

## Anticorpos anti-*Leptospira* spp. em gatos do semiárido do Estado da Paraíba

### Anti-*Leptospira* spp. antibodies in cats from the semiarid of the Paraíba State

Arthur Willian de Lima Brasil<sup>1</sup>; Roberta Nunes Parantoni<sup>1</sup>; Thaís Ferreira Feitosa<sup>1</sup>; Vinicius Longo Ribeiro Vilela<sup>1</sup>; Clebert José Alves<sup>2</sup>; Sílvio Arruda Vasconcellos<sup>3</sup>; Sérgio Santos de Azevedo<sup>2\*</sup>

#### Resumo

O objetivo do presente trabalho foi determinar a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e os fatores de risco associados em gatos errantes e domiciliados no município de Patos, semiárido do Estado da Paraíba. Foram coletadas amostras de sangue de 129 gatos (61 domiciliados e 68 errantes) no período de julho a agosto de 2011. Para a pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi empregado o teste de soroprecipitação microscópica (SAM), utilizando 24 sorovares como antígenos. Dos 129 gatos examinados, sete (5,43%) foram soropositivos para o sorovar Pomona, com títulos variando de 200 a 3.200. Dos gatos errantes três (4,41%) foram soropositivos e dos domiciliados quatro (6,56%) apresentaram anticorpos anti-*Leptospira* spp. Com relação à análise de fatores de risco, as variáveis e respectivas categorias associadas à maior soropositividade foram idade/> 48 meses ( $p = 0,001$ ), ambiente onde o animal permanece/grama ( $p = 0,009$ ) e presença de ratos/sim ( $p = 0,020$ ).

**Palavras-chave:** Leptospirose, felinos, fatores de risco, epidemiologia

#### Abstract

The aim of this survey was to determine the frequency of anti-*Leptospira* spp. antibodies and the associated risk factors in stray and domiciled cats in the county of Patos, semiarid region of the Paraíba state. Blood samples from 129 cats (61 domiciled and 68 stray) were collected during the period of July to August 2011. For the anti-*Leptospira* spp. antibody search the microscopic agglutination test (MAT) was performed using 24 serovars as antigens. Of the 129 cats examined seven (5.43%) were seropositive to serovar Pomona, with titers ranging from 200 to 3,200. Of the stray cats three (4.41%) were seropositive, and of the domiciled four (6.56%) presented anti-*Leptospira* spp. serovars. Relating to risk factor analysis the variables and respective categories associated with the higher seropositivity were age/> 48 months ( $p = 0.001$ ), environment where the animal stays/grass ( $p = 0.009$ ) and presence of rodents/yes ( $p = 0.020$ ).

**Key words:** Leptospirosis, feline, risk factors, epidemiology

<sup>1</sup> Discentes de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Patos, PB. E-mail: arthurwillian7@yahoo.com.br; roberta\_np@hotmail.com; feita\_tf@yahoo.com.br; vilelavlr@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Profs., Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UFCG, Patos, PB. E-mail: clebertja@uol.com.br; sergio.azevedo@pq.cnpq.br

<sup>3</sup> Prof., Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, SP. E-mail: savasco@usp.br

\* Autor para correspondência

A leptospirose, causada por bactérias do gênero *Leptospira* spp., é uma importante zoonose difundida em todo mundo, afetando principalmente bovinos, equinos, suínos e cães (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). A persistência do agente no ambiente e o elevado potencial de infecção são assegurados, entre outros fatores, pela multiplicidade de espécies hospedeiras capazes de albergá-lo e eliminá-lo. Por outro lado, o papel dos gatos na epidemiologia da infecção tem recebido pouca atenção (MARKOVICH; ROSS; MCCOBB, 2012).

Em condições experimentais, foi demonstrado que os gatos podem adquirir leptospirose pela ingestão de roedores infectados, bem como pela ingestão de água contaminada (SHOPHET; MARSHALL, 1980). Por outro lado, não há relatos de leptospirose clínica em condições naturais nesses animais, no entanto, Fenimore, Carter e Lunn (2012) detectaram DNA de *Leptospira* spp. em urina de 10 (11,8%) gatos errantes/ferais entre 85 examinados.

Estudos sorológicos conduzidos em diversas regiões referiram frequências de soropositividade que variaram de 4,8% a 33,3% (ALVES et al., 2003; LARSSON et al., 1985; MARKOVICH; ROSS; MCCOBB, 2012; MYLONAKIS et al., 2005). No Estado da Paraíba, até o momento, apenas um trabalho foi conduzido com o objetivo de determinar a ocorrência de gatos soropositivos, no qual a frequência encontrada foi de 11% em animais do município de Patos (ALVES et al., 2003). No entanto, nesse estudo não foram investigados os possíveis fatores de risco associados à soropositividade. Dessa maneira, o objetivo do presente trabalho foi determinar a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e os fatores de risco associados em gatos errantes e domiciliados no município de Patos, semiárido do Estado da Paraíba.

Foram coletadas amostras de sangue de 129 gatos sem sinais clínicos sugestivos de

leptospirose, sendo 61 domiciliados e 68 errantes, no período de julho a agosto de 2011, na cidade de Patos, semiárido paraibano. Não foram adotados critérios probabilísticos para a seleção dos animais, de maneira que os animais domiciliados foram selecionados após contato prévio com o proprietário; com relação aos gatos errantes, foram selecionados animais que se encontravam nas proximidades do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, em Patos-PB. As coletas foram realizadas por punção da veia jugular, e após o dessoramento o soro foi transferido para microtubos e congelado. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), protocolo nº 27-2012.

Para a pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. foi utilizado o teste de soroaglutinação microscópica (SAM), de acordo com Galton et al. (1965) e Cole, Sulzer e Pursell (1973), utilizando coleção de 24 antígenos vivos que incluiu os sorovares Australis, Bratislava, Autumnales, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Grippotyphosa, Hebdomadis, Compenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo (Hardjoprajitno), Wolffi, Shermani, Tarassovi, Sentot, Andamana e Patoc. Os soros foram triados na diluição de 1:100, e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram titulados pelo exame de uma série de diluições geométricas de razão dois. O título do soro foi a recíproca da maior diluição que apresentou resultado positivo. Os antígenos foram examinados ao microscópio de campo escuro, previamente aos testes, a fim de verificar a mobilidade e a presença de autoaglutinação ou de contaminantes.

Foi preenchido um questionário epidemiológico junto aos proprietários dos animais domiciliados com o objetivo de obter informações para utilização na análise de fatores de risco. As informações obtidas foram: idade (em meses), ambiente onde o animal permanece, presença de ratos, tipo de alimentação,

acesso à rua, presença de outros gatos, local onde o animal defeca e hábito de caçar. Para a análise de fatores de risco foi realizada análise de associação pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher, com nível de significância de 5%, utilizando-se o programa EpiInfo versão 6.04 (DEAN, 1994).

Dos 129 gatos examinados, sete (5,43%) foram soropositivos. Dos gatos errantes três (4,41%)

foram soropositivos e dos domiciliados quatro (6,56%) apresentaram anticorpos anti-*Leptospira* spp. (Tabela 1), no entanto, não houve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,707$ ). Os animais foram soropositivos apenas para o sorovar Pomona, sendo dois animais domiciliados e um não domiciliado com título 200, e outros dois domiciliados e dois não domiciliados com título 3.200.

**Tabela 1.** Frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em gatos errantes e domiciliados no município de Patos, Estado da Paraíba, no período de julho a agosto de 2011.

| População    | Nº total de animais | Nº de animais positivos (%) |
|--------------|---------------------|-----------------------------|
| Domiciliados | 61 (47,29%)         | 4 (6,56%)                   |
| Errantes     | 68 (52,71%)         | 3 (4,41%)                   |
| Total        | 129 (100%)          | 7 (5,43%)                   |

**Fonte:** Elaboração dos autores.

A infecção por *Leptospiras* em felinos é rara, contudo estudos sorológicos recentes sobre a leptospirose em gatos indicam a presença de anticorpos anti-*Leptospira* com prevalências variando entre 4,8% a 25% (CHAN et al., 2014; LAPOINTE; PLAMONDON; DUNN, 2013; MARKOVICH; ROSS; MCCOBB, 2012). Mesmo com baixos valores de prevalência esses dados não podem ser negligenciados, pois indicam que o agente está sendo perpetuado no ambiente.

O sorovar Pomona é referido como o mais comumente encontrado em suínos, geralmente associado a falhas reprodutivas em matrizes e septicemia em leitões (SOTO et al., 2007). A sua ocorrência no presente estudo pode ser justificada pelo contato de gatos com urina de suínos infectados, levando-se em consideração que, na cidade de Patos-PB, é comum a presença de suínos soltos na periferia e inclusive na zona urbana. Some-se a isso o fato de que todos os gatos domiciliados soropositivos ( $n = 4$ ) tiveram acesso à rua (Tabela 2). O sorovar Pomona também foi apontado como o mais frequente em gatos em Tehram, Irã

(JAMSHIDI et al., 2009) e em Massachusetts, EUA (MARKOVICH; ROSS; MCCOBB, 2012), bem como em estudo anterior realizado na mesma área do presente trabalho (ALVES et al., 2003).

Os títulos de anticorpos anti-*Leptospira* em gatos frequentemente são baixos, variando de 1:100 até 1:400 (CHAN et al., 2014; LAPOINTE; PLAMONDON; DUNN, 2013) Não se sabe a importância epidemiológica desses títulos, contudo acredita-se que a imunidade humoral seja suficiente para controlar a infecção nesses animais. Títulos a partir de 3.200 podem refletir tanto uma infecção ativa ou recente, sugerindo que a maioria dos animais soropositivos no presente trabalho poderia estar com infecção ativa, contudo, isso só poderia ser confirmado através de técnicas diretas de diagnóstico. É relatado que gatos com altos títulos de anticorpos têm maior tendência a desenvolverem doença renal e conseqüente eliminarem leptospiras na urina (RODRIGUEZ et al., 2014).

Com relação à análise de fatores de risco (Tabela 2), as variáveis e respectivas categorias associadas à maior soropositividade foram idade/ $> 48$  meses ( $p$

= 0,001), ambiente onde o animal permanece/grama ( $p = 0,009$ ) e presença de ratos/sim ( $p = 0,020$ ).

Mosallanejad et al. (2011), no Irã, analisando os fatores de risco para a leptospirose, observaram que gatos com mais de 36 meses de idade apresentaram mais chance de serem soropositivos em comparação

com animais jovens. Essa observação também foi feita por Childs et al. (1992), que referiram maior soropositividade em gatos com mais de 19 meses de idade. Isso pode ser explicado pela maior exposição às leptospirose em função da idade (MYLONAKIS et al., 2005).

**Tabela 2.** Fatores de risco associados à frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em gatos domiciliados no município de Patos, Estado da Paraíba, no período de julho a agosto de 2011.

| Variável                         | Categoria      | Nº total de animais | Nº animais positivos (%) | P     |
|----------------------------------|----------------|---------------------|--------------------------|-------|
| Idade (meses)                    | Até 48 meses   | 49                  | 0 (0)                    | 0,001 |
|                                  | > 48 meses     | 12                  | 4 (33,3)                 |       |
| Ambiente onde o animal permanece | Piso           | 41                  | 0 (0)                    | 0,009 |
|                                  | Grama          | 20                  | 4 (20)                   |       |
| Presença de Ratos                | Não            | 37                  | 0 (0)                    | 0,02  |
|                                  | Sim            | 24                  | 4 (16,7)                 |       |
| Tipo de alimentação              | Ração          | 24                  | 0 (0)                    | 0,127 |
|                                  | Comida caseira | 37                  | 4 (10,8)                 |       |
| Acesso à rua                     | Não            | 13                  | 0 (0)                    | 0,569 |
|                                  | Sim            | 48                  | 4 (8,3)                  |       |
| Presença de outros gatos         | Não            | 18                  | 2 (11,1)                 | 0,574 |
|                                  | Sim            | 43                  | 2 (4,7)                  |       |
| Local onde o animal defeca       | Caixa de areia | 12                  | 0 (0)                    | 0,576 |
|                                  | Ambiente       | 49                  | 4 (8,2)                  |       |
| Hábito de caçar                  | Não            | 23                  | 0 (0)                    | 0,287 |
|                                  | Sim            | 38                  | 4 (10,5)                 |       |

**Fonte:** Elaboração dos autores.

O ambiente é um elo de grande importância na cadeia epidemiológica da leptospirose, de maneira que temperatura entre 28 e 30°C e umidade entre 15,2 a 31,4% são fatores físicos propícios para a sobrevivência do agente em ausência de parasitismo (FAINE et al., 1999; LEVETT, 2001). Devido ao clima semiárido da região estudada, a grama torna-se um ambiente viável para a permanência de leptospirose no ambiente em função da umidade e da temperatura adequadas à sobrevivência do agente. Dados semelhantes foram observados em Quebec, Canadá, onde durante os meses de maior calor e umidade foram relatadas as maiores frequências de anticorpos anti-*Leptospira* nos gatos avaliados (RODRIGUEZ et al., 2014).

Os ratos são considerados os principais reservatórios de leptospirose, uma vez que eliminam o agente através da urina e não apresentam sinais clínicos, de maneira que a presença de ratos no ambiente é um fator de risco biologicamente plausível. Em Baltimore, Childs et al. (1992) também referiram que o contato de gatos com a urina de roedores foi um fator de risco para a infecção por leptospirose.

A presença de gatos soropositivos para leptospirose e com altos títulos de anticorpos, no município de Patos-PB, é indicativo de que o agente pode estar circulando na população felina e com possível eliminação do agente no meio

ambiente, o que pode ter implicações negativas para a saúde pública. A correção dos fatores de risco identificados, principalmente no tocante ao controle de roedores, torna-se importante para a prevenção da exposição dos animais às leptospirosas e, conseqüentemente, para diminuir os riscos de transmissão do agente aos seres humanos.

## Referências

- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology*, New York, v. 140, n. 3-4, p. 287-296, 2010.
- ALVES, C. J.; VASCONCELLOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; ANDRADE, J. S. L.; CLEMENTINO, I. J.; AZEVEDO, S. S.; SANTOS, F. A. Avaliação dos níveis de aglutininas antileptospirosas em gatos no município de Patos-PB. *Clínica Veterinária*, São Paulo, v. 8, n. 46, p. 48-54, 2003.
- CHAN, K. W.; HSU, Y. H.; HU, W. L.; PAN, M. J.; LAI, J. M.; HUANG, K. C.; CHOU, S. J. Serological and PCR detection of feline leptospira in southern Taiwan. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, New York, v. 14, n. 2, p. 118-123, 2014.
- CHILDS, J. E.; SCHWARTZ, B. S.; KSIAZEK T. G.; GRAHAM, R. R.; LEDUC, J. W.; GLASS, G. E. Risk factors associated with antibodies to leptospires in inner-city residents of Baltimore: a protective role for cats. *American Journal of Public Health*, Washington, v. 82, n. 4, p. 597-599, 1992.
- COLE, J. R.; SULZER, C. R.; PURSELL, A. R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Applied Microbiology*, Washington, v. 25, n. 6, p. 976-980, 1973.
- DEAN, A. G. *EpiInfo version 6: a word-processing, database, and statistic program for public health on IBM-compatible microcomputers*. Atlanta: Center for Disease Control and Prevention, 1994. 601 p.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira and leptospirosis*. 2. ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272 p.
- FENIMORE, A.; CARTER, K.; LUNN, K. F. Detection of leptospiruria in shelter cats in Colorado. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Philadelphia, v. 26, n. 3, p. 783, 2012.
- GALTON, M. M.; SULZER, C. R.; SANTA ROSA, C. A.; FIELDS, M. J. Application of a microtechnique to the agglutination test for leptospiral antibodies. *Applied Microbiology*, Washington, v. 13, n. 1, p. 81-85, 1965.
- JAMSHIDI, S.; AKHAVIZADEGAN, M. A.; BOKAIE, S.; MAAZI, N.; GHORBAN ALI, A. Serologic study of feline leptospirosis in Tehran, Iran. *Iranian Journal of Microbiology*, Tehran, v. 1, n. 2, p. 32-36, 2009.
- LAPOINTE, C.; PLAMONDON, I.; DUNN, M. Feline leptospirosis serosurvey from a Quebec referral hospital. *The Canadian Veterinary Journal*, Ottawa, v. 54, n. 5, p. 497-499, 2013.
- LARSSON, C. E.; SANTA ROSA, C. A.; LARSSON, M. H. M. A.; BIRGEL, E. H.; FERNANDES, W. R.; PAIM, J. V. Laboratory and clinical features of experimental feline leptospirosis. *International Journal of Zoonoses*, Taiwan, v. 12, n. 2, p. 111-119, 1985.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.
- MARKOVICH, J. E.; ROSS, L.; MCCOBB, E. The Prevalence of leptospiral antibodies in free roaming cats in Worcester County, Massachusetts. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Philadelphia, v. 26, n. 3, p. 688-689, 2012.
- MOSALLANEJAD, B.; NAJAFABADI, M. G.; AVIZEH, R.; ABDOLLAHPOUR, G. R.; ABADI, K. A serological survey of leptospiral infection of cats in Ahvaz, south-western of Iran. *International Journal of Veterinary Research*, Tehran, v. 5, n. 1, p. 49-52, 2011.
- MYLONAKIS, M. E.; BOURTZI-HATZOPOULOU, B.; KOUTINAS, A. F.; PETRIDOU, E.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; LEONTIDES, L.; SIOCHU A. Leptospiral seroepidemiology in a feline hospital population in Greece. *Veterinary Record*, London, v. 156, n. 9, p. 615-616, 2005.
- RODRIGUEZ, J.; BLAIS, M. C.; LAPOINTE, C.; ARSENAULT, J.; CARIOTO, L.; HAREL, J. Serologic and Urinary PCR Survey of Leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Philadelphia, v. 28, n. 2, p. 284-293, 2014.
- SHOPHET, R.; MARSHALL, R. B. An experimentally induced predator chain transmission of *Leptospira ballum* from mice to cats. *British Veterinary Journal*, London, v. 136, n. 3, p. 265-270, 1980.
- SOTO, F. R. M.; VASCONCELLOS, S. A.; PINHEIRO, S. R.; BERNARDI, F.; CAMARGO, S. R. Leptospirose suína. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 74, n. 4, p. 379-395, 2007.

