

Investigação soroepidemiológica de leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil

José Rafael MODOLO¹
 Hélio LANGONI¹
 Carlos Roberto PADOVANI²
 Fábio Hiroto SHIMABUKURO³
 André de Oliveira MENDONÇA³
 Cassiano VICTORIA³
 Welligton Borges da SILVA³

1 - Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu - SP

2 - Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Botucatu - SP

3 - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu - SP

Resumo

Investigou-se, soroepidemiologicamente, a leptospirose em 775 cães do município de Botucatu - SP, em amostras de sangue, obtidas durante a campanha anual de vacinação anti-rábica, coletadas de 14 postos de vacinação, distribuídos geograficamente, representando o total de 45 postos de cinco regiões do Município, com uma área territorial urbana de 31km². Do total de amostras, 449 eram de machos, e 326, de fêmeas; 564 eram de animais sem raça definida, e 211, puros. As idades variavam de três meses a 20 anos. Para o diagnóstico, foi realizada a soroaaglutinação microscópica, utilizando-se 12 sorovares de *Leptospira* spp. A comparação entre o resultado do exame sorológico e as variáveis epidemiológicas foi realizada pelos testes de Goodman e do Qui-quadrado, com $\alpha = 0,05$. Obtiveram-se 119 (15,3%) amostras positivas, com reação para 11 sorovares, com maior importância para o *canicola*, em 48 (40,3%) amostras, e *pyrogenes*, em 41 (34,5%). Pela análise estatística, encontrou-se diferença significativa em relação à raça – positividade em 17,7% dos animais sem raça definida e em 9,0% dos demais – e sexo – positividade em 18,4% de machos e 11,0% de fêmeas. Quanto à idade, não houve diferença significativa, com distribuição uniforme entre as faixas etárias estabelecidas.

Palavras-chave:

Cães.
 Leptospiras.
 Área urbana.

Correspondência para:
 JOSÉ RAFAEL MODOLO
 Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
 Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
 Universidade Estadual Paulista
 Caixa Postal 524
 18618-000 - Botucatu - SP
 jmodolo@fmvz.unesp.br

Recebido para publicação: 07/10/2004
 Aprovado para publicação: 13/07/2005

Introdução

A leptospirose é uma doença zoonótica de ocorrência mundial, causada por diferentes sorovares de *Leptospira* spp. Hoje, é considerada uma infecção emergente^{1,2}. As leptospirosas patogênicas foram formalmente classificadas como membros da espécie *Leptospira interrogans*, sendo, agora, agrupadas em sete espécies, compreendendo mais de 200 sorovares, conhecidos e identificados no mundo todo¹.

O homem, os animais domésticos e inúmeros animais selvagens são afetados pela leptospirose, sendo referidas duas categorias da doença, com implicações clínicas

diferentes: uma, quando o animal é infectado com um sorovar hospedeiro-adaptado, tornando-se reservatório, e a outra, quando animais susceptíveis são expostos a sorovares hospedeiros não adaptados, causando a doença acidental, forma comum aos humanos³. Nas duas situações, os animais infectados eliminam as leptospirosas pela urina, por um período de semanas a meses, contaminando o ambiente⁴.

Entre os animais domésticos, o cão tem um papel importante na epidemiologia da leptospirose, principalmente em países tropicais^{4,5,6}.

Os sorovares predominantes na infecção canina parecem ser, ainda, o *canicola*,

sorovar adaptado à espécie, e o *icterohaemorrhagiae*, que tem como principal reservatório o rato doméstico (*Rattus norvegicus*), infectando o cão acidentalmente¹.

Em pesquisas sorológicas feitas na cidade de Salvador-BA, examinando-se amostras coletadas durante a campanha de vacinação anti-rábica, obtiveram-se 21,6% (93/430) de casos positivos. Os autores verificaram maior importância para os sorovares *icterohaemorrhagiae* e *canicola*⁵.

Em trabalho realizado em cães de rua, em Porto Rico, verificaram-se aglutininas antileptospíricas em 62,9% (73/116) dos animais, ocorrendo maior número de reações para o sorogrupo *Icterohaemorrhagiae*⁷.

Estudos recentes revelam a importância de outros sorovares para os cães. Em pesquisa realizada na Austrália, considerando-se títulos iniciais de 50 UI, obteve-se positividade em 9,8% (49/501) dos cães, com prevalência para os sorovares *icterohaemorrhagiae* e *grippotyphosa*⁸. No Chile, verificaram-se taxas de 38,33% (23/60) de positividade em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de Concepción, sendo mais frequentes os sorovares *canicola* e *pyrogenes*⁹.

Também se obteve, em outro estudo sorológico feito em Patos-PB, uma prevalência de aglutininas antileptospíricas em 20% (23/114) de cães domiciliados, atendidos na Clínica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba; observou-se maior frequência para os sorovares *autumnalis*, *grippotyphosa*, *butembo* e *australis*¹⁰.

Levando-se em consideração a importância da etiologia nas infecções leptospíricas, objetivou-se conhecer a soroprevalência da leptospirose na população canina, em Botucatu, e verificar o perfil dos sorovares de *Leptospira* spp, frente ao sexo, idade e raça de cada animal.

Materiais e Métodos

O município de Botucatu localiza-se na região centro-sul do Estado de São Paulo

(22° 52' de latitude sul e 48° 26' de longitude oeste); está cerca de 805 metros acima do nível do mar e possui uma área territorial de 1.483 Km². O clima é subtropical úmido, com invernos secos e verões quentes, e a precipitação pluviométrica é de 1.250 mm. A vegetação consiste em mata pluvial e cerrado. A população é estimada em 108.306 habitantes, de acordo com o censo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)¹¹.

Durante a campanha anual de vacinação anti-rábica, coordenada pela disciplina de Planejamento em Saúde Animal e Saúde Pública, em conjunto com a Prefeitura Municipal de Botucatu, coletaram-se 775 amostras de sangue de cães. As amostras, aproximadamente 5,0% de um total de 15.574 cães vacinados durante a campanha, foram coletadas em 14 postos de vacinação, representativos do total de 45 postos, distribuídos nas cinco regiões do Município, com uma área territorial urbana de 31km² (Prefeitura Municipal de Botucatu, Secretaria de Turismo, comunicação pessoal, 2000). Para o procedimento de alocação do animal (2º estágio), considerou-se o plano de amostragem sistemática, sob a definição de que, a partir do animal selecionado, os dois seguintes seriam descartados. Quanto aos postos de coleta, procedeu-se, em primeiro estágio, ao sorteio geográfico de 14 postos de vacinação. O tamanho amostral, 775 cães, foi determinado considerando-se a taxa de 10% de erro de estimação, com nível de 95% de confiança¹².

O sangue obtido de cada animal, cerca de 10 mL, pela punção venosa cefálica ou jugular, com seringa descartável de 10 mL e agulha 30 x 8 mm, foi transferido para um tubo de vidro de 15 mL e, posteriormente, enviado ao Laboratório de Diagnóstico de Zoonoses da FMVZ – UNESP – Botucatu, onde foi centrifugado a 3.000 RPM, por dez minutos, para obtenção do soro, que foi acondicionado em microtubo de plástico de 1,5 mL e mantido em *freezer* a -20°C, até o momento do exame. O exame foi realizado pelo método de soroaglutinação

microscópica, utilizando-se 12 sorovares, representantes de dez sorogrupos de *Leptospira* spp., a saber: *australis*, *bratislava*, *autumnalis*, *canicola*, *cynopteri*, *djasiman*, *grippothyposa*, *copenhageni*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *pyrogenes* e *hardjo*, mantidos no referido laboratório, em meio líquido “EMJH” com albumina bovina “Tween 80”¹³. Consideraram-se como reagentes títulos iguais ou superiores a 100 UI¹.

Os dados referentes a sexo, idade e raça de cada animal foram obtidos das fichas de arquivo, preenchidas no momento da coleta de sangue, com a entrevista do proprietário.

A análise das associações entre o resultado do exame sorológico e as variáveis epidemiológicas foi realizada pelo teste de Goodman, para contrastes entre e dentro de populações multinomiais^{14,15}. Para o estudo da existência de distribuição preferencial sistematizada, segundo as categorias de respostas das variáveis sexo, raça e idade, utilizou-se o teste do Qui-quadrado para uma amostra¹⁶.

Resultados

Do total de 775 (100%) soros trabalhados, foram reagentes 119 (15,3%) cães.

Dos sorovares testados, apenas um, *cynopteri*, do sorogrupo *cynopteri*, não reagiu para nenhuma das amostras. Observa-se, na tabela 1, a frequência dos sorovares, sem discriminação de títulos, com co-infecção e sem reação cruzada.

Quando se considerou a discriminação de títulos, sem co-infecção e com reação cruzada, a frequência dos sorovares encontra-se na tabela 2.

O maior título, e único, nas duas situações, foi 3200 UI para o sorovar *pyrogenes*. Estatisticamente, houve diferença significativa no número de animais reagentes: segundo o sexo, com $\chi^2 = 8,05$ ($p < 0,05$) (Tabela 3); e, segundo a raça, com $\chi^2 = 8,99$ ($p < 0,05$) (tabela 4).

Com relação à idade, distribuída em quatro faixas etárias, não houve diferença significativa, com animais de três meses até

Tabela 1 - Distribuição de títulos de anticorpos antileptospira em cães, na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil^a

Sorovares	Títulos de anticorpos (UI)						Total Nº (%)
	100 Nº	200 Nº	400 Nº	800 Nº	1600 Nº	3200 Nº	
<i>australis</i>	2	2	-	-	-	-	4 (1,8)
<i>bratislava</i>	7	2	1	2	-	-	12 (5,5)
<i>autumnalis</i>	10	2		1	1	-	14 (6,4)
<i>canicola</i>	29	22	19	3	4	-	77 (35,4)
<i>cynopteri</i>	-	-	-	-	-	-	0
<i>djasiman</i>	1	-	-	-	-	-	1 (0,5)
<i>grippothyposa</i>	1	-	1	-	-	-	2 (0,9)
<i>copenhageni</i>	9	5	3	-	-	-	17 (7,8)
<i>icterohaemorrhagiae</i>	5	11	4	2	-	-	22 (10,1)
<i>pomona</i>	3	-	1	-	1	-	5 (2,3)
<i>pyrogenes</i>	16	21	8	5	9	1	60 (27,5)
<i>hardjo</i>	3	1	-	-	-	-	4 (1,8)
Total	86	66	37	13	15	1	218 (100)

a Considerou-se que um mesmo animal pode estar infectado para mais de um sorovar de *Leptospira* spp. $\chi^2 = 348,02$ ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Distribuição de títulos de anticorpos antileptospira em cães, na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil^b

	Títulos de anticorpos (UI)						Total N ^o (%)
	100 N ^o	200 N ^o	400 N ^o	800 N ^o	1600 N ^o	3200 N ^o	
Sorovares							
<i>australis</i>	1	1	-	-	-	-	2 (1,7)
<i>bratislava</i>	3	-	-	2	-	-	5 (4,2)
<i>autumnalis</i>	5	2	-	-	1	-	8 (6,7)
<i>canicola</i>	12	15	15	2	4	-	48 (40,3)
<i>cynopteri</i>	-	-	-	-	-	-	0
<i>djasiman</i>	-	-	-	-	-	-	0
<i>grippothyposa</i>	-	-	-	-	-	-	0
<i>copenhageni</i>	4	2	-	-	-	-	6 (5,0)
<i>icterohaemorrhagiae</i>	1	3	1	-	-	-	5 (4,2)
<i>pomona</i>	1	-	-	-	1	-	2 (1,7)
<i>pyrogenes</i>	4	14	9	4	9	1	41 (34,5)
<i>hardjo</i>	1	1	-	-	-	-	2 (1,7)
Total	32	38	25	8	15	1	119 (100)

^b Para os animais que reagiram para mais de um sorovar, considerou-se como infectante o sorovar de maior título

Tabela 3 - Distribuição de cães reagentes à *Leptospira* spp., de acordo com o sexo, na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil

Sexo	Reagente N ^o	Não reagente N ^o	Total N ^o	% Reagente
Macho	83	366	449	18,4
Fêmea	36	290	326	11,0
Total	119	656	775	15,3

$\chi^2 = 8,05$ ($p < 0,05$)

Tabela 4 - Distribuição de cães reagentes à *Leptospira* spp., de acordo com a raça, na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil

Raça	Reagente N ^o	Não reagente N ^o	Total N ^o	% Reagente
Sem raça definida	100	464	564	17,7
Com raça	19	192	211	9,0
Total	119	656	775	15,3

$\chi^2 = 8,99$ ($p < 0,05$)

Tabela 5 - Distribuição de cães reagentes à *Leptospira* spp., de acordo com a idade, na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil

Idade (anos)	Reagente N ^o	Não reagente N ^o	Total N ^o	% Reagente
0,25 – 3,3	66	379	445	14,8
3,4 – 6,6	35	157	192	18,2
6,7 – 9,9	11	75	86	12,8
≥ 10,0	4	32	36	11,1
Sem informação	3	13	16	18,7
Total	119	656	775	15,3

$\chi^2 = 2,80$ ($p > 0,05$)

20 anos de idade reagindo igualmente, com $\chi^2 = 2,80$ ($p > 0,05$) (tabela 5).

Discussão

A frequência de aglutininas antileptospíricas (15,3%) em cães, no município de Botucatu-SP, revela taxas médias, quando comparada à obtida em outras pesquisas. Considerando-se que, na maioria dos trabalhos, as condições epidemiológicas e o padrão de amostragem utilizado na seleção, presença ou ausência da doença no local de investigação⁵ e o “status” vacinal e social do animal são variáveis, torna-se difícil a obtenção de conclusões. Em estudo semelhante, na cidade de Salvador-BA, obtiveram-se taxas maiores de reação (21,6%)⁵. Em relação a outros países, observaram-se índices mais altos em Porto Rico, com uma porcentagem de 62,9% em cães de rua⁶. Frequências menores foram verificadas na Austrália, com 9,8%⁸.

A distribuição dos sorovares, quando considerada a co-infecção, sem reação cruzada e com discriminação de títulos, mostra maior importância para os sorovares *canicola* e *pyrogenes*. Em estudo realizado no Chile, é relatada a mesma importância para esses sorovares, em animais atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de Concepción⁹.

Os sorovares mais frequentes também foram *canicola* e *pyrogenes*, quando se desconsiderou a co-infecção, em que a reação de mais de um sorovar para o mesmo animal foi avaliada como reação cruzada, escolhendo-se, como possível infectante, o sorovar de maior título¹.

A interpretação de resultados sorológicos para leptospirose torna-se complicada por inúmeros fatores, tais como: reação cruzada de anticorpos, títulos de anticorpos induzidos pela vacinação e dificuldade do consenso sobre quais títulos de anticorpos são indicativos da infecção ativa. Em geral, cães vacinados desenvolvem, baixos títulos de anticorpos aglutinantes (100 a 400 UI), os quais persistem de um a três

meses, após a vacinação¹, dados que não poderiam ser extrapolados para este estudo, uma vez que, nesta pesquisa, não foi considerado o “status” vacinal dos animais amostrados.

O *icterohaemorrhagiae*, sorovar comum em ratos e responsável por surtos epidêmicos, principalmente em regiões tropicais com altos índices pluviométricos², mostra-se menos importante, o que pode ser explicado pelo fato de que, no município de Botucatu, mesmo em épocas de chuvas fortes, não ocorrem alagamentos e enchentes, diminuindo a probabilidade de infecções por esse sorovar.

Outros sorovares, como *copenhageni*, *autumnalis* e *bratislava*, considerados emergentes ou reemergentes, em outros países, revelaram certa importância neste trabalho, bem como em outros estudos^{1,2,10}.

A porcentagem dentre cães machos foi significativamente maior, corroborando os mesmos resultados verificados por outros autores^{5,9}, explicados pelo comportamento sexual do macho, lambendo e cheirando a genitália da fêmea, e pelo hábito de marcação territorial, cheirando a urina de outros animais.

Quanto à raça, a mesma diferença foi verificada, com o dobro de reagentes dentre os animais sem raça definida, em relação aos com raça; constatou-se o mesmo em outro estudo realizado na cidade de Salvador-BA⁵. A justificativa para essa diferença é que, aqueles animais têm acesso livre à rua, enquanto que os com raça vivem domiciliados, na maioria das vezes.

Quanto à idade, os animais de três meses até 20 anos mostraram-se igualmente reagentes, sem diferença significativa. Esses dados são diferentes dos verificados por outros autores, que mostram maior frequência em animais de maior idade⁹, o que pode ser explicado pelas maiores chances de contato com fontes de infecções.

Apesar de a presença de aglutininas antileptospíricas em cães domésticos não se apresentar alta (15,3%), no município de Botucatu-SP, com títulos baixos em sua

maioria, indicando, em muitos casos, somente infecção ou estágio agudo da doença¹⁰, há de se considerar que muitos animais permanecem portadores por um determinado tempo, eliminando leptospiroses pela urina, no ambiente,

o que possibilita que outros animais e o próprio homem sejam infectados. É importante ressaltar que os cães estão se contaminando, contribuindo para a disseminação das leptospiroses e podendo colocar em risco a saúde da população.

Seroepidemiological inquiry of canine leptospirosis in the urban area from Botucatu, Sao Paulo State, Brazil

Abstract

Leptospirosis was seroepidemiologically investigated in 775 dogs from Botucatu, state of Sao Paulo, in blood samples collected during the annual anti-rabies vaccination campaign. The samples were collected from 14 out of the 45 vaccination stations geographically distributed in five different municipal districts, with a territorial urban area of 31Km². Samples were taken from 449 males and 326 females; 564 were of undetermined breed, and 211 were pedigree animals; ages ranged from 3 months to 20 years. Diagnosis included the microscopic serum agglutination tests using 12 *Leptospira* spp serovars. Serological results and epidemiological variables were compared using Goodman and chi-square tests, with $\chi=0.05$. There were 119 (15.3%) positive samples for 11 serovars; the most important was *canicola* with 48 (40.3%), followed by *pyrogenes* 41 (34.5%). Statistical analysis showed significant difference for: breed, 17.7% positive in undetermined breeds and 9.0% in pedigrees; and sex, 18.4% positive in males and 11.0% in females. There was no statistically significant difference in relation to age with uniform distribution of positives.

Key-words:
Dogs.
Leptospirosis.
Urban area.

Referências

- 1 BOLIN, C. A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Semin. Vet. Med. Surg. (Small Animal)**, v. 11, n. 3, p. 166-171, 1996.
- 2 LEVETT, P. N. Leptospirosis: re-emerging or re-discovered disease?. **J. Med. Microbio.**, v. 48, n. 2, p. 417-418, 1999.
- 3 HEATH, S. E.; JOHNSON, R. Leptospirosis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 205, n. 11, p. 1518-1523, 1994.
- HANSON, L. E. Leptospirosis in domestic animals: the public health perspective. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 181, n. 12, p. 1505-1509, 1982.
- 4 CALDAS, E. M.; DORIA, J. D.; MARTINS, M. A. Immunological inquiry for the epidemiology of leptospirosis in *Canis familiares* in Salvador, Bahia, Brazil. **Int. J. Zoon.**, v. 4, n. 2, p. 103-110, 1977.
- 5 MONTES, A. S.; DIMAS, J. S.; RODRIGUEZ, F. J. P. La rata y el perro, importantes vectores de la leptospirosis en explotaciones pecuarias de Cd. Guzmán, Jalisco. **Rev. Cub. Med. Trop.**, v. 54, n. 1, p. 21-23, 2002.
- 6 FARRINGTON, N. P.; SULZER, K. R. Canine leptospirosis in Puerto Rico. **Int. J. Zoon.**, v. 9, n. 1, p. 45-50, 1982.
- 7 DICKESON, D.; LOVE, D. N. A serological survey of dogs, cats and horses in South-eastern Australia for leptospiral antibodies. **Aust. Vet. J.**, v. 70, n. 10, p. 389-390, 1993.
- 8 PINEDA, M.; LÓPEZ, J.; GARCÍA, M. Frecuencia de leptospirosis en perros al test de aglutinación microscópica en Chillán-Chile. **Arch. Med. Vet.**, v. 28, n. 1, p. 59-66, 1996.
- 9 ALVES, C. J. et al. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães no município de Patos-PB, Brasil. **Rev. Bras. Ci. Vet.**, v. 7, n. 1, p. 17-21, 2000.
- 10 INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Base de Informações Municipais: Malha Municipal Digital 2000**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 jun. 2004.
- 11 COCHRAN, W. **Sampling Techniques**. 3. ed. New York: John Wiley; 1977.
- 12 BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de leptospirose**, 2. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1995. 98 p.

13 GOODMAN, L. A. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. **Ann. Math. Stat.**, v. 35, p. 716-725, 1964.

14 GOODMAN, L. A. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. **Technometrics**, v. 7, p. 247-254, 1965.

15 STREINER, D. L.; NORMAN, G. R. **Biostatistics: the base essentials**. St. Louis: Mosby - Year - Book, 1994. 260 p.