.; PAZ, R.C. Leptospirosis humana: un problema de salud? **Revista Cubana de Salud Pública**, Havana, v.26, p. 27-34, 2000.

ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CLEMENTINO, I.J.AZEVEDO, S.S.; Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospiras em gatos no município de Patos- PB. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n.46, p.48-54, 2003.

ANTECH diagnostics News, **Leptospirosis**, december 2007. [on line]. Disponível em: <[http://www.antechdiagnostics.com/clients/antechNews/2000/dec00\\_01.htm](http://www.antechdiagnostics.com/clients/antechNews/2000/dec00_01.htm)> Acesso em: 01 de junho de 2013.

ARAGÃO, M.B. A epidemiologia paisagística no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.1, n. 4. 1988.

ARBOUR J.; BLAIS, M.C.; CARIOTO, L.; SYLVESTRE, D. Clinical leptospirosis in three cats (2001–2009). **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.** 48: 256–260. 2012.

BADKE, M.R.R. **Leptospirose** 1999. Disponível em [[http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc/pdf/Memorias2001/1\\_manoelrenato.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/abrades-sc/pdf/Memorias2001/1_manoelrenato.pdf)] Acesso em: 27 de maio de 2013.

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

BHARADWAJ, R. Leptospirosis - a Reemerging Disease? **Indian Journal of Medical Research.** 2004.

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

BICHARD,S.J; SHERDING, R.G; **Manual Saunders Clínica De Pequenos Animais.** São Paulo-Sp, Editora Roca, 1998, 143-145pg

BLAZIUS, R.D.; ROMÃO, P.R.T.; BLAZIUS, E.M.C.G.; SILVA, O.S.; Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.21, p.1952-1956, nov./dez. 2005.

BOLIN, C.A; Diagnosis of Leptospirosis: A Reemergent Disease of Companion Animals. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, 11: 166-171, 1996.

BOVET, P.; YERSIN,C.; MERIEN,F.; DAVIS,E.C.; PEROLATE, P. Factors associated with clinical leptospirosis: a population-based case-control study in Seychelles. **International Journal of epidemiology**. V.28 pg. 583-590, 1999

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**, Secretaria de Vigilância em Saúde, 6ª ed., Brasília. 816 p. 2005.

CORREA, M.O. Human leptospirosis in Brazil. **Internacional Journal Zoonoses** 1975; 2:1-9.

CÔRTEZ, J.A. Aspectos epidemiológicos e ecológicos da leptospirose. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 3., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 1993.

COSTA, S.M. **Freqüência de anticorpos contra Leptospira spp. e Trypanosoma cruzi em primatas neotropicais mantidos em cativeiro**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Pará. 95 f. 2010.

FAINE, E.D. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva, World Health Organization (WHO offset publication nº 67), 1982. 171p. FAINE, S. et al. **Leptospira and Leptospirosis**. 2º ed. Melbourne. Medisci, 1999, 272p.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Guia de vigilância epidemiológica. **Brasília: Fundação Nacional de Saúde**. 2002

GIRIO, R.J.S.; PEREIRA, F. L.G.; MARCHIORI FILHO, M.; MATHIAS, L.A.; HERREIRA, R.C.P.; ALESSI, A.C.; GIRIO, T.S. Pesquisa de anticorpos contra Leptospira spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil: utilização da técnica de imuno-histoquímica para detecção do agente. **Ciência Rural** 2004; 34:165-9.

GOMES, A.H.B.; OLIVEIRA, F.C.; CAVALCANTI, L.A.; CONCEIÇÃO, I.R.; SANTOS, G.R. RAMALHO, E.J.; VIEGAS, S.A R. A.; Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de eqüinos no Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.8, n.3, p.144-151, jul./set., 2007.

GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2º ed. Philadelphia, W.B Saunders Company 1990, p.98-507.

GREENE C.E. . **Infectious diseases of the dog and cat**. Athens: Saunders, 2006. 934 p.

HARTMANN, K.; EGBERINK, H.; PENNISI, M.G.; LLORET, A.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD-JONES, T.; HOSIE, M.J.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; MÖSTL, K.; RADFORD, A.D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M.C. Leptospira Species Infection in Cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery** 15: 576. 2013.

HERRMANN, J.L. et.al. Pulsedfield gel electrophoresis of NotI digests of leptospiral DNA: a new rapid method of serovar identification. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 30, n. 7 p. 1696-1702, 1992.

HUTTNER, M.D.; PEREIRA, H.C.P.; TANAKA, R.M. Pneumonia por Leptospirose. **J Pneumol** v. 28, p. 229-232, 2002.

JEZIOR, M.R. Leptospirosis. Disponível em: [URL: <http://www.emedicine.com/med/topic1283.htm>] Acesso em: 02 de maio de 2013.

JOUGLARD, S.D.D.; BROD, C.S. Leptospirose em cães: prevalência e fatores de risco no meio rural do Município de Pelotas, RS. **Arquivo Inst Biol** 2000; 67:181-5.

KARASEVA, E.V.; CHERNUCKHA, Y.G.; PISKUNOVA, L.A. Results of studying the time of survival of pathogenic leptospira under natural conditions. **J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol** 1973; 17:339-45.

KOBAYASHI, Y. Clinical observation and treatment of leptospirosis. **J Infect Chemother.** v.7, p. 59-68, 2001.

LANGONI, H.; CABRAL, G.C.; KRONFLY.; Pesquisa de aglutininas antileptospíricas em gatos. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n.17, p.24-26, 1998.

LEMONS, J.P.; MELO, C.B.; VIEGAS, S.A.R.A. Análise sorológica de Leptospira spp. em cães errantes no município de Aracaju . **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Número 14. 2010

MARINHO, Márcia. Leptospirose: fatores epidemiológicos, fisiopatológicos e imunopatogênicos. **Veterinária e Zootecnia.** v.15, n.13, dez., p. 428-434, 2008.

MARKOVICH J.E., ROSS L., MCCOBB E. The Prevalence of Leptospiral Antibodies in Free Roaming Cats in Worcester County, Massachusetts. **J. Vet. Intern. Med.** 26:688–689. 2012.

MASON, R. W.; KING B. S. J.; McLACHLAN, N. M. Suspected leptospirosis in two cats. **Australian Veterinary**, v.48, n.11, p.622-3, 1972.

MCBRIDE, A. J.; ATHANAZIO, D. A.; REIS, M. G.; KO, AI. Leptospirosis. **Current Opinion Infectious Disease.** 2005.

Ministério da saúde. 2012. Brasil. Leptospirose [Internet]. Brasília; 2012 [citado 2012 ago 21]. Disponível em:

<[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1562](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1562)>. Acesso em 10 de maio de 2013.

NOEL, R., LAMITER, K.S. **An overview of canine leptospirosis**. Disponível em: <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/noel/index.php>. Acesso em: 08 de maio de 2013.

OLIVEIRA, S.J.; PIRES NETO, J.A.S. Aspectos etiológicos e de diagnóstico nas leptospiroses. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária e Zootecnia** 2004; 33:36-46.

PARREIRA I.M. **Aspectos epidemiológicos de infecção por Leptospira spp. em felinos domésticos (Felis catus) aparentemente sadios da região metropolitana de Goiânia, Goiás**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária. 57p. 2009.

QUINN P.J., CARTER M.E., MARKEY B. & CARTER G.R. **Clinical Veterinary Microbiology**. Spain: Wolfe. p.295. 1994.

REZENDE, M.B.; LINS-LAINSON, Z.C.; BICHARA, C.N.C.; LEÃO, R.N.Q.; COSTA, P.M.; REZENDE JR, A.B.; **Leptospire. Doenças infecciosas e parasitárias: enfoque amazônico**. Ed. CEJUP, Universidade do Estado do Pará, Instituto Evandro Chagas, 1997.

RIBEIRO, A.F. Leptospire, avaliação de fatores prognósticos da doença, município de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista BEPA**, v.3, n.28, 2006. ([http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa28\\_lepto.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa28_lepto.htm))

SCARCELLI, E. et al. Leptospira spp detection by polymerase chain reaction (PCR) in clinical samples of captive black-capped capuchin monkey (Cebus apella). **Brazilian Journal of Microbiology**, v.34, p. 143-146, 2003.

SILVA, M.C.C. **Leptospire em Felinos – Revisão de Literatura**. Monografia (Especialização) Universidade Rural do Semi-árido, Porto Alegre-RS. 2012

SLACK, A.T; SYMONDS, M.L.; DOHNT, M.F.; SMYTHE, L.D.; The epidemiology of leptospirosis and the emergence of Leptospira borgpetersenii serovar Arborea in Queensland, Australia, 1998–2004. **Epidemiology and Infection**, p.1217-1225, 2006.

SANTOS, J.P.; SILVA, C.C.; TAVARES, T.C.F.; SEDLACEK, L.S.; ALMEIDA, M.M.; BITTAR, J.F.F.; MEDEIROS, A.A.; BITTAR, E.R.; PANETTO, J.C.C.; SANTOS, M.P.; Aglutininas anti-leptospíricas em gatos do município de Uberaba- MG. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, n.1, p.41-43, nov., 2008.

SYKES, J.E.; HARTMANN, K.; LUNN, K.F.; MOORE, G.E.; STODDARD, R.A.; GOLDSTEIN, R.E. 2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. **J Vet Intern Med** 2011;25:1-13

TILLEY, L.P; SMITH JR.F.W.K; **Consulta veterinária em 5 minutos, espécie canina e felina**, BARUERI – SP, Editora Manole, 2008, 891pg-893pg.

WEBSTER, J.P., ELLIS, W.A., MACDONALD, D.W. Prevalence of *Leptospira* spp. in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) on UK farms. **Epidemiol Infect**, v.114, n.1, p.195-201, 1995.

WOHL, J.S. Canine Leptospirosis. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, USA, v. 18, n. 11, p. 1215-1225, 1241, nov. 1996.



## TRABALHO.....

### Frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em felinos domésticos da cidade de Belém-PA<sup>1</sup>

Larissa S. Seixas<sup>2</sup>, Renata K. G. Bastos<sup>2</sup>, Monique A. Luz<sup>3</sup>, Giselle S. Paz<sup>4</sup>, Carla C. G. Moraes<sup>5</sup>, Helio Langoni<sup>6</sup>, Andre M. C. Meneses<sup>2</sup>

\*Artigo formatado de acordo com as normas da Pesquisa Veterinária Brasileira

**ABSTRACT.**- Seixas L.S., Bastos R.K.G., Luz M.A., Paz G.S., Moraes C.C.G., Langoni H. & Meneses A.M.C. 2013. **[Frequency of anti-*Leptospira* spp. in domestic cats in Belém-PA]**. Frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em felinos domésticos da cidade de Belém-PA. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia(PPGSPAA), Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Av. Presidente Tancredo Neves, 2501, Montese, 66.077-530, Belém/PA/Brasil. Email: [lasseixas@hotmail.com](mailto:lasseixas@hotmail.com)

Leptospirosis is one of the most widespread zoonoses in the world. Assumes an epidemic in certain regions, most frequently in tropical and developing countries. Domestic cats constitute potential sources of infection anthropozoonosis animals remained clinically asymptomatic and erasers. The samples analyzed in this study were obtained from serum bank, aliquoted in microtubes with a capacity of 2 mL and maintained at a temperature of -22 °C. The study period was between January 2012 and May 2013. Were studied 254 serum samples from cats to detect anti-*Leptospira*, using the technique of Microscopic Agglutination Test (MAT), the Diagnostic Laboratory of Zoonoses, UNESP-Botucatu. Resulting in seven (2,54%) animals positive for serovars Copenhageni and Icterohaemorrhagiae. Resulting in seven (2.54%) positive animals. The positive samples, 5 (71.42%) showed agglutination only serovar Icterohaemorrhagiae, 1 (14.9%) for the serovar Copenhageni, and 1 (14.9%) had co-agglutination, demonstrating the presence of both serovars.

INDEX TERMS: *Leptospira* spp., Domestic Cats, Microscopic Agglutination Test (MAT)

**RESUMO.**- A leptospirose é uma das zoonoses mais difundidas no mundo. Assume um caráter epidêmico em determinadas regiões, com maior frequência em países tropicais e em desenvolvimento. Os gatos domésticos constituem-se potenciais fontes de infecção da antropozoonose, permanecendo os animais clinicamente assintomáticos e eliminadores. As amostras analisadas na presente pesquisa foram obtidas a partir de soroteca, aliqüotadas em microtubos com capacidade de 2mL e mantidas em temperatura de -22°C. O período do estudo foi compreendido entre janeiro de 2012 e maio de 2013. Foram estudadas 254 amostras de soro de gatos domésticos para detectar anticorpos anti-*Leptospira*, segundo a técnica de Soroaglutinação

---

<sup>1</sup> Recebido em .....

Aceito para publicação em.....

<sup>2</sup> PPG em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Instituto da Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Av. Presidente Tancredo Neves, 2501- Montese - 66.077-530, Belém/PA, Brasil. Autor para correspondência: [lasseixas@hotmail.com](mailto:lasseixas@hotmail.com)

<sup>3</sup> PPG em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários, Universidade Federal do Pará - Rua Augusto Corrêa, 01 - Guamá. CEP 66075-110. Caixa postal 479. PABX +55 91 3201-7000. Belém - Pará - Brasil

<sup>4</sup> Médica Veterinária. Aprimoranda em Zoonoses e Saúde Pública Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, FMVZ/UNESP. Distrito de Rubião Jr., s/nº, Botucatu, SP, CEP 18618-970

<sup>5</sup> PPG em Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará (UFPA), Av. dos Universitários, s/n, CEP 68746360

<sup>6</sup> Prof. Titular. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, FMVZ/UNESP. Distrito de Rubião Jr., s/nº, Botucatu, SP, CEP 18618-970.



Microscópica (SAM), no Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses, UNESP-Botucatu. Resultando em sete (2,54%) animais positivos. Do total de amostras positivas, 5 (71,42%) apresentaram aglutinação somente para o sorovar Icterohaemorrhagiae, 1 (14,9%) para o sorovar Copenhageni, e 1 (14,9%) apresentou co-aglutinação, demonstrando a presença de ambos os sorovares.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Leptospira* spp., Felinos domésticos, Soroaglutinação Microscópica (SAM)

## INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma antropozoonose de ampla distribuição, com significativo impacto social, econômico e sanitário. Causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* spp., apresenta ocorrência em áreas urbanas e rurais (Brasil, 2005). Sua incidência aumenta principalmente no verão, em decorrência de chuvas e alagamentos de áreas urbanas, verificando-se comumente surtos epidêmicos em épocas de maior precipitação pluviométrica. A Região Norte concentra 10,6% dos casos, onde nela o Estado do Pará lidera em números absolutos (Ministério da Saúde, 2012).

Os gatos domésticos, bem como os demais animais da família Felidae, parecem ser mais resistentes à leptospirose (Quinn et al. 1994). Inquéritos sorológicos de gatos para exposição ou infecção por leptospirosas são escassos, porém alguns autores já observaram considerável positividade para a espécie. Existem vários sorotipos de espiroquetas e os sorovares Canicola, Pomona e Grippotyphosa, têm sido isolados a partir de gatos. Os gatos domésticos também podem ser expostos a leptospira em contato com a urina dos cães, água contaminada e em contato com roedores (Jamshidi et al., 2009).

Os gatos domésticos constituem-se potenciais fontes de infecção da antropozoonose, uma vez que já foi comprovada a ocorrência de leptospirose em espécimes inoculados, permanecendo os animais clinicamente assintomáticos e eliminadores ocasionais do agente (Antech, 2007).

Não existem estudos na região Amazônica acerca da detecção de anticorpos anti-*Leptospira* em felídeos domésticos. Portanto, a pesquisa fornecerá dados importantes a respeito do comportamento dos felinos frente à enfermidade no Estado do Pará, sendo esta uma pesquisa pioneira na Amazônia. Apesar de estudos nesta área demonstram a importância da espécie na epidemiologia dessa zoonose, muito deve ser investigado, justificando deste modo a presente pesquisa.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras analisadas na presente pesquisa foram obtidas a partir de soroteca, com amostras advindas de gatos da cidade de Belém-PA e região metropolitana. O período do estudo foi compreendido entre janeiro de 2012 e maio de 2013. Foram estudadas 254 amostras de soro de gatos domésticos para detectar anticorpos anti-*Leptospira*.

A técnica empregada nesta pesquisa foi a Soroaglutinação Microscópica (SAM), conduzida de acordo com as recomendações de Brasil (1995), no Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses, 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. Utilizou-se um painel de 12 sorovares: Australis, Autumnalis, Bratislava, Canicola, Copenhageni, Cynopteri, Djasinam, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Pyrogenes. Foram consideradas positivas as amostras em que houve aglutinação de mais de 50% ou mais das leptospirosas, em relação ao controle e o título de cada amostra foi a maior diluição em que houve aglutinação. Os títulos empregados foram de 100 a 3200. Vale ressaltar que a prova constituiu-se de duas fases, a de triagem e a de titulação.

Foram realizados exames laboratoriais bioquímicos para avaliação das funções hepática e renal, a saber, Alanina Aminotransferase (ALT), Fosfatase Alcalina (FA), Uréia e Creatinina, no Laboratório

de Análises Clínicas, Hospital Veterinário “Mário Teixeira”, Instituto da Saúde e Produção Animal (ISPA), Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). Para efetuar as avaliações de bioquímica sérica utilizaram-se reagentes comerciais específicos (Labtest® - Labtest Diagnóstica S. A., Lagoa Santa, MG), segundo metodologia indicada pelo fabricante. As provas bioquímicas foram efetuadas por meio de processo colorimétrico, em analisador semi-automático, com kits comerciais. A classificação de animais sadios e alterados foi feita segundo Thrall et al. (2006).

Para análise dos dados resultantes foi utilizada estatística descritiva.

## RESULTADOS

A soropositividade para *Leptospira* spp. em gatos da cidade de Belém-PA foi de 2,75%, quando consideradas reações para quaisquer dos sorovares testados. Das 254 amostras testadas, 247 (97,25%) foram negativas e 7 (2,75%) animais apresentaram reação positiva de anticorpos anti-*Leptospira* spp., pela técnica de soroaglutinação microscópica, para um ou mais sorovares com títulos iguais ou maiores que 1:100.

No quadro 1 é apresentada a frequência de aglutininas anti-*Leptospira* spp de soro de gatos domésticos de Belém-PA. Do total de amostras positivas, 5 (71,42%) apresentaram aglutinação somente para o sorovar Icterohaemorrhagiae, 1 (14,9%) para o sorovar Copenhageni, e 1 (14,9%) apresentou co-aglutinação, demonstrando a presença de ambos os sorovares. Os demais sorovares testados não foram detectados entre as amostras.

Com relação aos títulos encontrados, houve duas amostras reagentes na menor titulação utilizada (1:100) e apenas uma para a maior titulação estabelecida (1:3200) como demonstrado no quadro 2. Este apresenta a frequência de anticorpos segundo o sorovar e seus respectivos títulos. Observa-se que os títulos na sua maioria situam-se na faixa de 1:100 a 1:400, sendo que o maior título encontrado foi de 1:3200 para o sorovar Icterohaemorrhagiae. Do sorovar Copenhageni a maior titulação encontrada foi de 1:800. Das reações para o sorovar Copenhageni, 2 (33,33%) dos 6 animais apresentaram título de 1:100, 1 (16,67%) apresentou título 1:200, 2 (33,33%) apresentaram título 1:400, e 1 (16,67%) 1:800. O sorovar Icterohaemorrhagiae apresentou menor frequência de positividade, 1 (50%) dos 2 animais positivos para o referido sorovar, apresentou titulação de 1:200, e 1 (50%) apresentou título 1:3200.

Foram realizados exames bioquímicos dos animais do presente estudo, sendo eles: Alanina Aminotransferase, Fosfatase Alcalina, Uréia e Creatinina. A ALT apresentou alteração em 39 (15,35%) animais, sendo que em 32 (82%) os testes se mostraram acima do valor de referência e em 7 (18%) apresentaram atividade da enzima diminuída. Para FA houve alteração em 23 (9,05%) animais, sendo todos os resultados aumentados, quando comparados com o valor de referência. 51 (20,07%) amostras testadas apresentaram creatinina elevada, e a dosagem da uréia se mostrou aumentada em 49 (19,29%) animais do estudo.

Apenas um animal sororeagente para *Leptospira* spp. apresentou alteração bioquímica. Os parâmetros creatinina e uréia estavam aumentados no felino que apresentou co-aglutinação (titulação para os sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni).

## DISCUSSÃO

Segundo Hartmann et al. (2013), a prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* em gatos varia entre 0-35% de positividade. O percentual de animais positivos da pesquisa se mostrou baixo, quando comparado a Jamshidi et al. (2009) que em seu estudo, demonstraram positividade de 27% em títulos igual ou maior 1:100 e concluiu que gatos de rua possuem maior soroprevalência quando comparados a títulos de gatos domiciliados. As amostras do presente estudo foram provenientes do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural da Amazônia, sugerindo em sua maioria a condição de domiciliados, justificando assim a baixa taxa de animais positivos.

Markovich et al. (2012), encontraram em Massachusetts 4,8% de gatos com títulos igual ou maiores de 1: 100 dos sorovares testados, prevalência aproximada a encontrada por Parreira (2009), que identificou nas cidades de Goiânia e Aparecida de Goiânia, 8,84% e 5,99%, respectivamente de soropositividade de anticorpos antileptospíricos, portanto, apresentaram títulos superiores aos encontrados na presente pesquisa. No entanto, Esteves et al. (2005) em estudo no Zoológico de Uberaba não encontraram positividade nos felinos domésticos testados.

Os sorovares encontrados coincidem com Parreira (2009) que além dos sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae, detectou também o Australis, Bratislava, Butembo, Castellonis, Canicola, Cynopteri, Djasiman, Hebdomadis, Pomona, Pyrogenes, Hardjo e Patoc, com título mínimo de 1:100; e com Dickeson et al. (1993) que estudando a leptospirose em grandes grupos de gatos domésticos, demonstraram também a soropositividade de Pomona, Canicola, Grippotyphosa, Autumnalis, Ballum, Tarassovi e Zaroni, diferindo, no entanto, dos achados de Markovich et al. (2012), que encontraram somente o sorovar Autumnalis.

Quanto aos sorovares, Dickeson et al. (1993) relataram uma maior frequência do sorovar Pomona, e Jamshidi et al. (2009) observaram uma frequência de 94,7% (18 dos 19 gatos soropositivos) do sorovar Canicola. No estudo presente foi observada maior frequência do sorovar Copenhageni, observando-se, portanto, uma frequência variada de sorovares quando comparada a outros estudos com felinos, não permitindo assim afirmar que os gatos domésticos sejam hospedeiros preferenciais de um sorovar específico.

O sorovar Icterohaemorrhagiae, um dos mais esperados pela sua presença expressiva em ratos e cães (Blazius, 2005), tendo os ratos como seus hospedeiros preferenciais, foram detectados em dois animais na pesquisa. A presença de soropositividade para sorovar transmitido por roedores pode ser explicada pela origem dos animais incluídos na pesquisa, pois muitos eram advindos de bairros periféricos segundo dados obtidos anteriormente.

A co-aglutinação ocorreu em um animal (14,29%) dos animais amostrados positivos, o que pode ser relacionado por Bolin (2003), à infecção concomitante de vários sorovares de *Leptospira* spp. ou por reações cruzadas entre sorovares de um mesmo sorogrupo. Ainda quanto à interpretação dos resultados, registra-se que quando um animal apresenta reação cruzada de dois ou mais sorovares do mesmo sorogrupo, considera-se, como indicado por Guerra-Neto (2006), o que apresenta o maior título. Assim, foram interpretados como positivos todos os animais com título mínimo de 1:100, mas para aqueles que co-aglutinaram ou que apresentaram títulos maiores que 1:100 considerou-se o maior título como sorovar infectante. No estudo, houve co-aglutinação do sorovar Copenhageni e Icterohaemorrhagiae, sendo o último apresentando título de 1:3200, maior titulação usada no experimento, portanto, considerado o infectante.

A associação da sorologia com alterações bioquímicas permite caracterizar-se mais rapidamente o quadro clínico, facilitando tanto o diagnóstico e o prognóstico dos animais (Kogika et al., 1990). O comprometimento renal evidenciado pelo aumento nos níveis séricos de uréia e creatinina é achado freqüente nos casos de leptospirose aguda (Hagiwara et al., 2004). Isto ocorre principalmente em decorrência da redução da perfusão renal por lesões isquêmicas no parênquima do órgão e pela diminuição da taxa de filtração glomerular associadas à destruição das células do epitélio renal por toxinas e componentes de membrana das leptospiras (Greene, 2006). Levando em consideração os resultados do estudo, o único animal positivo que apresentou alteração (aumento) nos parâmetros creatinina e uréia, apresentou alta titulação para o sorovar Icterohaemorrhagiae, e ainda títulos para o sorovar Copenhageni (1:200).

Arbour et al. (2012), relatam relação entre poliúria e polidipsia e a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp. Sugerem ainda que a manifestação clínica mais comum em gatos com leptospirose parece ser uma nefrite intersticial causada diretamente pela espiroqueta, evidenciado pela histopatologia da inflamação renal.

Os resultados obtidos das provas bioquímicas não permitiram fazer maiores considerações, pois as alterações freqüentes detectadas nas amostras de animais submetidos às provas não puderam ser relacionadas com o resultado de sorologia positiva para leptospirose. Como relatado, a maioria dos animais soropositivos para *Leptospira* spp. não apresentaram bioquímica alterada, enquanto em indivíduos negativos foram constatados valores fora dos parâmetros de referência. Assim, de

acordo com Parreira (2009), estas alterações bioquímicas podem ser atribuídos a fatores diversos, como dieta, idade, medicação porventura utilizada, hemólise das amostras, descongelamento das mesmas, dentre outros, embora não possa ser descartada a hipótese de alterações relacionadas à infecção.

## CONCLUSÃO

Os sorovares *Icterohaemorrhagiae* e *Copenhageni* foram diagnosticados em gatos domésticos no município de Belém.

O papel do gato na epidemiologia da leptospirose tem relevância e a vigilância epidemiológica quanto à doença em questão também deve levar em consideração a espécie aqui estudada.

As alterações laboratoriais não apresentaram relação direta com a positividade, portanto, os animais com tais características deveriam apresentar co-morbididades renais e/ou hepáticas que não foram objeto do presente estudo.

Muito há em se estudar da doença na espécie felina para que se possa entender o verdadeiro papel do gato doméstico na epidemiologia da leptospirose.

## REFERÊNCIAS

- Antech diagnostics News, Leptospirosis, december 2000. [on line]. Disponível em: <[http://www.antechdiagnostics.com/clients/antechNews/2000/dec00\\_01.htm](http://www.antechdiagnostics.com/clients/antechNews/2000/dec00_01.htm)> Acesso em: 01 de junho de 2013.
- Arbour J., Blais M.C., Carioto L. & Sylvestre D. 2012. Clinical leptospirosis in three cats (2001–2009). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 48: 256–260.
- Blazius R.D., Romão P.R.T., Blazius E.M.C.G. & Silva O.S. 2005. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. *Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro*, v.21, p.1952-1956.
- Brasil. 2005. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, 6ª ed., Brasília. 816 p.
- Dickeson D. & Love D.N. 1993. A serological survey of dogs, cats and horses in southeastern Australia for leptospiral antibodies. *Australian Veterinary Journal*, v.70, n.10, p.389-90.
- Greene C.E. 2006. *Infectious diseases of the dog and cat*. Athens: Saunders, 2006. 934 p.
- Guerra Neto G. 2006. Freqüência de anticorpos contra *Leptospira* spp. em felídeos neotropicais em cativeiro no Brasil. Dissertação (Mestrado em patologia animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias, UNESP. 49 f.
- Hagiwara M.K., Lustosa M. & Kogika M.M. 2004. Leptospirose canina. *Vet News, São Paulo*, v. 11, n. 67, p. 7-8.
- Hartmann K., Egberink H., Pennisi M.G., Lloret A., Addie D., Belák S., Boucraut-Baralon C., Frymus T., Gruffydd-Jones T., Hosie M.J., Lutz H., Marsilio F., Möstl K., Radford A.D., Thiry E., Truyen U. & Horzinek M.C. 2013. *Leptospira* Species Infection in Cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 15: 576.
- Jamshidi S., Akhavizadegan M.A., Bokaie S., Maazi N. & Ghorban, A.A. 2009. Serologic study of feline leptospirosis in Tehran, Iran. *J. Microbiol.* 1 (2) : 32 – 36.

- Kogika M.M., Hagiwara, M.K., & Mirandola R. M. S. 1990. Alterações bioquímicas na leptospirose canina. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 177-182.
- Markovich J.E., Ross L., & McCobb E. 2012. The Prevalence of Leptospiral Antibodies in Free Roaming Cats in Worcester County, Massachusetts. *J. Vet. Intern. Med.* 26:688-689.
- Ministério da saúde. 2012. Brasil. Leptospirose [Internet]. Brasília; 2012 [citado 2012 ago 21]. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id\\_area=1562](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1562)>. Acesso em 10 de maio de 2013.
- Parreira I.M. 2009. Aspectos epidemiológicos de infecção por *Leptospira* spp. em felinos domésticos (*Felis catus*) aparentemente saudáveis da região metropolitana de Goiânia, Goiás. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária. 57p.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B. & Carter G.R. 1994. *Clinical Veterinary Microbiology*. Spain: Wolfe. p.295.
- Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T., De Nicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A. & Weiser G. 2006. *Hematologia e Bioquímica Veterinária*. Roca, São Paulo. 582p.

**Quadro 1. Incidência de anticorpos anti-*Leptospira* spp., por sorovar, no total de 254 amostras de gatos domésticos provenientes da cidade de Belém - PA, no período de janeiro de 2012 a maio de 2013**

<b>Amostras</b>	<b>Positivas</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
Co-aglutinação	1	14,3
Copenhageni	5	71,4
Icterohaemorrhagiae	1	14,3
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100</b>

**Quadro 2. Frequência da positividade de amostras sorológicas de gatos domésticos oriundos da cidade de Belém - PA, ao teste de SAM, segundo o sorovar reagente e o título obtido, no período de janeiro de 2012 a maio de 2013**

<b>Sorovar</b>	<b>Títulos</b>						<b>Total</b>	<b>Porcentagem(%)</b>
	<b>1:100</b>	<b>1:200</b>	<b>1:400</b>	<b>1:800</b>	<b>1:1600</b>	<b>1:3200</b>		
Copenhageni	2	1	2	1	0	0	6	85,7
Icterohaemorrhagiae	0	1	0	0	0	1	2	14,3
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>100</b>



## ANEXO

### **Descrição da Prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM) empregada no Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses, 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**

Prova de triagem:

- 1 – O soro é diluído a 1:50, colocando-se 0,1 mL deste para 4,9 mL de SST (Solução Salina Tamponada) 0,01M pH7,6 em um tubo de ensaio pequeno;
- 2 – Em microplaca, devidamente identificada e marcada, pipetar 50 $\mu$ L do soro diluído nos poços, formando uma fileira. O número de poços preenchidos depende do número de sorovares que serão testados. Faz-se o mesmo para poço controle, onde ao invés de soro é pipetado SST 0,1M pH 7,6;
- 3 – Acrescentar nos respectivos poços, inclusive os controles, 50  $\mu$ L das correspondentes suspensões antigênicas, passando a diluição final em cada pocinho para 1:100;
- 4 - Agitar levemente a placa, e deixar repousar em estufa a 37°C, por 1 hora;
- 5 – Com alça bacteriológica de aproximadamente 2mm de diâmetro, colocar uma gota do conteúdo de cada pocinho em fileiras sobre uma lâmina;
- 6 – Examinar sem lamínula em microscópio de campo escuro, observar na objetiva de 10x e ocular de 10x;
- 7 – Anotar o grau de aglutinação para cada sorovar, considerando positivos aqueles que possuírem 50% ou mais de aglutinação, ou seja, 50% de leptospiras aglutinadas e 50% livres, tendo como referência os respectivos controles.

Titulação:

O soro que na prova de triagem, mostrou 50% de aglutinação, ou mais, deverá ser submetido a prova de titulação, realizando-se a mesma somente para os sorovares reagentes.

- 1 – A partir da diluição 1:50 utilizada na prova de triagem, preparar mais 6 diluições do soro ou quantas forem necessárias, consecutivas e ao dobro (títulos de 1:100 a 1:3200);
- 2 – Preparar uma microplaca com fileiras com 6 poços, que corresponderão à titulação de um determinado sorovar ou antígeno;

- 3 – À parte, preparar também um poço para controle de cada antígeno;
- 4 – Colocar 100µL de soro diluído a 1:50 no primeiro poço de reação do sorovar testado, colocando 50µL de SST 0,01M pH7,6 nos demais poços para este antígeno. Fazer o mesmo para as demais amostras de soro que estiverem sendo testadas;
- 5 – Para se obter a diluição desejada pipetar 50µL da 1ª diluição, após homogeneizar-se e pipetar 50µL desta, agindo sucessivamente, desprezando 50µL da última diluição. No final todos os poços apresentaram 50µL de mistura na diluição de 1:50, 1:100, 1:200,...etc., em cada fileira, correspondendo-se aos títulos 50, 100, 200, assim por diante;
- 6 – Distribuir 50µL do antígeno (sorovar) correspondente a cada poço da respectiva fileira e ao controle ( Nesta etapa, as diluições de soro passaram a ser de 1:100 a 1:3200);
- 7 – Após homogeneizar, incubar e fazer a leitura conforme descrito para a prova de triagem;
- 8 – Considerar como título a maior diluição do soro capaz de aglutinar 50% ou mais das leptospiras, em relação ao controle;

Títulos: 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200.

Sorovares pesquisados: Autumnalis, Bratislava, Australis, Canicola, Cynopteri, Djasinam, Grippytyphosa, Copenhageni, icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Hardjo.