

## SOROPREVALÊNCIA DE *LEPTOSPIRA SPP.* EM CÃES E GATOS NO MUNICÍPIO DE BAMBUÍ – MINAS GERAIS

Carolina Souza Paulino<sup>1</sup>, Vanessa Aparecida da Silva<sup>2</sup>, Luana Aparecida de Faria<sup>2</sup>, Jennifer Araújo dos Santos<sup>2</sup>, Clarice Silva Cesário<sup>3</sup>, Michelle de Paula Gabardo<sup>4</sup>

1. Bolsista de Iniciação Científica, IFMG-*campus* Bambuí
2. Voluntários de Iniciação científica, Medicina Veterinária, IFMG-*campus* Bambuí
3. Técnica de Laboratório, IFMG-*campus* Bambuí
4. Orientadora: Pesquisadora do IFMG-*campus* Bambuí; michelle.gabardo@ifmg.edu.br

### RESUMO

A leptospirose é uma doença de distribuição mundial que pode afetar várias espécies de mamíferos. Embora seja potencialmente letal, o seu impacto na saúde da população humana e animal ainda é subestimado. Devido cães e gatos se tornarem portadores assintomáticos por um longo período e estarem em intenso convívio com o ser humano, esses animais podem servir como sentinelas da contaminação ambiental para essa doença. Junto a isso, a prevalência da doença em cães e gatos varia muito entre cidades e períodos estudados, portanto, é de fundamental importância que cada localidade faça seu estudo e conheça os fatores que levam a contaminação pela *Leptospira spp.* e seus sorovares. A utilização de animais em campanhas de castração para a verificação de doenças em animais é uma prática já realizada e traz diversas informações importantes. O objetivo deste estudo foi determinar a soropositividade para *Leptospira spp.* em cães e gatos submetidos a campanha de castração realizada pela Prefeitura de Bambuí – Minas Gerais. A coleta das amostras foi realizada em caninos e felinos levados a campanha de castração e seus tutores autorizaram a realização da pesquisa. Na primeira etapa do projeto foram coletadas 150 amostras de sangue dos cães e gatos em três dias de campanha. A detecção de anticorpos anti-*Leptospira spp.* foi realizada através da técnica de soroaglutinação microscópica (MAT) no Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Universidade de São Paulo. Das 150 amostras coletadas na castração, 144 soros foram analisados. Destes, 109 eram amostras de cães e 35 amostras de gatos. 15 amostras (13,76%) de cães deram positivo para algum sorovar de leptospira, sendo o sorovar Canícola o mais frequente, presente em 6 análises, resultando em 5,5%, enquanto o sorovar Butembo esteve presente em 3,67%, Copenhageni em 3,67%, Hardjoprajitno em 2,75%, Australis em 0,91%, Icterohaemorrhagiae em 0,91%, Shermani em 0,91% e Whitcombi em 0,91%. Todos os gatos foram negativos. De acordo com os resultados das análises obtidas foi possível observar a presença animais soropositivos para *Leptospira spp.* para diferentes sorovares.

### INTRODUÇÃO:

A leptospirose é uma doença de distribuição mundial que pode afetar várias espécies de mamíferos. Nos países tropicais e em desenvolvimento é considerada uma Doença Tropical Negligenciada (DTN) (Costa et al., 2015), com a mortalidade variando entre 10 e 70% (McBride et al., 2015). Esse padrão é atribuído a fatores socioeconômicos, climáticos, ambientais e à abundância de reservatórios que favorecem a sobrevivência de *Leptospira spp.*, aumentando o risco de transmissão para seres humanos e animais.

Os cães são hospedeiros acidentais para a maioria dos sorovares de *Leptospira* descritos, exceto para Canicola, para o qual estes são considerados hospedeiros de manutenção (Cortez et al., 2020). A transmissão para os cães ocorre principalmente por meio do contato com solo e / ou água contaminada com urina ou por contato direto de indivíduos suscetíveis com animais infectados (Picardeau, 2013). Apesar de raros os relatos de infecção de *Leptospira spp.* em gatos, os mesmos podem ser hospedeiros acidentais de vários sorovares, incluindo o Canicola (Azócar-Aedo et al., 2014). Trabalhos recentes isolaram o agente de rim e urina de gatos saudáveis (Dorsch et al., 2020, Alashraf et al., 2020). Além disso, os cães e gatos são predadores que podem ingerir presas (como os ratos) que podem estar infectadas e, portanto, provavelmente têm mais contato com *Leptospira spp.* Uma vez infectados, os cães e gatos podem se tornar portadores crônicos, excretando leptospiros na urina, colocando outros animais e seres humanos em risco (Azócar-Aedo et al., 2014, Miotto et al., 2018).

A leptospirose pode ser caracterizada por febre, insuficiência renal e hepática, manifestações pulmonares e insuficiência reprodutiva. Os sinais clínicos são bastante variáveis; a maioria dos casos é provavelmente inaparente e associada a sorovares adaptados ao hospedeiro, como Canicola em cães, Bratislava em cavalos

e porcos, Hardjo em bovinos e Australis e Pomona em porcos (André-Fontaine, 2006; Grooms, 2006). No entanto, outros sorovares podem estar envolvidos em doenças mais sérias. Deve-se diferenciar infecção por *Leptospira spp.* de um quadro clínico de leptospirose. A infecção se torna enfermidade a partir do momento em que sinais e sintomas são evidenciados clinicamente, portanto nem toda infecção leptospírica resultará em enfermidade, ainda mais quando tal infecção se dá em hospedeiros de manutenção, também chamados de hospedeiros preferenciais na epidemiologia da leptospirose. Hospedeiros de manutenção são aquelas espécies animais em que a *Leptospira spp.* não causa a doença, ou ela é subclínica, com sinais relativamente leves da doença, a produção de imunoglobulinas é baixo e há uma colonização renal por tempo prolongado promovendo uma contaminação ambiental por um longo período. Já nos hospedeiros acidentais, por sua vez, a doença pode ser mais grave, há uma produção elevada de anticorpos e a colonização renal é curta ou inexistente (Ribeiro et al., 2018). Essa associação com os hospedeiros de manutenção propicia condições benéficas de sobrevivência no hospedeiro e contaminação do ambiente ao induzir menor imunogenicidade. As campanhas de castração organizadas pela prefeitura fazem parte do controle populacional de cães e gatos, e ocorrem semestralmente. Estas têm como prioridade cães e gatos de rua ou de pessoas de baixa renda, que não possuem orçamento para pagar por uma cirurgia em clínicas privadas. Ou seja, nessas campanhas há uma diversidade das regiões das quais os animais pertencem, assim como uma diversidade de tipo de criação, sendo uma população bastante heterogênea e abrangente do município. Alguns estudos sugerem que nas campanhas de castração pode haver monitoria estratégica das doenças zoonóticas e auxiliar no estabelecimento de estratégias preventivas para a saúde humana e animal (Cortez et al., 2020; Sevá et al., 2020). Com isso o objetivo deste trabalho foi determinar a soropositividade para *Leptospira spp.* em de cães e gatos submetidos a campanha de castração realizada pela Prefeitura de Bambuí – Minas Gerais.

## **METODOLOGIA:**

O trabalho foi realizado utilizando cães e gatos levados para a campanha de castração realizada no município de Bambuí – Minas Gerais, no mês de setembro de 2021. Os procedimentos com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais e com a permissão dos tutores. A coleta de sangue foi realizada na veia cefálica no animal em fase de recuperação anestésica. Em média cinco mililitros de sangue foram coletados de cada animal, após antissepsia prévia do local. As amostras coletadas foram acondicionadas em tubos sem anticoagulante para posterior extração do soro e refrigeradas (2 a 8°C). Após o término das castrações as amostras foram transportadas ao Laboratório de Biologia Molecular – IFMG campus Bambuí e centrifugadas a 2.500rpm, durante 5 min. Em seguida, as amostras de soro foram acondicionadas em microtubos de polietileno de fundo cônico e congeladas a -20°C.

Os diagnósticos sorológicos da leptospirose foram realizados no Laboratório de Zoonoses Bacterianas da Universidade de São Paulo pela técnica de soroaglutinação microscópica (MAT) seguindo protocolo padrão do laboratório (Favero et al., 2002), aplicando uma coleção com 24 variantes sorológicas de antígenos vivos entre amostras de referência e cepas nativas do Brasil (Cortez et al., 2020). Amostras de soro com título igual a 100 foram submetidas à titulação com antígenos reagentes em diluição seriada com razão 2. O título final foi o recíproco da maior diluição que gerou 50% de aglutinação. O sorovar mais provável é aquele com a titulação mais alta na frequência mais alta. Animais com sorovares com títulos iguais são considerados sororreativos para *Leptospira spp.*, mas as identificações de sorovarietades foram desconsideradas (Favero et al., 2002). Para análise, os animais com título igual ou superior a 800 não foram considerados vacinados (Reagan & Sykes, 2019) ou portadores de infecção ativa.

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES:**

Foram castrados 163 animais, dos quais foram coletadas amostras de 150, sendo apenas 144 animais testados pela técnica de MAT. Dos 144 soros analisados, 109 eram de amostras de cães e 35 amostras foram coletados de gatos. Do total de amostras de cães apenas 15 (13,76%) foram positivas para pelo menos um sorovar de *Leptospira spp.*. O sorovar Canícola foi o mais detectado, com seis cães (5,5%) positivos. Os cães são hospedeiros acidentais para a maioria dos sorovares de *Leptospira* descritos, exceto para Canicola, para o qual eles são considerados hospedeiros de manutenção (Cortez et al., 2020). Outros sorovares também foram encontrados nas análises dos cães positivos. O sorovar Butembo esteve presente em 4 amostras (3,67%), Copenhageni em 4 amostras (3,67%), Hardjoprajitno em 3 amostras (2,75%), Australis em 1 amostra (0,91%), Icterohaemorrhagiae em 1 amostra (0,91%), Shermani em 1 amostra (0,91%) e Whitcombi em 1 amostra (0,91%). Os dados do presente trabalho são semelhantes aos detectados em outros estudos. Um trabalho realizado em quatro municípios da região sudoeste do estado de São Paulo pesquisou anticorpos anti-*Leptospira spp.* em 572 amostras de soro, de cães saudáveis que foram para castração. Do total de

amostras, 21,15% foram reagentes para pelo menos uma variante sorológica investigada. As porcentagens de positividade foram de 42,6%, 40,5%, 7,7% e 5,05% nos diferentes municípios (Cortez et al., 2020). Em Teresina, das 558 amostras de soro 77 (13,8%) foram positivas no teste SAM de sorodiagnóstico para leptospirose, sendo 33 (49,2%) reagentes para o sorogrupo *Icterohaemorrhagiae*, além de amostras positivas para os sorogrupos *Canicola* (25,4%), *Bratislava* (14,9%), *Pyrogenes* (6,0%), *Australis* (1,5%), *Sentot* (1,5%) e *Tarassovi* (1,5%) (Silva et al., 2018). Outro estudo em uma cidade nesta mesma região de São Paulo, realizado em três anos consecutivos, detectou soroprevalência de 11%, 7% e 14%, em 2015, 2016 e 2017 respectivamente, e a incidência em 2016 foi de 5% e em 2017 de 14% (Sevá et al., 2020).

No município de Uberlândia, Minas Gerais, das 268 amostras de soro sanguíneo analisadas, de cães que foram vacinados em campanha, 76 apresentaram reagentes à SAM, obtendo-se uma ocorrência de 28,4% (Castro et al., 2011). Em um trabalho que teve como objetivo investigar a prevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, foi detectado 20% de positividade em 130 animais (Batista et al., 2004). Em 2018, num estudo mais amplo no mesmo estado, foram amostrados 1.043 soros de cães procedentes de cinco centros urbanos considerados polos regionais, foi encontrada uma frequência de 9,3% (Fernandes et al., 2018), está variando entre as cidades (15,2 a 7,1%). Em outro trabalho com cães de rua, em um município de Santa Catarina, Blazius e colaboradores (2005) detectaram uma porcentagem menor, apenas 10,5% de 590 animais foram positivos para um ou mais sorovares de *Leptospira*. Em Andradina – SP, apenas 9% dos animais foram positivos (Fontes et al., 2013).

Outro ponto a se considerar no resultado é que Bambuí está localizada na região Centro-Oeste de Minas Gerais, com altitude máxima de 918 m. e mínima de 637 m. O clima dominante na região, segundo a classificação de Koppen, é do tipo Cwa – Clima Temperado Úmido com inverno seco e verão quente. A precipitação durante o período chuvoso, correspondente ao verão (novembro a março) pode ser irregular, havendo dias de chuva intensa intercalados com períodos curtos de estiagem conhecidos como veranicos. No inverno caracteriza-se por período de seca. Ou seja, o mês de coleta, setembro, foi posterior a um período longo de seca, que pode ter influenciado em uma menor soroprevalência na região quando comparado a outros estudos.

Apesar de raros, há relatos de infecção de *Leptospira spp.* em gatos que podem ser hospedeiros acidentais de vários sorovares, incluindo o *Canicola* (Azócar-Aedo et al., 2014). No presente estudo, nenhum gato foi positivo para anticorpos anti-*Leptospira spp.* De Moraes et al., 2018, também não detectaram positivos em 200 felinos testados na Ilha de Fernando de Noronha – Brasil.

No intuito de determinar a exposição, eliminação e status de portador de leptospirose em gatos saudáveis, foi realizado a eutanásia de 82 gatos saudáveis, dos quais foram coletadas amostras de sangue, urina e rim (Alashraf et al., 2020). A detecção de infecção por *Leptospira spp.* ocorreu em 29,3% (n = 24/82) dos animais, por meio das técnicas sorológica, molecular e / ou de cultura. Das amostras coletadas, 16,7% (4/24) dos gatos com teste positivo eram portadores com cultura renal positiva, e um gato apresentou cultura positiva para urina e rim. *Leptospira spp.* isoladas foram identificadas como patogênicas, *L. interrogans* sorovar *Bataviae*, por meio de métodos sorológicos e moleculares. Nesse mesmo estudo, 87,5% (21/24) apresentaram títulos de anticorpos positivos (100–1600) e a maioria do sorogrupo *Bataviae* (19/21). Usando PCR, 16,7% (n = 4/24) dos gatos mostraram ter DNA de *Leptospira spp.* em sua urina. Além disso, três dos quatro gatos com cultura positiva tiveram sorologia negativa (Alashraf et al., 2020).

A leptospirose é uma doença que pode ser fatal para alguns cães, mas muitos casos são considerados subclínicos (Cortez et al., 2020). Apesar dessa situação, nota-se que a prevalência pode estar subestimada com alto índice de erros de diagnósticos, porque a doença muitas vezes não é incluída no diagnóstico diferencial das doenças renais ou porque os proprietários não procuram atendimento veterinário. Foi verificado uma porcentagem maior de cães com doenças renais excretando a bactéria em relação a cães sem doenças renais (Sant'Anna et al. 2019).

## CONCLUSÕES:

De acordo com os resultados das análises obtidas através das amostras coletadas de animais submetidos a campanha de castração realizada pela Prefeitura de Bambuí, Minas Gerais, foi possível observar a presença de cães soropositivos para *Leptospira spp.*, e a negatividade de gatos. Sendo assim, é importante cada município identificar os animais positivos, as regiões de maior prevalência da doença e os possíveis fatores de riscos, para serem tomadas medidas de controle.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANDRÉ-FONTAINE G. Canine leptospirosis - do we have a problem?. *Vet Microbiol.* 2006;117(1):19-24. doi:10.1016/j.vetmic.2006.04.005

ALASHRAF, ABDUL RAHMAN et al. "Primeiro relato de *Leptospira* spp. isolados de urina e rins de gatos naturalmente infectados." *PloS um* vol. 15,3 e0230048. 10 de março de 2020, doi:10.1371/journal.pone.0230048

AZÓCAR-AEDO, L; SMITS, HL; MONTI, G. Leptospirosis in dogs and cats: epidemiology, clinical disease, zoonotic implications and prevention. *Arch. med. vet.* v. 46, n. 3, p. 337-348, 2014

BATISTA, C. DE S.A., AZEVEDO, S.S. DE, ALVES, C.J., VASCONCELLOS, S.A., MORAIS, Z. M. DE, CLEMENTINO, I. J., LIMA, F. DE S., & ARAÚJO NETO, J. O. DE. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 41, n. 2, p.131-136, 2004.

CASTRO, J. R. DE; SALABERRY, S. R. S.; SOUZA, M. A. DE, LIMA-RIBEIRO, A. M. C. Sorovares de *Leptospira* spp. predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2011, vol.44, n.2, pp.217-222, 2011, ISSN 0037-8682.

CORTEZ, A., REIS, E. A. DOS, GOMES, N., SOUZA-FILHO, A. F., GONÇALES, A. P., PINTO, C. M., ONOFRIO, V. C., SOUZA, G. O., GUEDES, I. B., LIMA, D. M., CARVALHO, T. R. V. DE, MORAES-FILHO, J., & HEINEMANN, M. B. Canine leptospirosis in asymptomatic populations from the Southwest Region of São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 57, n. 4, 2020, e167893. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2020.167893>

COSTA F., HAGAN J.E., CALCAGNO J., KANE M., TORGERSON P., MARTINEZ-SILVEIRA M.S., STEIN C., ABELA-RIDDER B., KO A.I. Global morbidity and mortality of Leptospirosis: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* v. 9, n. 9:e0003898, 2015.

DE MORAIS E. G. F., MAGALHÃE F. J. R., DE LIMA FILHO C. D. F., BRANDESPIM D. R., DE OLIVEIRA P. D. F., DA COSTA D. F., AZEVEDO S. S. & MOTA R. A. Geo-Epidemiological Study of *Leptospira* spp. Infection in Cattle, Feral Cats and Rodents of the Fernando de Noronha Island, Brazil *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 46., 1 – 9, 2018.

DORSCH R., OJEDA J., SALGADO M., MONTI G., COLLADO B., TOMCKOWIACK C., TEJEDA C., MÜLLER A., EBERHARD T., KLAASEN H.L.B.M., HARTMANN K. Cats shedding pathogenic *Leptospira* spp.-An underestimated zoonotic risk? *PLoS One*, v. 15, n. 10, e0239991, 2020.

FAVERO A.C.M, PINHEIRO S.R., VASCONCELLOS S.A., MORAIS Z.M., FERREIRA F., FERREIRA J.S. Sorovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Cienc Rural.* ,v. 32, n. 4, p. 613-9, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782002000400011>.

FERNANDES A.R.F., COSTA D.F., ANDRADE M.R., BEZERRA C.S., MOTA R.A., ALVES C.J., LANGONI H. & AZEVEDO S.S. Seropositivity and risk factors for leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis in the canine population of Paraíba state, northeastern Brazil, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, n.5, p. 957-966, 2018.

FONTES A. M. M., RUFINO C. A., ASSUNÇÃO T. M. SILVA J. E. S., BELARMINO D. A., DOS SATOS D. G., LOPES P. D., FILHO J. B. Soroprevalência de leptospirose em cães no município de Andradina/SP. *Ciênc. Agr. Saúde.* v.9, p. 21 – 25, 2013.

GROOMS, D. L. Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology*, v.66. n.3. p.624-628, 2006.

MCBRIDE A.J., ATHANAZIO D.A., REIS M.G., KO A.I.. Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis.* v. 18, n. 5, p. 376-386, 2015.

MIOTTO B.A., HORA A.S., TANIWAKI S.A., BRANDÃO P.E., HEINEMANN M.B., HAGIWARA M.K.. Development and validation of a modified TaqMan based real-time PCR assay targeting the lipI32 gene for detection of pathogenic *Leptospira* in canine urine samples. *Braz J Microbiol.* v. 49, n. 3, p. 584-90, 2018.

PICARDEAU M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Med Mal Infect.* v. 43, n. 1, p. 1-9, 2013.

REAGAN K.L. & SYKES J.E. Diagnosis of Canine Leptospirosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2019;49(4):719-31. [http:// dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.02.008](http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2019.02.008). PMID:30961998.

RIBEIRO T.M.P., SANTOS H.D., SOUSA S.A.P., GALVÃO S.R., REIS T.S., JAYME V.S. Infecção por *Leptospira* spp. em Gatos (*Felis silvestris catus*). Uma Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.* v. 12, n. 1, p. 110 – 1019, 2018.

SANT'ANNA R, VIEIRA AS, OLIVEIRA J, LILENBAUM W. Asymptomatic leptospiral infection is associated with canine chronic kidney disease. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* v. 62, p.64-67, 2019.

SEVÁ A.P., BRANDÃO A.P.D., GODOY S.N., SOUZA G.O., SOUZA FILHO A.F, JIMENEZ-VILLEGAS T., HEINEMANN M.B. & FERREIRA F. Seroprevalence and incidence of *Leptospira* spp.in domestic dogs in the Southeast region of São Paulo State, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira,* v. 40, n. 5, p.399-407, 2020.

SILVA E.R.D.F.S., CASTRO, V., MINEIRO, A.L.B.B., PRIANTI, M.G., MARTINS, G.H.C., SANTANA, M.V., BRITO, L.M., SILVA S.M.M.S. Análise sociodemográfica e ambiental para ocorrência de anticorpos anti*Leptospira* em cães de Teresina, Piauí, Brasil.. *Cien Saude Colet.* V. 23, n. 5, 2018.