^{Tese}
CARLOS EDUARDO LARSSON

Ø

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA LEPTOSPIROSE FELINA

Tese apresentada ao
Departamento de Prática de Saúde Pública
da Faculdade de Saúde Pública
da Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor.

Orientador:
Prof. Dr. Gil Vianna Palm

SÃO PAULO - 1981

Aos meus pais,

pela dedicação e estímulo

à minha formação.

À Maria Helena,
ao Carlão e
à Mariana.

Ao meu orientador

DINO B. G. PATTOLI,

"in memoriam".

AGRADECEMOS,

Ao Prof.Dr. Gil Vianna Paim, pela acolhida, amizade e orientação que sempre nos ofereceu.

Ao Prof.Dr. Carlos Almeida Santa Rosa, pela amizade, pela confiança em nós depositada e orientação constante.

Ao Prof.Dr. Eduardo Harry Birgel, pela amizade, pela paciente e cuidadosa leitura deste texto, e pelas sugestões apresentadas.

À Profa.Dra. Mitika Kuribayashi Hagiwara, pelas sugestões e valiosa colaboração.

Ao Prof.Dr. Paulo Hideki Yasuda, pela cessão das amostras de L. interrogans utilizadas na inoculação experimental.

Ao Prof.Dr. Thales de Brito e à Sra. Rita de Cássia Domingues Simões, pelo franqueamento do laboratório e execução das técnicas histológicas.

Aos Drs. José Luiz Guerra e Romeu Macruz, pelo respaldo no diagnóstico histológico.

À Dra. Esther Luiza B. Chamelet e à Sra. Suzana Serrador Ginez e demais funcionários do Instituto Pasteur, pela cessão de felinos utilizados neste trabalho.

Ao Prof.Dr.Pedro G. Guertzenstein e Sr. Alexandre José da Silva (ICB/USP), pela cessão de felinos utilizados neste trabalho.

Ao Dr. Wilson Roberto Fernandes, pela inestimável colaboração prestada na colheita do material.

Às Técnicas Maria Rosa dos Santos e Regina M. Sakata Mirandola, pelo valioso auxílio prestado na execução técnica deste trabalho.

Aos Profs.Drs. Ruy Laurenti e Omar Miguel, pela colaboração e sugestões na análise estatística e montagem tabular e gráfica deste trabalho.

Ao Bel. Arnaldo Larsson, pela paciente revisão do vernáculo.

As bibliotecárias Ana Maria Silveira Barone, Maria Inês Chareli e Maria Cecília Gonzaga Ferreira, pela colaboração na obtenção, revisão e ordenação das referências bibliográficas.

Ao Sr. Valmir Salgado e à Srta. Leonor Vasconcelos da Silva, pelo paciente serviço datilográfico.

Ao Acadêmico Edison Thomaz e aos Srs. Hélio Perez, Pedro Constantino e Francisco Vieira Camargo, pela valiosa colaboração na realização deste trabalho.

À Organização Granja Seleta Ltda, pela doação do sangue de coelhos, utilizado no enriquecimento dos meios de cultura.

Ao Sr. Kazuhiro Sano, pelas ilustrações.

Ao Prof.Dr. Benedicto Wladimir De Martin, pela cessão do canil utilizado para manutenção dos animais.

Í N D I C E

	pág.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
2.1. Frequência de leptospirose felina.....	17
2.1.1. Colheita de amostras.....	17
2.1.1.1. Sangue.....	17
2.1.1.2. Rins.....	17
2.1.2. Pesquisa de aglutininas antileptospiras.....	18
2.1.2.1. Técnica da reação de soroaglutina - ção microscópica.....	19
2.1.2.2. Preparo dos antígenos.....	20
2.2. Inoculação de <u>Leptospira interrogans</u> em gatos (<u>Felis</u> <u>cati</u> , L. 1758).....	20
2.2.1. Seleção dos animais.....	20
2.2.2. Realização de hemo e urocultura.....	23
2.2.3. Preparo do inóculo.....	23
2.2.4. Inoculação dos animais e acompanhamento clí nico-laboratorial.....	24
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
3.1. Ocorrência de leptospirose felina.....	27
3.1.1. Sorologia.....	27
3.1.2. Isolamento e demonstração de <u>L. interrogans</u> em felinos.....	42
3.2. Inoculação experimental de <u>Leptospira interrogans</u> em gatos.....	43
3.2.1. Exames clínico-laboratoriais.....	44
3.2.2. Exames microbiológicos e sorológicos.....	46
4. CONCLUSÕES.....	63
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

ÍNDICE DE TABELAS

pág.

TABELA Nº	1 - Frequência (%) de leptospirose em ratos, em alguns locais do Brasil, segundo vários autores e em diferentes anos.....	10
TABELA Nº	2 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, por isolamento do agente em nefroculturas, segundo o sorogrupo, em alguns países dos 5 continentes. Vários autores em diferentes anos.....	11
TABELA Nº	3 - Frequência de leptospirose (Nº), por sorologia e isolamento do agente em gatos clinicamente suspeitos, em alguns países. Vários autores em diferentes anos.....	12
TABELA Nº	4 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título ≥ 20) com diferentes antígenos, segundo o sorogrupo utilizado, em vários países. Vários autores em diferentes anos.....	13
TABELA Nº	5 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título ≥ 10), com diferentes antígenos, segundo o sorogrupo utilizado, em vários países das 3 Américas. Vários autores em diferentes anos.....	14
TABELA Nº	6 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título ≥ 100), segundo o sexo....	27
TABELA Nº	7 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título ≥ 100), segundo o grupo etário.....	27
TABELA Nº	8 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título ≥ 100), com diferentes antígenos, segundo o sorogrupo utilizado....	28
TABELA Nº	9 - Positividade à reação de soroaglutinação microscópica (título ≥ 100), a diferentes sorotipos de <u>L. interrogans</u> , segundo sexo e grupo etário, nos 22 gatos sororeagentes	31

TABELA Nº 10 - Frequência de positividade (Nº e %) de gatos, a um único sorotipo de <u>L. interrogans</u> , pela reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo o sorotipo infectante.....	32
TABELA Nº 11 - Frequência (Nº e %) de soros de gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo o sorotipo infectante, excetuando-se os soros coaglutinantes com título máximo igual...	33
TABELA Nº 12 - Frequência dos sorotipos (Nº) em soros de gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo a distribuição da magnitude dos títulos de aglutininas, excetuando-se os soros coaglutinantes com título máximo igual	36
TABELA Nº 13 - Títulos aglutinantes pela reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), e resultados das hemoculturas e uroculturas de gatos inoculados com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipos <u>icterohaemorrhagiae</u> - (R-192) e <u>canicola</u> (CCZ-8), segundo o tempo decorrido da inoculação.....	47

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

pág.

GRÁFICO Nº 1 - Frequência (%) de soros de 19 gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo o sorotipo infectante.....	34
GRÁFICO Nº 2 - Frequência (Nº) de títulos de anticorpos antileptospira em 19 soros de gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo o sorotipo infectante.....	35
GRÁFICO Nº 3 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 303, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>icterohaemorrhagiae</u> (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação....	50
GRÁFICO Nº 4 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 309, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>icterohaemorrhagiae</u> (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação....	51
GRÁFICO Nº 5 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 312, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>icterohaemorrhagiae</u> (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação....	52
GRÁFICO Nº 6 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 316, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>icterohaemorrhagiae</u> (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação....	53
GRÁFICO Nº 7 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 304, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>canicola</u> (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.....	54
GRÁFICO Nº 8 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 311, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>canicola</u> (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.....	55

GRÁFICO Nº 9 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 315, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>canicola</u> (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.....	56
GRÁFICO Nº 10 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 317, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>canicola</u> (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.....	57
GRÁFICO Nº 11 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 319, inoculado com <u>Leptospira interrogans</u> sorotipo <u>canicola</u> (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.....	58

R E S U M O .

R E S U M O.

Este trabalho foi realizado com o escopo de determinar a ocorrência de infecção leptospirótica em gatos, utilizando-se tanto da pesquisa de anticorpos específicos como de tentativas de isolamento e demonstração do agente a partir de fragmentos de rins destes espécimes. Visou-se, também, estudar aspectos clínico-laboratoriais, bacteriológicos e epidemiológicos da leptospirose felina, pela inoculação de gatos adultos com cepas autóctones, patogênicas, de L. interrogans.

Utilizando-se da reação de soroaglutinação microscópica, tendo como antígenos 18 sorotipos representativos de 17 sorogrupos de Leptospira, obteve-se, dentre as 172 amostras séricas examinadas, 22 sororeagentes (12,8%), com título ≥ 100 . A maior frequência de soropositividade demonstrada foi para o sorotipo pomona. Não se observaram diferenças estatisticamente significantes (ao nível de $\alpha = 0,05$) com relação ao sexo, todavia, através da análise estatística (ao nível de $\alpha = 0,05$, demonstrou-se que a frequência da infecção é maior nos felinos adultos. Nas 172 amostras de pares de rins submetidas à cultura em meio de Fletcher, não se obteve êxito no isolamento do agente. Ademais, não se demonstrou a presença de leptospira em cortes de rins dos animais sororeagentes através da impregnação argêntica, segundo a técnica de Warthin-Starry.

Após a inoculação, por via subcutânea, de 5 animais com cepa do sorotipo icteroharmorrhagiae (R-192) e de outros 5 com cepa do sorotipo canicola (CCZ-8), estes gatos ficaram sob observação durante um período de 8 a 12 semanas. Em nenhum deles se manifestou qualquer alteração do estado de higidez, do quadro hemático e nos exames de urina realizados. Foram detectadas aglutininas antileptospira em 90% dos animais inoculados, entre a 1ª e a 6ª semanas a contar da inoculação. Dos 9 animais que se soroconverteram, 8 permaneceram soropositivos durante 8 a 12 semanas. Apenas os animais inoculados com o sorotipo canicola eliminaram leptospiros pela urina, iniciando-se a leptospirúria entre a 2ª e 4ª semanas da inoculação e assim persistindo por 2 a 8 semanas. Não se obteve nenhuma hemocultura ou nefrocultura positiva e nem se pôde demonstrar a presença de leptospiros no parênquima renal dos 10 animais inoculados.

S U M M A R Y.

The occurrence of leptospiral infection in cats was determined through the detection of specific antibodies based on the results of microscopic agglutination test and the attempts of isolation and histological demonstration of leptospire from the kidneys of these animals. Clinical, laboratorial and epidemiological aspects of experimental feline leptospirosis were also studied; for this purpose, adult cats were inoculated with pathogenic autochthonal strains of Leptospira interrogans.

Of 172 serum samples examined by microscopic agglutination test, 22 (12,8%) were positive with titers ≥ 100 . The most frequent serovar was pomona. In relation to the sex, statistical significant differences (level of $\chi^2 = 0,05$) were not seen; however the age distribution showed that feline leptospirosis is more frequent in adult cats. The attempts for isolation and demonstration of L. interrogans from renal parenchyma either by culture or Warthin-Starry technics were unsuccessful.

Ten adult cats of mixed breed and both sexes were used for experimental infection. Five animals were inoculated subcutaneously, with serovar icterohaemorrhagiae (R-192) and other five with serovar canicola (CCZ-8) by the same route. The clinical and laboratorial findings presented no alterations in the inoculated animals. Antileptospiral agglutinins were detected in 90% of the infected cats between 1st and 6th week after inoculation. From 9 cats with leptospiral agglutinins, 8 persisted sero positive for 8 to 12 weeks. The elimination of leptospire through urine was observed only in the animals infected with serovar canicola, beginning 2 to 4 weeks after inoculation and lasting for 2 to 8 weeks. The hemoculture as well the kidney cultures from inoculated cats were also unsuccessful.

1. INTRODUÇÃO.

1. INTRODUÇÃO.

O termo leptospirose é aplicado a uma série de quadros mórbidos infecciosos causados por espiroquetas do gênero Leptospira, que acometem tanto os animais como o homem. Constitue-se numa antropozoonose endêmica que pode se manifestar sob a forma de surtos epidêmicos. A sua distribuição cosmopolita fez alguns autores, como VAN DER HOEDEN (1964)¹⁰⁰ e CORRÊA e col. (1976)²⁶ considerarem-na, ao lado da toxoplasmose, uma das zoonoses mais difundidas no mundo.

As leptospiroses têm como agente etiológico microrganismos unicelulares, helicoidais e extremamente delgados, medindo 6 a 20 μ de comprimento por 100 m μ de diâmetro. Morfometricamente, os inúmeros sorotipos descritos são indistinguíveis um do outro (BUCHANAN & GIBBONS, 1974⁸; MAILLOUX, 1975⁶¹). São classificadas (BUCHANAN & GIBBONS, 1974⁸) como pertencentes à ordem Spirochaetales Buchanan 1971, família Spirochaetacea Swellengrebel 1907, gênero Leptospira Noguchi 1917 e espécie Leptospira interrogans (Stimson) Wenyon 1926. A unidade taxonômica básica, o sorotipo, é representado por uma cepa referência e os, aproximadamente, 180 sorotipos, hoje conhecidos, encontram-se agrupados em 19 sorogrupos. Entende-se por sorogrupo¹⁰⁶, não uma subdivisão taxonômica, mas sim, um agrupamento de sorotipos sorologicamente afins, com valor prático na seleção de antígenos para fins diagnósticos e nas investigações epidemiológicas. Em 1966, um grupo de especialistas, reunidos sob os auspícios da Organização Mundial da Saúde, em Moscou, decidiu considerar o gênero como monoespecífico, isto é, agruparam-se as espécies, então consideradas, interrogans e biflexa, em uma só espécie, a Leptospira interrogans^{*}.

(*) Ao longo deste trabalho adotaremos a nomenclatura utilizada pelo Center for Disease Control do U.S. Department of Health, Education and Welfare: 1. omite-se a letra "l" antes do sorotipo, 2. a primeira letra do sorogrupo é grafada em maiúscula, 3. não se grifa o sorogrupo.

As leptospi^{ras} crescem e se multiplicam facilmente em vários meios de cultura, constituídos por solução de sais inorgânicos tamponados por fosfato (pH 7,2-7,4), e enriquecidos com soro de coelho, na proporção de 7 a 20% do volume. Para o cultivo do espiroqueta, podem ser utilizados meios líquidos, semi-sólidos e sólidos, destacando-se, dentre eles, os meios líquidos de Korthof, Stuart e o de EMJH, o semi-sólido de Fletcher e o sólido de Cox. Pode-se também cultivá-las em meios sintéticos suplementados com albumina bovina e Tween 80. As leptospi^{ras} são aeróbias estritas, desenvolvendo-se em temperaturas oscilando entre 28 e 30°C.

Em esfregaços tratados com corantes à base de anilina, tais microrganismos não podem ser visualizados com facilidade, pois, como foi salientado anteriormente, apresentam diâmetro mínimo. Todavia, são facilmente detectados a fresco, em microscopia de campo escuro ou em cortes de tecidos corados pelos métodos de impregnação argêntica.

SANTA ROSA (1970)⁷³ preconiza como métodos laboratoriais de demonstração das leptospi^{ras} e diagnóstico das leptospi^{roses} infecção ou doença, a visualização ou demonstração deste espiroqueta em tecidos, secreções e excreções orgânicas; o isolamento do agente a partir de tecidos ou excreções e a pesquisa de anticorpos séricos. Considerando como de aplicação prática limitada o método de visualização do agente a partir de amostras de sangue, de urina e de líquido céfalo-raquidiano, SANTA ROSA (1970)⁷³ salienta, entretanto, que o uso das técnicas de imunofluorescência direta em preparações tissulares e de urina, permitem um maior êxito na sua visualização.

Nos casos de óbito, as leptospi^{ras} podem ser demonstradas em cortes histológicos de rins e fígado, corados pelo nitrato de prata, a exemplo das técnicas de Levadite⁵⁷, de Warthin-Starry⁵³ e de Van Orden¹⁰².

O sucesso do isolamento do agente a partir das amostras de sangue, de urina ou de fragmentos de tecido, depende da escolha do material fonte de isolamento e da fase da evolução

do quadro mórbido. No decorrer da leptospiremia, isto é, entre 7 e 10 dias de evolução, SANTA ROSA (1970)⁷³ recomenda como material de eleição o sangue e fragmentos de fígado, rins e baço; por outro lado, na ocorrência de letospiúria ou em fases mais tardias da evolução, obtém-se maior êxito ao se tentar o isolamento a partir de amostras de urina ou de fragmentos da córtex renal. O isolamento pode ser realizado tanto em meio de cultura (Fletcher, Korthof ou Stuart), como através de inoculação do material suspeito em animais de laboratório (recém-nascidos ou jovens), tais como cobaias, hamsters e coelhos.

Na prática, os métodos sorológicos são os mais usados para a realização de inquéritos de prevalência para o diagnóstico da leptospirose doença, baseando-se na detecção de anticorpos antileptospiras. SANTA ROSA (1981)* enumera entre as provas utilizadas para o soro-diagnóstico as reações de fixação do complemento (Sturdza e col., 1960), de imunofluorescência indireta (Hirschberg e col., 1968), de microtitulação (Galton e col., 1965), de hemaglutinação (Sulzer & Jons, 1973), de soroaglutinação macroscópica (Stöener 1953, 1957; Galton e col., 1958), de soroaglutinação microscópica - SAM (Martin & Petit, 1918) e, mais recentemente, a reação do Card-test (Bragger & Adler, 1976). Em decorrência de sua ampla utilização, deve ser destacada a reação de soroaglutinação microscópica, utilizando tanto antígenos formolizados como antígenos vivos. Esta reação, executada com antígenos vivos, é recomendada pela OMS¹⁰⁶, sendo ainda hoje considerada como prova padrão para o diagnóstico sorológico das leptospiroses humana e animal (JONES, 1964⁵²; DESMECHT, 1970²⁹, SANTA ROSA, 1970⁷³; FEIGIN e col., 1973³⁷).

As leptospiroses humana e animal apresentam vasta sinonímia em função do sorotipo infectante, das manifestações sintomáticas, do local de ocorrência ou mesmo da atividade ocupacional; assim, são conhecidas pelas designações: doença de Weil (Icterohaemorrhagiae), febre dos pântanos e hemoglobinúria infec

(*) SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM LEPTOSPIROSES - promovido pela Sociedade Paulista de Medicina Veterinária. São Paulo, 1981.

ciosa dos bovinos (Grippotyphosa), febre outonal (febre hasami) ou febre pré-tibial de Fort Bragg (Autumnalis), doença dos porqueiros (Pomona), doença de Sttutgart ou tifo canino (Canicola), febre de Andamana (Andamana), febre dos sete dias (Hebdomadis), febre dos arrozais (Bataviae), febre dos canaviais (Australis).

Tal diversidade de denominações permite afirmar ser a leptospirose um termo genérico, que abrange inúmeras doenças febris de evolução aguda, causadas por espiroquetas patogênicos.

Estes quadros infecciosos acometem indivíduos de ambos os sexos, quando expostos às fontes de infecção; entretanto, CORRÊA e col. (1976)²⁶ afirmam que, em decorrência da atividade ocupacional, o homem apresenta maior índice de morbidade que a mulher, ao passo que, em animais, mais especificamente nos cães, YASUDA (1979)¹⁰⁸ afirmou inexistir tal predisposição sexual.

Pelos dados coligidos, o Departamento de Saúde dos Estados Unidos da América¹⁸ cataloga as leptospiroses humanas como quadros mórvidos, predominantemente de adultos. Entretanto, parece não haver uma maior prevalência da zoonose para determinada faixa etária, ocorrendo sim, um maior número de casos em uma faixa de idade mais ampla. Este fato, contudo, está provavelmente mais ligado a determinadas atividades profissionais que à idade cronológica propriamente dita. Ao se considerar as leptospiroses animais, existe uma deficiência de dados correlacionando ocorrência da infecção e idade do animal acometido.

Tanto em Medicina Humana como em Medicina Veterinária, nota-se uma predisposição sazonal, com um acme de incidência nos meses chuvosos (CORRÊA e col., 1976²⁶).

O homem é considerado como um hospedeiro terminal e um elo accidental na cadeia epidemiológica, havendo raros relatos de transmissão inter-humana (ALSTON & BROOM, 1958²).

A *Leptospira* atinge o homem através do contacto direto ou indireto com animais domésticos, silvestres e, principalmente, com os de hábitos peri-domiciliares. A principal via de transmissão desta antroponose é através da água; entretanto, ela também atinge o homem e os animais pela ingestão de alimentos contaminados, pela manipulação de carcaças ou vísceras de animais destinados ao abate e ao consumo humano e, de forma bastante remota, pelo contacto sexual. A principal via de eliminação do agente etiológico da leptospirose é a urina, podendo também ser eliminado pelas fezes, pelo leite e pelo sêmen. Como portas de entrada, destacam-se a pele lesada e as mucosas bucal, nasal, vaginal e conjuntivais.

A bibliografia compilada não registra muitas citações sobre a magnitude da ocorrência das leptospiroses nos diferentes países, fato que se acentua sobremaneira no Brasil. Segundo o CENTER FOR DISEASE CONTROL ⁶⁹ dos Estados Unidos da América, no período compreendido entre 1947 e 1979, notificaram-se, nos EUA, 2024 casos de leptospiroses sendo que, entre os anos de 1970 e 1979, o índice de casos notificados oscilou entre 0,02 e 0,05 por 100.000 habitantes. A citada fonte bibliográfica ⁶⁹ ressalta que, em 10 anos (de 1969 a 1978), notificaram-se naquele país 68 óbitos dentre 711 casos desta espiroquetose, com uma decorrente letalidade de 9,5%. Em relatório ¹⁸ datado do ano de 1976, registra ainda a ocorrência de 20 surtos epidêmicos em um período de 36 anos (1939-1974).

No Brasil, CORRÊA e col. (1976) ²⁶, em 18.233 provas de soroprecipitação realizadas, entre 1947 e 1972, no Instituto Adolfo Lutz (S.P.), obtiveram 2.237 (12,3%) casos positivos de infecção por Leptospira interrogans, sendo isoladas 32 cepas de leptospiroses de diferentes sorotipos, a partir do cultivo de amostras de sangue, líquido ou de parênquima renal de pacientes acometidos pela zoonose. Em São Paulo, através de dados do Serviço de Arquivo Médico e Estatística do Hospital Emílio Ribas, relatados por KUSCHNAROFF (1981) ^{*}, entre os anos de

(*) KUSCHNAROFF, T. - Leptospirose humana: situação atual no Brasil. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM LEPTOSPIROSES - promovido pela Sociedade Paulista de Medicina Veterinária. S.P. 1981.

1975 e 1980, foram encaminhados àquele hospital 583 casos de leptospiroses, com um coeficiente de letalidade oscilando entre - 7,5 a 12,9%.

CACCHIONE (1973)⁹, revisando os trabalhos de leptospiroses humanas e animal na América Latina, relata que, desde as primeiras investigações realizadas no Brasil por Stimson (1910), Macdowell (1917) e Carine (1918), e desde o primeiro isolamento do agente (do sorotipo icterohaemorrhagiae), em 1920 por Magalhães, foram observados 5 surtos epidêmicos de vulto. O primeiro destes surtos, com coeficiente de letalidade de 8,33%, ocorreu em 1941, em Porto Alegre (RS), segundo Costa e col. (1942), quando de uma enchente no Rio Guaíba. Outro surto ocorreu no Paraná em 1946 (Miranda, 1935), com 44 óbitos dentre 180 pacientes acometidos. Em 1964, Silva relata um surto na Bahia com 100 casos de leptospirose humana. Finalmente, no Recife (PE), em decorrência de inundações, ocorreram 2 surtos, respectivamente, em 1966 e 1970, com 279 casos clínicos diagnosticados em laboratório e com isolamento de 6 sorotipos diferentes (CORREIA, 1975²¹).

As leptospiroses sempre estiveram arroladas entre as chamadas doenças profissionais, cabendo destacar como ocupações de maior risco as exercidas pelos magarefes, tratadores de animais, mineiros, lavradores, operários que se ocupam da abertura de valas e da limpeza de redes de águas pluviais e de esgoto, médicos veterinários, técnicos de laboratórios, enfermeiros, pedreiros e encanadores (CORREIA e col., 1954²⁴; MAGALDI, 1962⁶⁰; HYAKUTAKE e col., 1965/67⁵¹; CASTRO e col., 1966¹⁴; CORREIA e col., 1967²⁵; GOMES e col., 1968⁴⁰; COSTA, 1970²⁷; SANTA ROSA e col., 1970⁸⁶; CRUZ e col., 1971²⁸).

SZYFRES (1976)⁹⁴ afirma que, nos países desenvolvidos, o impacto das leptospiroses na saúde humana tende a diminuir, em virtude da mecanização dos trabalhos agrícolas, das melhores condições de higiene pessoal e ambiental, do nível sócio-econômico e cultural mais elevado das populações, bem como da implantação de medidas de prevenção da infecção em animais domésticos. Afirma ainda, que nestes países a zoonose, gradativa

mente, vem perdendo o caráter de doença profissional, resultando, na atualidade, mais de atividades recreativas e de lazer, entre as quais pode-se incluir a natação em rios e lagoas, o "camping" e o contacto cada vez mais estreito com os animais de companhia e guarda.

Segundo o CENTER FOR DISEASE CONTROL¹⁸, a despeito da leptospirose humana continuar sendo uma doença predominantemente de adultos do sexo masculino, tem-se observado uma tendência para um maior acometimento de crianças, jovens e mulheres. O CDC¹⁸ registrou que, entre 1949 e 1961, 10% dos casos clínicos notificados era constituído de mulheres cuja idade variava entre 30 e 39 anos. Entre os anos de 1964 e 1975, houve, segundo a mesma fonte, uma variação da prevalência da infecção na população feminina, atingindo 22% de mulheres da faixa etária dos 20 a 29 anos. Em 1972, no seu relatório anual¹⁷ sobre leptospirose, salientou que, de 68 casos clínicos diagnosticados, 34 (50%) foram observados em crianças, estudantes ou donas de casa, com apenas 16% dos casos (11 pacientes) ocorrendo em indivíduos com alto risco de infecção, isto é, naqueles em contacto com esgotos e com animais de abate.

No período de 1965 a 1969, considerando-se 305 casos de leptospiroses humana, nos quais houve possibilidade de determinar as fontes de infecção mais prováveis para o homem, assinalou-se que o contacto com bovinos e suínos acarretou 16,4% dos casos, o contacto com água pôde ser responsabilizado por 16,1% e o contacto com carnívoros domésticos (gatos, cães) e roedores estiveram relacionados, respectivamente, com 14,4 e 14,1% dos casos de leptospirose humana¹⁶.

Ainda de acordo com dados dos EUA, coletados pelo Departamento de Saúde Americano entre 1965 e 1974¹⁸, pelos quais se correlacionou a fonte de infecção envolvida e o percentual de acometimento humano, pôde-se determinar que os cães foram responsáveis por 14,15% dos casos, os cães e gatos em conjunto por 2,78% e os gatos de "per si" por 0,25%. O CDC¹⁸ considerou para o período já referido, em ordem decrescente de im

portância como fonte de infecção humana, os cães, os animais destinados ao abate e consumo, os roedores, os espécimes de vida selvagem e os gatos domésticos.

Em virtude do crescimento vertiginoso das cidades brasileiras, tem-se notado uma tendência crescente em se adotarem carnívoros de pequeno porte como animais de companhia, mesmo naquelas famílias que moram em apartamentos ou em casas com pequena área para lazer. Consequentemente, tem-se observado o aumento do número de felinos criados em estreito convívio com mulheres, crianças e jovens nos grandes centros urbanos. Sabe-se, também que, apesar de mantidos como animais domiciliados, os gatos conservam inúmeros instintos inatos, como o da caça. Em decorrência, tem grandes chances de serem infectados pelos agentes etiológicos de zoonoses, principalmente a toxoplasmose e a leptospirose, amplamente disseminadas pelos roedores, aves e por outros reservatórios naturais, podendo posteriormente, veiculá-las ao homem.

CORREIA & MEARIN (1971)²² e MEARIN & CORREIA (1977)⁶³, em amplas revisões bibliográficas, catalogaram 327 trabalhos pertinentes à zoonose, realizadas no Brasil, no período de 1917 a 1977.

Dentre nós, as leptospiroses humana e animal só passaram a ser estudadas de forma sistemática, relativamente aos seus aspectos etiológicos e epidemiológicos, a partir de 1947, com a publicação dos trabalhos de Corrêa em Medicina Humana e os de Guida em Medicina Veterinária (CORREIA, 1975²¹).

Restringindo-nos às leptospiroses animais, observa-se que praticamente todas as espécies de animais silvestres, de hábitos peri-domiciliares e domésticos já foram investigadas.

Entre os espécimes silvestres, temos dados de ocorrência obtidos por sorologia e/ou isolamento, em préas¹⁵; morcegos⁸³; gambás, rato do cacau, rato do mato, quiara⁷⁴; serpentes^{50,77}; cuíca e rato d'água²⁰.

Nos chamados animais de hábitos peri-domiciliares é que se observa um maior número de trabalhos realizados, devido a importância dos ratos como reservatórios da zoonose (Cordeiro, 1970; Cordeiro & Silva, 1974, citados por CORDEIRO e col. 1981²⁰, tal como se depreende da leitura da TABELA nº 1, em que se compilaram os principais inquéritos relativos a leptospirose nos roedores no Brasil.

Com relação aos animais domésticos, são inúmeros os levantamentos epidemiológicos de leptospirose existentes, destacando-se aqueles realizados em bovinos (SANTA ROSA e col., 1961⁷⁹; YANAGUITA, 1972¹⁰⁷; Corrêa e col., 1972 e Cordeiro, 1973; citados por MEARIN & CORRÊA, 1977⁶³; AVILA e col., 1973⁴), em equinos (Corrêa e col., 1955; Freitas, 1960; citados por CORRÊA & MEARIN, 1971²²; SANTA ROSA e col., 1968⁸¹), em caninos (CASTRO e col., 1962¹³; HAGIWARA, 1974⁴⁴; YASUDA, 1979¹⁰⁸), em suínos (CASTRO e col., 1962¹²; SANTA ROSA e col., 1969/1970⁸⁵; SANTA ROSA e col., 1970⁷⁶) e em caprinos e ovinos (SANTA ROSA & CASTRO, 1963⁷⁵). Todavia, compilando-se os trabalhos referentes à leptospirose felina, verifica-se que na bibliografia nacional somente se encontra assinalado um inquérito sorológico de ocorrência entre os felinos domésticos, realizado por SANTA ROSA e col., (1976)⁸². De modo similar, constata-se, na literatura estrangeira pertinente ao assunto, serem poucos os levantamentos sorológicos e de isolamento de leptospirosas em felinos clinicamente normais ou com suspeita clínica de infecção pelo espiroqueta, conforme se depreende da interpretação das TABELAS nºs. 2, 3, 4 e 5.

Enfatizando apenas os trabalhos relativos à ocorrência, nas 3 Américas, de leptospirose em população de gatos normais, tem-se, quanto à América do Norte, nos EUA, os levantamentos de GREENE (1941)⁴²; de MURPHY e col., (1958)⁷⁰; de FERRIS & ANDREWS (1965)³⁸ e de JONES (1964)⁵²; no Canadá, encontramos referência aos recentes inquéritos de HIGGINS & CAYOQUETTE, (1978)⁴⁸ e de HIGGINS e col., (1980)⁴⁹; no México, o de VARELA & ZAVALA (1961)¹⁰¹. A frequência da infecção leptospirótica em

TABELA Nº 1 - Frequência (%) de leptospirose em ratos, em alguns locais do Brasil, segundo vários autores e em diferentes anos.

Localidade	Autor	Ano	Frequência (%)
Rio de Janeiro	Aragão	1917	16,6
São Paulo	Smillie	1921	9,7
São Paulo	Fonseca & Prado	1923	13,8
Rio de Janeiro	Lins	1925	23,2
Paraíba	Sellards	1927	5,8
Salvador	Araujo	1928	50,0
Rio de Janeiro	Fialho	1936	28,2
São Paulo	Foratini	1947	27,1
Rio de Janeiro	Santos	1947	31,3
São Paulo	Nóbrega	1947	58,6
			74,0
Belém	Deane	1947	19,6
São Paulo	Guida e col.	1949	58,7
São Paulo	Gomes e col.	1950	15,0
Santos	Gomes e col.	1950	6,3
Belo Horizonte	Barbosa & Hipolito	1952	44,3
Curitiba	Enrietti	1954	78,0
Salvador	Andrade & Oliveira	1963	29,2
São Paulo	Meira & Santa Rosa	1963	76,1

Fonte: SANTA ROSA, C. A. - Aspectos epidemiológicos das leptospiroses. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM LEPTOSPIROSES - promovido pela Sociedade Paulista de Medicina Veterinária - São Paulo, 1981.

TABELA Nº 2 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, por isolamento do agente em nefroculturas, segundo o sorogrupo, em alguns países dos 5 continentes. Vários autores em diferentes anos.

Autor	Local	Nº de animais examinados	Nefroculturas positivas Nº (%)	Sorogrupo
SIAM e col. (1973) ⁹²	<u>ÁFRICA</u> Egito	50	-	...
EVERARD e col. (1979) ³⁶	<u>AMÉRICA CENTRAL</u> Trinidad	40	1 (2,5)	Canicola 1(2,5)
MURPHY e col. (1958) ⁷⁰	<u>AMÉRICA DO NORTE</u> E U A	12	-	...
HERRER e col. (1950) ⁴⁷	<u>AMÉRICA DO SUL</u> Perú	34	1 (2,9)	Canicola 1(2,9)
DJANKOV (1963) ³²	<u>EUROPA</u> Bulgária	44	1 (2,3)	Pomona 1(2,3)
LUCKE & CROWTHER (1965) ⁵⁹	Inglaterra	118	-	...
ESSEVELD & COLLIER (1938) ³⁴	<u>OCEÂNIA</u> Indonésia	517	14 (2,7)	Bataviae 8(1,5) Javanica 6(1,0)
ESSEVELD e col. (1940) ³⁵	Indonésia	349	13 (3,7)	Bataviae 7(2,0) Javanica 6(1,7)
GORDON-SMITH e col. (1961) ⁴¹	Malásia	68	1 (1,5)	Pomona 1(1,5)

- Valor numérico nulo.

... Dado inexistente.

TABELA Nº 3 - Frequência de leptospirose (Nº), por sorologia e isolamento do agente em gatos clinicamente suspeitos, em alguns países. Vários autores em diferentes anos.

Autor	Local	Animais exam. posit.	Quadro sintomático e/ou Diagnóstico clínico	Sorologia* (título)	Isolamento
HEMSLEY (1956) ⁴⁶	Inglaterra	4 3	Convulsão, Gastroenterite - Pirexia/Nefrite	Canicola (100 a 3000)	-
REES (1964) ⁷²	Nova Zelândia	1 1	Icterícia/Nefrite	Pomona (300)	-
CARLOS e col. (1970) ¹¹	Filipinas	2 1	Icterícia, Pirexia	...	Grippotyphosa
HARKNESS e col. (1970) ⁴⁵	Nova Zelândia	1 1	Assintomático	Pomona (3000)	Pomona
CARLOS e col. (1971) ¹⁰	Filipinas	8 1	Icterícia, Pirexia	Grippotyphosa (800)	Grippotyphosa
MASON e col. (1972) ⁶²	Austrália	2 1	Icterícia/Nefrite	Pomona (1000)	Pomona
BRYSON & ELLIS (1976) ⁷	Inglaterra	1 1	Assintomático	...	Australis

* Reação de soroaglutinação microscópica.

Título - recíproca da diluição.

- Valor numérico nulo.

... Dado inexistente.

TABELA Nº4 - FREQUÊNCIA DE LEPTOSPIROSE (Nº e %) EM GATOS, PELA REAÇÃO DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (TÍTULO >20) COM DIFERENTES ANTÍGENOS, SEGUNDO O SOROGRUPO UTILIZADO, EM VÁRIOS PAÍSES. VÁRIOS AUTORES EM DIFERENTES ANOS.

AUTOR	LOCAL	NÚMERO DE ANIMAIS EXAMINADOS	ANIMAIS SOROREAGENTES	SOROGRUPO																		TÍTULO		
				ICTERHAEMORRHAGIAE	CANTICOLA	POMONA	GRIPPOTYPHOSA	BATAVIAE	AUSTRALIS	JAVANICA	BALLUM	PYROGENES	AUTUMNALIS	HEBDOMADIS	TABASSOVI	PANAMA	ANDAMANA	SEMARANGA	CELLEDONI	SHERMANI	CYNOPTERI			
																							NÚMERO (%)	
																								>
ÁFRICA																								
SIAM E COL. (1973) ⁹²	EGITO (CAIRO E GIZA)	50	-	-	-	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
EUROPA																								
SEMEL (1956) ⁸⁹	ALEMANHA (MUNIQUE)	128	1(0,8)	...	1(0,8)	...	...	...	...	...	...	...	...	1(0,8)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	
Broom (1955) ^{CITADO POR}																								
HEMSLEY (1956) ⁴⁶	INGLATERRA	180	5(2,7)	3(1,6)	2(1,1)	-	-	-	...	...	...	...	...	-	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
DJANKOV (1963) ³²	BULGÁRIA	44	18(40,9)	-	...	7(15,9)	1(2,2)	...	1(2,2)	...	6(13,6)	...	...	2(4,5)	2(4,5)	1(2,2)*	...	...	...	...	...	...	20	
LUCKE & CROWTHER (1965) ⁵⁹	INGLATERRA (BRISTOL)	118	8(6,8)	1(0,8)	3(2,5)	1(0,8)	-	-	1(0,8)	2(1,6)*	-	-	-	2(1,6)*	-	...	...	...	...	...	...	...	50	
TASSELLI & MARASCHINI (1969) ⁹⁵	ITÁLIA (FLORENÇA)	70	1(1,4)	-	-	1(1,4)	-	...	-	...	-	-	...	-	-	...	...	...	...	...	...	...	500	
SEBEK E COL. (1976) ⁸⁸	ÁUSTRIA (TIROL)	44	8(18,2)	-	-	-	3(6,8)	-	-	5(11,3)	-	...	-	-	-	...	...	...	...	...	...	...	100	
MODRIC (1978) ⁶⁸	IUGOSLÁVIA (ZAGREB E ESLOVÊNIA)	112	24(21,4)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
OCEÂNIA																								
ESSEVELD & COLIER (1938) ³⁴	INDONÉSIA (JAVA)	225	39(17,3)	...	...	...	...	39(17,3)	...	...	...	-	-	...	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
		85	18(21,1)	...	...	...	...	7(8,2)	...	11(12,9)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
ESSEVELD E COL (1940) ³⁵	INDONÉSIA (JACARTA)	310	65(20,9)	2(0,6)	...	...	...	63(20,3)	...	...	...	...	-	...	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
		100	-	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
		85	18(21,1)	...	...	...	...	...	...	18(21,1)	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
ALIKATA & BREAKS (1942/43) ¹	HONOLULU	100	-	-	-	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	10	
GORDON-SMITH E COL. (1961) ⁴¹	MALÁSIA	68	7(10,0)	4*	3*	1(1,5)	1*	...	1*	1*	...	...	...	3	...	...	...	...	...	...	...	...	100	
MASON (1972) ⁶²	AUSTRÁLIA	46	2(4,3)	-	-	-	-	...	...	...	...	...	...	2(4,3)	-	...	...	...	...	...	...	...	30	
WATSON & WANNAM (1973) ¹⁰⁴	AUSTRÁLIA (SIDNEY)	100	6(6,0)	-	-	-	1(1,0)	-	-	...	...	-	-	5(5,0)	-	...	...	...	...	...	...	...	30	
SHOPMET (1979) ⁹⁰	NOVA ZELÂNDIA (ILHA DO NORTE)	225	20(8,8)	5(2,2)	1(0,4)	4(1,8)	...	-	-	...	4(1,8)	-	...	6(2,6)	-	...	...	...	...	...	...	...	100	

TÍTULO - RECIÍPROCA DA DILUIÇÃO

* - SOROS COAGULINANTES

- - VALOR NUMÉRICO NULO

... DADO INEXISTENTE

BELA Nº5 - FREQUÊNCIA DE LEPTOSPIROSE (Nº E %) EM GATOS, PELA REAÇÃO DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (TÍTULO ≥ 10) COM DIFERENTES ANTÍGENOS, SEGUNDO O SOROGRUPO UTILIZADO, EM VÁRIOS PAÍSES DAS 3 AMÉRICAS. VÁRIOS AUTORES EM DIFERENTES ANOS

AUTOR	LOCAL	NÚMERO DE ANIMAIS EXAMINADOS	ANIMAIS SOROREAGENTES	SOROGRUPO																		TÍTULO
				ICTERODIAE MORRHAGIAE	CANTICOLA	PORDIA	GRIPPOTYPHOSA	BATAVIAE	AUSTRALIS	JAVANICA	BALLUM	PYROGENES	AUTUMNALIS	HEBDOMADIS	TARASSOVI	PANAMA	ANDAMANA	SEMARANGA	CELLEDONI	SHERMANI	CYNOPTERI	

TÍTULO - RECÍPROCA DA DILUIÇÃO
 * - SOROS COAGULINANTES
 ** - GATOS SELVAGENS
 - - VALOR NUMÉRICO NULO
 ... - DADO INEXISTENTE

felinos domésticos da América do Sul foi determinada apenas, no Peru e no Brasil, respectivamente por HERRER e col. (1950)⁴⁷, e pelos autores patrícios SANTA ROSA e col. (1976)⁸². Na América Central, a única menção à ocorrência de leptospirose felina é aquela de EVERARD e col. (1979)³⁶ na Ilha de Trinidad.

A literatura especializada nos apresenta alguns relatos esparsos sobre o isolamento ou demonstração de Leptospira a partir de urina ou rins de gatos clinicamente suspeitos, que apresentamos de forma esquemática na TABELA Nº 3. Todavia, a possibilidade deste espiroquetídeo induzir a leptospirose doença em felídeos é ainda assunto bastante discutido e controverso (HEMSLEY, 1956⁴⁶; ALSTON & BROOM, 1958²; LUCKE & CROWTHER, 1965⁵⁹; DESMECHT, 1970²⁹; MASON e col., 1972⁶²), a despeito da existência de alguns trabalhos experimentais realizados com diferentes sorotipos como: pomona, gryppotyphosa, canicola, icterohaemorrhagiae, sejroe, ballum (Noguchi, 1918 e Wirth, 1937; citados por ESSEVELD & COLLIER, 1938³⁴; VAN DER HOEDEN, 1953, 1955^{99, 97}; SEMMEL, 1954⁸⁹; FESSLER & MORTER, 1964³⁹; JONES, 1964⁵²; MODRIC, 1978⁶⁸; SHOPHET & MARSHALL, 1980⁹¹).

No estudo da leptospirose felina persistem algumas dúvidas relativas a uma real avaliação de sua ocorrência, tanto nas Américas como no resto do mundo, em decorrência do número limitado de antígenos utilizados e da disparidade de títulos iniciais considerados nos inquéritos sorológicos, além da não representatividade do tamanho das amostras e da carência de dados referentes à faixa etária e ao sexo. Deve-se, também, destacar, que, para a determinação da ocorrência da leptospirose infecção ou doença, a melhor metodologia é aquela da associação de mais de um meio diagnóstico, ou seja, a combinação entre provas sorológicas, bacteriológicas e métodos de demonstração.

Particularmente no que tange à leptospirose doença em felinos, natural ou experimentalmente induzida, alguns pontos controversos permanecem ainda por serem esclarecidos, tais como: as possíveis alterações do quadro hemático, a possibilidade de ocorrência de pirexia, a existência e duração da leptospiremia e leptospiúria.

Considerando-se a existência de vários pontos controvertidos relativos à patogenia e à epidemiologia da leptospirose felina, e tendo-se em vista também o provável risco de infecção humana a partir de um contacto cada vez maior com os gatos domésticos, e ainda, constatando-se que a literatura pertinente, particularmente a nacional, é bastante escassa, idealizou-se a presente pesquisa que visa contribuir para o estudo da leptospirose felina, tantos nos aspectos da Medicina Veterinária como naqueles da Saúde Pública.

Nossos objetivos são os seguintes:

- 1) determinar a frequência da infecção por Leptospira interrogans em gatos, jovens e adultos, machos e fêmeas, segundo a reação de soroaglutinação microscópica e pela demonstração do agente etiológico nos rins dos animais soropositivos;
- 2) determinar a ocorrência da infecção leptospirótica e a frequência do estado de portador em gatos, pelo isolamento de leptospiros a partir de fragmentos de rins, e;
- 3) infectar experimentalmente gatos, pela inoculação de amostras padronizadas obtidas a partir de cepas autóctones, determinando os aspectos clínico-laboratoriais, bacteriológicos e epidemiológicos da leptospirose nestes espécimes.

2. MATERIAL E MÉTODOS.

2. MATERIAL E MÉTODOS.

2.1. Frequência de leptospirose felina.

2.1.1. Colheita de amostras.

2.1.1.1. Sangue.

As amostras de sangue destinadas à obtenção de soro para a realização de provas sorológicas foram colhidas, no período compreendido entre outubro de 1979 e março de 1981, de 172 animais oriundos dos canis do Instituto Pasteur da Secretaria dos Negócios da Saúde do Estado de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, e do Ambulatório do Serviço Médico Cirúrgico e Hospitalar dessa Faculdade, além de gatos mantidos em uma associação de amparo aos animais. A amostragem compunha-se de 80 machos e 92 fêmeas, sendo 118 animais adultos e 54 animais jovens. Após prévia anestesia com cloridrato de ketamina *, na dose de 20mg/kg de peso, colheu-se, por punção cardíaca ou da veia jugular, 10ml de sangue de cada animal. As amostras foram colocadas em tubos de ensaio umedecidos com solução fisiológica, estéril, à 0,85% de NaCl. Após a retração do coágulo, separou-se o soro por centrifugação, utilizando-se apenas aqueles isentos de hemólise. A seguir as amostras foram estocadas em congelador à -20°C, até o momento da realização da prova de soroaglutinação microscópica.

2.1.1.2. Rins.

Após a colheita das amostras de sangue, os animais foram sacrificados por eletrocussão e imediatamente procedeu-se à retirada dos rins, tendo-se o cuidado de mantê-los em capsulados até a sementeira. Neste momento, retirou-se a cápsula do órgão, cauterizando-se sua superfície com espátula aqueci

(*) KETALAR - Parke-Davis, gentilmente cedido pelo Laboratório Parke-Davis Ltda.

da. Com pipeta tipo Pasteur, estéril, introduzida no parênquima renal, foi retirado fragmento de tecido, que foi transferido para tubos de ensaio 13 x 100, com tampa rosqueada, contendo 5 ml de meio semi-sólido de Fletcher. O referido meio, preparado segundo o manual Difco³¹, foi acrescido de 10% de soro de coelho*, previamente inativado em banho-maria à 56°C, durante 60 minutos.

Os tubos com meio de Fletcher, semeados com uma amostra de cada rim, foram incubados em estufa à 28°C, durante 4 a 6 semanas, e submetidos a exame semanal para detectar-se o crescimento de leptospi^{ras}. As avaliações foram feitas em gotas de meio de cultura colocadas sobre lâmina e observadas em microscópio dotado de condensador de campo escuro, com aumento de 120 vezes.

Após a retirada dos fragmentos de parênquima renal, utilizados nas tentativas de isolamento de leptospi^{ras}, os órgãos foram fixados em formol à 10%. Os rins dos animais soro positivos, com títulos iguais ou maiores a 100 detectados pela reação de soroaglutinação microscópica, foram submetidos à impregnação e coloração através de nitrato de prata, segundo a técnica de Warthin-Starry (KERR, 1938)⁵³, realizada no Laboratô^{rio} de Patologia do Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

2.1.2. Pesquisa de aglutininas antileptospi^{ras}.

Nas 172 amostras de soro de gatos obtidas conforme o descrito no item 2.1.1.1., pesquisou-se a presença de anticorpos antileptospi^{ra}, utilizando-se a reação de soroaglutinação microscópica (SAM), descrita por SANTA ROSA (1970)⁷³, e rotineiramente utilizada no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Foram utilizados como antígenos 18 sorotipos, representativos de 17 sorogrupos de Leptospira interrogans. (dispostos no quadro do item 2.1.2.2.).

(*) Soro obtido de coelhos hígidos, de criação da Organização Seleta Ltda., Cotia - São Paulo.

2.1.2.1. Técnica da reação de soroaglutinação microscópica.

Os soros foram diluídos a 1:50 em solução salina fisiológica, acrescentada (à proporção de 11,5:1) do tampão de Sorensen (pH 7,5), distribuindo-se 0,2 ml em uma série de 18 tubos. A cada um destes tubos adicionou-se, a seguir, 0,2 ml de antígeno representativo dos sorotipos utilizados. Os 18 antígenos empregados encontram-se especificados no capítulo referente a Preparo dos Antígenos (item 2.1.2.2.). Após ligeira agitação, os tubos com a mistura soro-antígeno foram incubados em estufa à 28°C, durante 3 horas, procedendo-se, então, à leitura microscópica da reação, em gota da preparação (soro-antígeno) disposta sobre lâmina de vidro e observada em microscópio de campo escuro, com magnitude de 120 aumentos.

O grau de aglutinação foi avaliado com base no seguinte critério:

- (+) - quando pelo menos 25% das leptospiras estavam aglutinadas no campo microscópico.
- (++) - quando até 50% das leptospiras encontravam-se aglutinadas.
- (+++)- ao se observar até 75% de aglutinação.
- (++++)- quando ocorria aglutinação de 75 a 100% das leptospiras.

Os soros apresentando aglutinação considerada igual ou superior a (++) , nesta diluição inicial de 1:100, foram separados e titulados, utilizando-se de diluições maiores, na razão 2, determinando-se, desta maneira, o título final. A positividade adotada para leptospirose foi a de que o soro apresentasse reação de aglutinação (++) ou superior, na diluição 1:100, considerando-se como título final para cada amostra aquele que apresentasse, na sua diluição mais alta, no mínimo 50% de aglutinação.

2.1.2.2. Preparo dos antígenos.

Os antígenos utilizados na reação de soroaglutinação microscópica foram preparados em meio líquido de EMJH - (Difco)³¹, acrescido, no momento de sua distribuição em tubos 18 x 180, de 10% de soro inativado de coelho. Nesse meio, a partir das culturas matrizes, foram feitos repiques semanais, utilizando-se, como inóculo, 10% do volume do meio a semear. Assim sendo, os antígenos empregados foram culturas vivas de leptospi^{ra}s com crescimento de 6 a 7 dias, em estufa à 28°C. Tais culturas foram previamente examinadas, para avaliação de sua pureza, autoaglutinação, densidade microbiana e ausência de contaminação. Utilizaram-se apenas os antígenos puros, isentos de contaminação, livres de autoaglutinação e com densidade de, no mínimo, 100 leptospi^{ra}s por campo microscópico, quando examinadas em campo escuro, com aumento de 320 vezes.

Para a pesquisa de aglutininas antileptospira foram usados, como antígenos, os sorotipos de Leptospira interrogans, com as respectivas cepas de origem e sorogrupo, apresentados no QUADRO Nº 1.

2.2. Inoculação de Leptospira interrogans em gatos (Felis cati, L. 1758).

2.2.1. Seleção dos animais.

No intuito de se estudar o quadro clínico laboratorial e os aspectos epidemiológicos decorrentes da infecção experimental de felinos domésticos com cepas autóctones de L. interrogans, foram utilizados 11 gatos adultos, com peso variando entre 1,8 e 3,5 kg, sem raça definida, sendo 6 machos e 5 fêmeas, uma das quais recém parida e em fase final de aleitamento (F 304). Estes animais foram identificados pela consóante F, seguida dos números: 301, 303, 304, 309, 311, 312, 315, 316, 317, 319 e 320. Os gatos foram mantidos em gaiolas individuais, higienizadas diariamente, com comedouros e bebedouros individuais e dispostas em canil sem acesso de roedores. Rece

QUADRO Nº 1 - Antígenos utilizados na reação de soroaglutinação microscópica, segundo o sorogrupo, sorotipo e cepa de origem.

SOROGRUPO	SOROTIPO	CEPA DE ORIGEM
Icterohaemorrhagiae	<u>icterohaemorrhagiae</u>	RGA
Canicola	<u>canicola</u>	Hond Utrecht IV
Pomona	<u>pomona</u>	Pomona
Grippotyphosa	<u>grippotyphosa</u>	Moskva v
Tarassovi	<u>tarassovi</u>	Perepelicin
Australis	<u>australis</u>	Ballico
Bataviae	<u>bataviae</u>	Van Tienen
Bataviae	<u>brasiliensis</u>	An. 776
Ballum	<u>castellonis</u>	Castéllon 3
Hebdomadis	<u>wolffi</u>	3705
Panama	<u>panama</u>	CZ 214 K
Pyrogenes	<u>pyrogenes</u>	Salinen
Javanica	<u>javanica</u>	Veldrat bataviae 46
Autumnalis	<u>autumnalis</u>	Akiyami A
Cynopteri	<u>butembo</u>	Butembo
Andamana	<u>andamana</u>	C H 11
Shermani	<u>shermani</u>	L T 821
Celledoni	<u>whitcombi</u>	Whitcomb

ceberam, no decorrer de todo experimento, alimentação baseada em ração comercial ^{*}, sardinha cozida, leite fervido e água "ad libitum", potável e tratada.

Antes de serem incluídos no experimento, os gatos foram submetidos a exame clínico, complementado por exames laboratoriais de urina (ARAUJO, 1971)³, eritrograma e leucograma (BIRGEL, 1971)⁶, adotando-se, como parâmetros normais para quadro hemático, aqueles determinados por LARSSON e col. (1975)⁵⁴; realizaram-se, ainda, exames coproparasitológicos em todos os animais, medicando-se com Mebendazole, na dose de 40 mg/kg/dia, durante 4 dias, aqueles infestados por helmintos. Durante 7 dias avaliou-se, sempre no mesmo horário, a temperatura dos gatos a fim de se construir a curva térmica normal para cada animal; ao fim deste período, constatou-se que, genericamente, a temperatura interna oscilou entre 37,7 a 39,3°C.

Os animais previamente triados pelos exames clínico-laboratoriais foram então sangrados, e o sangue colhido foi, em parte, destinado à hemocultura em meio de Fletcher e o restante, à obtenção de soro, o qual posteriormente foi submetido à reação de soroaglutinação microscópica segundo a técnica anteriormente descrita, utilizando-se como antígeno os 18 sorotipos representativos de 17 sorogrupos de L. interrogans (QUADRO Nº 1).

Os 11 animais, considerados sadios (dentro da margem de segurança permitida pelo exame clínico), sem alterações nos exames hematológicos e de urina, isentos de parasitos, não leptospirêmicos e soronegativos para Leptospirose, foram então mantidos no canil, por um período mínimo de 45 dias e máximo de 120 dias, antes da inoculação com L. interrogans. No decorrer deste interregno receberam, com intervalo de 15 dias, 2 doses de vacina contra Panleucopenia ^{**}.

(*) Ração Bonzo, gentilmente cedida pelo Serviço Médico Cirúrgico e Hospitalar da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP e pela PURINA - Alimentos do Brasil Ltda.

(**) LEUKOID TC da SALSBUURY LABORATORIES LTDA., gentilmente cedidas pelo Dr. Ruy Jacob Galletti.

Uma semana antes da inoculação, foram novamente sangrados, confirmando-se, pela SAM, a ausência de anticorpos antileptospira, bem como a inexistência de alterações no exame hematológico.

2.2.2. Realização de hemo e urocultura.

Durante a seleção dos animais e após a inoculação, procedeu-se, no 4º, 7º e 10º dias e, a seguir, semanalmente, mediante prévia anestesia, a colheitas de sangue através de punção da veia jugular. Semeou-se uma gota de sangue de cada animal em tubo contendo meio de Fletcher, o qual foi incubado em estufa à 28°C e submetido à leitura semanal em microscopia de campo escuro, de forma semelhante ao já descrito anteriormente (item 2.1.1.2.).

Os animais, anestesiados e mantidos em decúbito lateral, foram submetidos a cistocentese, com agulha 30 x 8 montada em seringa de 10 ml. A urina assim obtida foi semeada em meio de Fletcher, colocando-se 10 gotas de urina pura no tubo 1, 10 gotas de urina diluída em solução salina fisiológica a 1:10 e 1:100, nos tubos 2 e 3, respectivamente. As uroculturas foram realizadas no 4º, 7º e 10º dias após a inoculação e a seguir, semanalmente. As avaliações das culturas de urina foram feitas semanalmente, por um período mínimo de 4 semanas, conforme técnica já descrita.

2.2.3. Preparo do inóculo.

As amostras dos sorotipos icterohaemorrhagiae e canicola utilizadas para a inoculação dos animais provieram do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo*. As cepas haviam sido recentemente isoladas (YASUDA, 1979)¹⁰⁸, respectivamente, de rim de rato de esgoto (cepa R-192) e de rim de cão errante (cepa CCZ-8). O preparo do inóculo obedeceu o seguinte critério: 0,5 ml de culturas de 21 dias das citadas ce

(*) Coleção mantida pelo Prof. Dr. Paulo H. Yasuda.

pas, em meio semi-sólido de Fletcher, foram inicialmente inoculados em cobaias jovens, por via intraperitoneal, re-isolando-se, 8 dias após, as leptospiros da urina, no caso da amostra do sorotipo icterohaemorrhagiae, e reisolando-se o espiroqueta do sorotipo canicola, a partir do sangue, no 6º dia após a inoculação. A seguir, obedecendo-se o mesmo critério técnico, reinocularam-se outras cobaias e após a 2ª passagem para o sorotipo icterohaemorrhagiae e a 3ª passagem para a amostra do sorotipo canicola, cultivaram-se as leptospiros durante 6 dias, em meio líquido de EMJH (Difco)³¹ enriquecido com 10% de soro de coelho, o qual foi utilizado como inóculo para os gatos.

2.2.4. Inoculação dos animais e acompanhamento clínico-laboratorial

Os gatos foram dispostos de forma aleatória em 2 grupos de 5 animais. O primeiro deles (Grupo I), composto pelos felinos identificados como F 303, F 309, F 312, F 316 e F 320 (3 machos e 2 fêmeas) e o segundo grupo (Grupo II), com os gatos de nºs. F 304, F 311, F 315, F 317 e F 319 (2 machos e 3 fêmeas). O gato F 301 foi, por sorteio, deixado como animal controle.

Novamente por sorteio, coube ao Grupo I a inoculação com a amostra do sorotipo icterohaemorrhagiae (cepa R-192) e ao Grupo II o inóculo do sorotipo canicola (cepa CCZ-8). Cada um dos animais de ambos os grupos recebeu, por via subcutânea, 2 ml do inóculo, contendo aproximadamente $2 \cdot 10^9$ leptospiros.

A contar do 4º dia, repetindo-se no 7º, 10º, 14º dia e, a seguir, semanalmente, durante 56 dias após a inoculação, realizou-se colheita de sangue dos gatos dos dois grupos, para eritro e leucograma, hemocultura e sorologia, incluindo-se o animal testemunho (F 301), segundo as técnicas já descritas em itens anteriores.

Nos mesmos dias retro mencionados, pós-inoculação, coletou-se, mediante cistocentese, urina dos animais que,

no momento da colheita, estivessem com a bexiga plena. Em cada colheita, obteve-se êxito na cistocentese em pelo menos 3 animais, dentre os 11 utilizados no experimento. A urina assim obtida foi semeada em meio de Fletcher e tais uroculturas foram examinadas, semanalmente, por um período mínimo de 4 semanas, segundo técnica já comentada.

Os gatos F 315 e F 317 foram observados clinicamente e submetidos à colheita de sangue (para exames sorológico e bacteriológico), e de urina (para avaliação laboratorial e também bacteriológica) por um período maior, ou seja, respectivamente de 77 e 84 dias.

A partir do 1º dia pós-inoculação e, consecutivamente, por 14 dias, os animais de ambos os grupos, inclusive o gato controle (F 301), foram examinados clinicamente quanto às suas funções vitais, com estabelecimento de nova curva térmica, na tentativa de se observar qualquer alteração do estado de higidez. A seguir, quando das colheitas de amostras de sangue e de urina, realizadas semanalmente, a partir do 21º dia, os animais foram submetidos a exame clínico minucioso.

No 56º dia, os animais dos grupos I e II e o gato controle, excetuando-se aqueles identificados como F 315 e F 317, foram submetidos, após anestesia com cloridrato de ketamina, à coleta de sangue e urina, pesados e, a seguir, sacrificados por eletrocussão. Os gatos restantes, F 315 e F 317, foram sacrificados, respectivamente, nos 77º e 84º dias após a inoculação.

Os rins dos 11 animais utilizados mereceram uma metodologia especial, tendo sido retirados encapsulados, com os devidos cuidados de assepsia, sendo deles retirados fragmentos que foram semeados em 4 tubos com meio semi-sólido de Fletcher. Fixou-se o restante do material em formol à 10% para posterior inclusão em parafina e impregnação pela prata, e subsequente exame histológico, de acordo com as técnicas já descritas.(item 2.1.1.2.).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

As migrações internas, do meio rural para as cidades, acabam por levar a um crescimento acelerado dos centros urbanos, com a consequente valorização das áreas citadinas, o que acarreta, em última análise, uma redução na área domiciliar. Destarte, a população urbana, em sua maior parte proveniente do campo, habituada ao convívio com animais, procura manter à sua volta animais de pequeno porte, de companhia ou de guarda, mais adequados às reduzidas áreas de lazer disponíveis. Como desvantagem dessa relação homem-animal, devemos considerar a ocorrência de determinadas antropozoonoses, como as leptospiroses, a toxoplasmose e a raiva urbana.

Entre as zoonoses disseminadas pelos carnívoros domésticos, a leptospirose vem há muito preocupando os profissionais que militam no campo da Saúde Pública, principalmente - nos países desenvolvidos. Em alguns destes países, tem havido uma preocupação em se determinar o papel desempenhado pelo gato na epidemiologia da leptospirose. Pelo instinto inato destes espécimes de caçarem animais sabidamente ou potencialmente portadores de Leptospira interrogans, os felinos teriam maiores chances, ao menos do ponto de vista teórico, de se infectarem e, conseqüentemente, de disseminarem esta espiroquetose.

Reportando-se aos levantamentos realizados, tanto através de reações sorológicas (TABELAS Nº 4 e Nº 5) como por meio de tentativas de isolamento do agente a partir de gatos sadios ou doentes (TABELAS Nº 2 e Nº 3), pode-se afirmar, com base na bibliografia compilada, que, em muitas regiões, ainda faltam dados epidemiológicos definitivos, pois, na maioria dos trabalhos publicados, muitos dos pesquisadores não se preocuparam em assinalar e considerar variáveis como sexo, idade, distribuição sazonal das amostras e origem dos animais.

3.1. Ocorrência de leptospirose felina.

3.1.1. Sorologia.

Conforme se visualiza nas TABELAS Nº 6, 7 e 8 referentes aos 172 soros de gatos nos quais se pesquisou a presença de anticorpos antileptospira frente a 18 antígenos, pela reação de soroaglutinação microscópica, obteve-se 22 soros reagentes (12,8%) a um ou mais sorotipos.

TABELA Nº 6 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo o sexo.

Resultados Sexo	Positivos		Negativos		Total
	Nº	%	Nº	%	
Macho	10	12,5	70	87,5	80
Fêmea	12	13,0	80	87,0	92
Total	22	12,8	150	87,2	172

TABELA Nº 7 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo o grupo etário.

Resultados Grupo etário	Positivos		Negativos		Total
	Nº	%	Nº	%	
Adultos	20	17,0	98	83,0	118
Jovens	2	3,7	52	96,3	54
Total	22	12,8	150	87,2	172

TABELA Nº 8 - Frequência de leptospirose (Nº e %) em gatos, pela reação de soroaglutinação microscópica (título ≥ 100), com diferentes antígenos, segundo o sorogrupo utilizado.

Resultado Sorogrupo	Sororeagentes *	
	Nº	%
Icterohaemorrhagiae	8	4,6
Canicola	3	1,7
Pomona	13	7,6
Grippotyphosa	3	1,7
Bataviae	-	-
Australis	-	-
Javanica	-	-
Ballum	1	0,6
Pyrogenes	-	-
Autumnalis	3	1,7
Hebdomadis	-	-
Tarassovi	-	-
Panama	-	-
Andamana	-	-
Celledoni	-	-
Shermani	-	-
Cynopteri	-	-

* Incluindo-se os soros coaglutinantes.

- Valor numérico nulo.

Quanto à ocorrência de leptospirose felina nas Américas Central e do Sul, encontramos, na bibliografia consultada, apenas os trabalhos de HERRER e col. (1958)⁴⁷, no Perú, e o de SANTA ROSA e col. (1976)⁸², no Brasil. A soropositividade dos gatos considerados no presente levantamento, da ordem de 12,8%, é semelhante àquela detectada pelos autores patrícios⁸², ou seja, 14,5% de sororeagentes e maior à determinada pelos autores peruanos⁴⁷, de 2,9% de animais positivos.

Ao se comparar a frequência (12,8%) de felinos soropositivos à L. interrogans, com os resultados oriundos de outras regiões do mundo, constata-se que o citado percentual de soropositividade é semelhante àqueles determinados no trabalho de VARELA & ZAVALA (1961)¹⁰¹, realizado no México, no qual se encontrou 9% de positividade dentre 500 soros examinados, e aos de GORDON-SMITH e col. (1961)⁴¹, e EVERARD e col. (1979)³⁶ que obtiveram, respectivamente, 10,0% e 12,5% de sororeagentes entre os felinos examinados, na Malásia e na Ilha de Trinidad.

A frequência de leptospirose-infecção na população felina estudada é comparativamente menor às determinadas, na Indonésia, por ESSEVELD & COLLIER (1938)³⁴ e ESSEVELD e col., (1940)³⁵, da ordem de, respectivamente, 17,3 e 20,9%; também o é quanto aos 40,9% detectados por DJANKOV (1963)³² na Bulgária, aos 18,2% encontrados na Áustria por ŠEBEK e col. (1976)⁸⁸ e aos 21,4% de soropositividade detectados por MODRIC (1978)⁶⁸, na Iugoslávia.

Todavia, deve-se ressaltar que praticamente em todos os 25 trabalhos compilados da literatura referente à leptospirose felina (TABELAS Nº 4 e Nº 5), os autores não puderam ou não se preocuparam em utilizar um número razoável de antígenos e de soros animais, além de existir grande variabilidade no título inicial considerado.

Ao se fazer uma comparação de ocorrência da leptospirose felina obtida no presente trabalho com aquelas determinadas no Brasil para soros de outro carnívoro (especificamen-

te o cão), observa-se não haver diferença significativa entre os percentuais de soropositividade, apesar dos resultados obtidos nos felinos serem ligeiramente superiores àqueles determinados em cães por VERONESI e col., (1956)¹⁰³; HAGIWARA (1974)⁴⁴; SANTA ROSA e col. (1974)⁷⁸, que oscilaram entre 5,9 e 9,6%.

Os resultados obtidos e dispostos na TABELA Nº 6, permitem afirmar que inexistem diferenças de ocorrência atribuíveis ao sexo dos felinos investigados, pois entre os 22 felinos sororeagentes, 10 (12,5%) eram machos e 12 (13%) fêmeas. Realmente, esta diferença se revelou não ser estatisticamente significativa, quando da aplicação do teste de hipótese com α igual a 0,05. Estes resultados são concordantes com os relatados em recente investigação sorológica da zoonose, realizada por YASUDA (1979)¹⁰⁸, em cães da Grande São Paulo.

Ao se avaliar a influência etária na ocorrência de leptospirose em felinos, observou-se que, dos 22 reagentes à prova de soroaglutinação microscópica, 20 (17%) animais eram adultos e apenas 2 (3,7%) eram jovens (TABELA Nº 7 e Nº 9). Ademais, a análise estatística comparativa dos resultados entre animais soropositivos de diferentes grupos etários, ao nível de $\alpha = 0,05$ revelou-se estatisticamente significativa.

Na bibliografia compulsada, principalmente aquela relacionada à leptospirose felina descrita em investigações epidemiológicas, verifica-se que apenas com raras exceções os autores consideraram a variável idade. A detecção de um maior número de infectados entre os animais do grupo etário dos adultos, aqui determinada, concorda com os resultados obtidos por ESSEVELD e col. (1940)³⁵, que relataram o isolamento de 13 cepas de L. interrogans a partir de 233 culturas de rins de gatos adultos e de nenhuma em 116 culturas de rins de felinos novos. Da mesma forma, é concordante com os resultados descritos, em 1979, por SHOPHET⁹⁰, que obteve um maior número de animais soropositivos dentre gatos com idade variando entre 18 meses a 13 anos.

TABELA Nº 9 - Positividade à reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), a diferentes sorotipos de L. interrogans, segundo sexo e grupo etário, nos 22 gatos sororeagentes.

Nº do soro	Grupo etário *	Sexo	Sorotipo(s) (título **)
002	A	M	<u>icterohaemorrhagiae</u> (400) <u>pomona</u> (100)
005	A	M	<u>icterohaemorrhagiae</u> (100)
007	A	F	<u>icterohaemorrhagiae</u> (200)
018	J	M	<u>pomona</u> (100)
026	A	F	<u>castellonis</u> (400) <u>canicola</u> (1600)
031	A	F	<u>autumnalis</u> (200) <u>grippytyphosa</u> (400)
033	A	M	<u>autumnalis</u> (100)
041	A	F	<u>grippytyphosa</u> (400)
079	A	F	<u>pomona</u> (200)
081	A	M	<u>icterohaemorrhagiae</u> (200) <u>canicola</u> (800)
082	A	F	<u>icterohaemorrhagiae</u> (400) <u>pomona</u> (400)
083	A	F	<u>icterohaemorrhagiae</u> (200) <u>pomona</u> (200)
092	A	M	<u>pomona</u> (400) <u>grippytyphosa</u> (200)
100	A	M	<u>pomona</u> (3200) <u>autumnalis</u> (800)
110	A	F	<u>pomona</u> (100)
114	A	M	<u>pomona</u> (200)
115	A	F	<u>canicola</u> (100) <u>icterohaemorrhagiae</u> (100)
124	A	F	<u>pomona</u> (100)
129	J	M	<u>icterohaemorrhagiae</u> (100)
130	A	F	<u>pomona</u> (100)
141	A	M	<u>pomona</u> (200)
144	A	F	<u>pomona</u> (400)

* Grupo etário.

A - adultos

J - jovens

** Título - recíproca da diluição

No presente levantamento nada se pôde inferir quanto ao efeito da sazonalidade sobre a ocorrência de leptopirose felina, devido à dificuldade de obtenção de gatos que pudessem ter se infectado ao longo dos diferentes meses das estações secas ou chuvosas; conseqüentemente, não foi possível a comparação e confirmação de fatos constantes de alguns trabalhos, que afirmam estar a frequência das leptospiroses humanas e animais estreitamente ligadas à sazonalidade (CORREIA e col., 1976²⁶; YASUDA, 1979¹⁰⁸).

TABELA Nº 10 - Frequência de positividade (Nº e %) de soros de gatos, a um único sorotipo de L. interrogans, pela reação de soroaglutinação microscópica (título > 100), segundo o sorotipo infectante.

Sorotipo	Soros positivos	
	Nº	%
<u>pomona</u>	8	61,5
<u>icterohaemorrhagiae</u>	3	23,1
<u>autumnalis</u>	1	7,7
<u>grippotyphosa</u>	1	7,7
Total	13	100,0

Dos 22 gatos soropositivos para a leptospirose, 13 (ou seja, 59,0%) animais apresentaram aglutinação para um único sorotipo, enquanto que os demais 9 soros (41,0%) coaglutinaram dois sorotipos (TABELA Nº 9). Daqueles soros que aglutinaram um único sorotipo, e que estão apresentados na TABELA Nº 10, em frequência numérica e percentual, verificou-se a seguinte distribuição: 8 (61,5%) aglutinaram com o sorotipo pomona, 3 (23,1%) com icterohaemorrhagiae, 1 (7,7%) com autumnalis e 1 (7,7%) com grippotyphosa.

Conforme o disposto na TABELA Nº 9, observou-se em 9 soros de felinos o fenômeno da coaglutinação. Este fenômeno, de ocorrência tanto em soros animais como em soros humanos (YASUDA, 1979¹⁰⁸), é devido à existência de estreita relação antígenica entre 2 ou mais sorotipos de leptospiras e à existência de coaglutininas de um mesmo grupo ou de grupos diferentes no soro suspeito. Em 3 dos soros coaglutinantes observaram-se títulos máximos e iguais; consequentemente, os demais 6 soros apresentaram títulos máximos, mas não coincidentes, para os sorotipos a que reagiram. Adotando-se, para o presente trabalho, a proposição de Badudieri (1960) citado por YASUDA (1979)¹⁰⁸, considerou-se como sorotipo infectante, nos casos de coaglutinação, aquele sorotipo correspondente ao soro em que se obteve o maior título.

A absorção das aglutininas seria o procedimento mais indicado para a elucidação final do sorotipo infectante, quando da existência de soros positivos a 2 sorotipos com o mesmo título de anticorpos. Todavia, devido à inexistência de condições para a realização de tal metodologia, optou-se pela não consideração destes 3 soros nos demais dados tabulados, que são apresentados e discutidos a seguir. Consequentemente, dos 22 soros que apresentaram anticorpos aglutinantes antileptospiras, apenas 19 tiveram o sorotipo infectante determinado, tal como disposto na TABELA Nº 11.

TABELA Nº 11 - Frequência (Nº e %) de soros de gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo o sorotipo infectante, excetuando-se os soros coaglutinantes com título máximo igual.

Sorotipo	Soros positivos	
	Nº	%
<u>pomona</u>	10	52,7
<u>icterohaemorrhagiae</u>	4	21,0
<u>canicola</u>	2	10,5
<u>grippotyphosa</u>	2	10,5
<u>autumnalis</u>	1	5,3
Total	19	100,0

GRÁFICO Nº 1 - Frequência (%) de soros de 19 gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título > 100), segundo o sorotipo infectante.

GRÁFICO Nº 2 - Frequência (Nº) de títulos de anticorpos antileptospira em 19 soros de gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título > 100), segundo o sorotipo infectante.

TABELA Nº 12 - Frequência dos sorotipos (Nº) em soros de gatos positivos à reação de soroaglutinação microscópica (título $\geq$ 100), segundo a distribuição da magnitude dos títulos de aglutininas, excetuando-se os soros coagulantes com título máximo igual.

Sorotipo	Título *						Total
	100	200	400	800	1600	3200	
<u>pomona</u>	4	3	2	-	-	1	10
<u>icterohaemorrhagiae</u>	2	1	1	-	-	-	4
<u>canicola</u>	-	-	-	1	1	-	2
<u>grippytyphosa</u>	-	-	2	-	-	-	2
<u>autumnalis</u>	1	-	-	-	-	-	1
Total	7	4	5	1	1	1	19

* Título - recíproca da diluição

- Valor numérico nulo

Na TABELA Nº 12 e no GRÁFICO Nº 2, encontram-se dispostos os resultados dos 19 animais sororeagentes aos diferentes sorotipos, com seus respectivos títulos, iguais ou maiores a 100, podendo-se destacar, ainda, que em 16 (84,2%) soros, os títulos estavam distribuídos entre as diluições 1:100 e 1:400.

Em ordem decrescente de frequência de soropositividade aos antígenos empregados, obteve-se a seguinte distribuição (disposta na TABELA Nº 11 e GRÁFICO Nº 1): pomona com 10 soros (52,7%) reagentes, icterohaemorrhagiae com 4 soros (21,0%) positivos, canicola e grippytyphosa com 2 (10,5%) soros reagentes para cada sorotipo e autumnalis com 1 (5,3%) soro positivo.

Por meio da SAM, diagnosticaram-se anticorpos antileptospira do sorotipo pomona em 7,6% dos 172 soros de fe

linos examinados (TABELA Nº 8), atribuindo-se a este sorotipo 52,7% das infecções leptospiróticas detectadas, ou seja, 10 amostras soropositivas dentre os 19 sororeagentes diagnosticados na presente pesquisa (TABELA Nº 11). Em termos de levantamento de ocorrência de leptospirose felina compilados da literatura, o percentual de 7,6% frente ao sorotipo pomona é menor apenas que aquele citado por DJANKOV (1963)³², na Bulgária, onde se detectaram 7 amostras séricas positivas dentre 44 examinadas, representando 15,9% de positividade.

Entre os trabalhos em que se determinou a frequência do sorotipo infectante frente aos soros positivos, o único percentual relativamente próximo daquele (52,7%) aqui obtido (TABELA Nº 11, GRÁFICO Nº 1) foi novamente o de DJANKOV(1963)³² que obteve 39% de positividade para pomona.

Os resultados da soropositividade dos gatos aqui investigados, segundo a magnitude dos títulos e o sorotipo infectante (TABELA Nº 12 e GRÁFICO Nº 2), indicam que o sorotipo pomona, além de ser o mais frequente na amostragem considerada, foi o que se apresentou com o título mais elevado (3.200) dentre os 19 soros felinos reagentes à soroaglutinação microscópica.

O sorotipo pomona foi isolado a partir de rim de gato, segundo o LEPTOSPIRAL SEROTYPE DISTRIBUTION LISTS^{55,56}, na Malásia (GORDON-SMITH e col. 1961)⁴¹, na Argentina (Szyfres & Blood, 1964 citados em⁵⁵) e também na Nova Zelândia (HARKNESS e col., 1970⁴⁵). Na bibliografia compilada, constata-se o relato de isolamento de cepas do sorogrupo Pomona em gatos, nos trabalhos de REES (1964)⁷², na Nova Zelândia, e de MASON e col., (1972)⁶², na Austrália, ambos realizados a partir de animais clinicamente suspeitos (TABELA Nº 3).

A infectividade das leptospiros do sorotipo pomona nos espécimes felinos foi comprovada, experimentalmente, e descrita nos trabalhos de FESSLER & MORTER, 1964³⁹; MODRIC, 1974⁶⁷; FERRIS & ANDREWS, 1965³⁸. Todavia, SHOPHET (1979)⁹⁰ afirma que a magnitude dos títulos observados nessas inoculações

experimentais é menor que aquela observada na maioria dos gatos naturalmente infectados.

Apesar do sorotipo pomona já ter sido isolado - e/ou diagnosticado sorologicamente no Brasil em inúmeras espécies animais, por diferentes autores^{12, 33, 44, 75, 78, 80, 81, 85, 107} não foi ainda isolado de felinos.

A leptospirose humana pelo sorotipo em foco, em brasileiros, somente foi diagnosticada sorologicamente (CORREIA, 1975²¹; CASTRO e col., 1966¹⁴). Apesar de não ter sido ainda isolado na população deste país, este sorotipo tem sido diagnosticado com frequência. CORREIA e col. (1976)²⁶ assinalaram, pela SAM, a ocorrência do sorotipo pomona nos casos de leptospiroses humanas diagnosticados nas epidemias de 1966 e 1970, no Recife (PE).

Na Argentina, CACCHIONE (1973)⁹ afirmou ser o sorotipo pomona o mais frequentemente diagnosticado tanto em epidemias como em epizootias verificadas no rebanho bovino e equino.

Nos Estados Unidos da América do Norte, segundo dados do CENTER FOR DISEASE CONTROL (1976)¹⁸, em 20 surtos epidêmicos ocorridos entre os anos de 1939 e 1974, o sorogrupo Pomona foi aquele diagnosticado com maior constância. O relatório destaca, ainda, que no período compreendido entre 1965 e 1968, este sorotipo foi o terceiro dentre aqueles responsáveis pelas infecções leptospiróticas humanas. Por estes fatos, é forçoso ressaltar-se que a infecção felina por Pomona tem representatividade, quando encarada tanto do ponto de vista da Saúde Pública como da Veterinária.

O sorotipo icterohaemorrhagiae foi diagnosticado sorologicamente, pela SAM, em 8 dos 172 soros examinados (TABELA Nº 8) representando 4,6% de positividade. Este resultado, quando comparado com aqueles constantes da bibliografia revisada, mostra-se menor apenas que aquele relatado em 1961 no México, por VARELA & ZAVALA¹⁰¹, da ordem de 7,6%, ou seja, 38 soros

positivos dentre 500 amostras submetidas à SAM. A frequência de leptospirose pelo sorotipo icterohaemorrhagiae obtida na presente pesquisa, foi substancialmente maior que aquela observada pelos autores conterrâneos (SANTA ROSA e col., 1976⁸²), que obtiveram 2% de positividade dentre 200 soros felinos examinados, e ainda maior que a frequência relacionada nos demais trabalhos publicados nos diferentes continentes e dispostos nas TABELAS Nº 4 e Nº 5, que oscilam entre 0,6 e 2,5%.

Em decorrência do instinto de caça dos felídeos, tendo como presas, principalmente os roedores, reservatórios universais da L. interrogans sorotipo icterohaemorrhagiae, sempre se pressupõe que estes carnívoros tivessem uma alta taxa de infecção por este sorotipo.

No Brasil, a frequência de infecção por icterohaemorrhagiae em roedores de hábitos peri-domiciliares (TABELA Nº 1), verificada pelo isolamento do agente, oscila entre 5,8 e 78,0%. Este sorotipo tem sido isolado de várias espécies de animais silvestres e domésticos, tanto daquelas destinadas ao consumo humano ou ao esporte e à tração, como daquelas representadas pelos animais de companhia ou de guarda^{15, 13, 79, 108}.

No Brasil, considerando trabalhos recentes, entre os carnívoros, especificamente os cães, YASUDA (1979)¹⁰⁸ comprovou através sorologia e isolamento, que o sorotipo em discussão é o segundo agente causal da leptospirose canina em São Paulo.

Segundo CACCHIONE (1973)⁹, tem sido isolado no homem, com frequência, o sorotipo icterohaemorrhagiae, relatando este autor a ocorrência de vários surtos epidêmicos no Brasil, como os do Rio Grande do Sul em 1941, do Paraná em 1946, da Bahia em 1964 e os de Pernambuco nos anos de 1966 e 1970. Um autor paulista (CORREIA, 1975²¹), trabalhando com 18.233 amostras séricas humanas, obteve 2.237 soros positivos (12,3%), dos quais - (86,5%) o foram frente ao sorotipo icterohaemorrhagiae. Nos EUA, segundos dados do CENTER FOR DISEASE CONTROL (1976)¹⁸, nos períodos de 1905 a 1946, 1949 a 1961 e 1965 a 1974, o sorotipo em tela foi responsável por, respectivamente, 90, 40 e 20% dos ca

sos de infecção diagnosticados em seus habitantes. Apesar destes fatos, em toda a bibliografia nacional e internacional compulsada não se localizou nenhuma referência de isolamento e/ou demonstração de icterohaemorrhagiae em felídeos.

Pela ordem decrescente de frequência de soropositividade dentre os 19 gatos sororeagentes a um único sorotipo, alinham-se com a mesma percentagem (10,5%) os sorotipos canicola e grippytyphosa (TABELA Nº 11, GRÁFICO Nº 1).

O percentual de positividade ao sorotipo canicola (1,7%), considerando-se os 3 animais sororeagentes (TABELA Nº 8) relativamente aos 172 soros examinados, manifestou-se maior que aquele relatado, também no Brasil, por SANTA ROSA e col., (1976)⁸², da ordem de 0,5%. No presente trabalho, 2 dos animais sororeagentes (TABELA Nº 12, GRÁFICO Nº 2) apresentaram títulos relativamente elevados de aglutininas antileptospiras ao sorotipo em foco, respectivamente, de 800 e 1600.

Através da SAM, o sorotipo canicola tem sido detectado num percentual oscilando entre 0,4 e 5,0% dos soros de gatos examinados, nos diferentes continentes (TABELA Nº 4 e Nº 5). O primeiro e único isolamento, em gatos, do sorotipo canicola, mencionado na bibliografia atinente à leptospirose, em termos mundiais, é aquele de HERRER e col. (1958)⁴⁷, realizado no Perú. Todavia, este sorotipo tem sido isolado, com certa frequência, de fragmentos de parênquima renal de outro carnívoro doméstico, o cão. YASUDA (1979)¹⁰⁸ obteve êxito no isolamento deste sorotipo, em 32 das 35 cêpas de L. interrogans obtidas por cultivo de rim de cães errantes de São Paulo, caracterizando uma boa adaptação do sorotipo em rins de carnívoros com hábitos alimentares semelhantes aos do gato.

Os resultados de soropositividade frente ao sorotipo grippytyphosa obtidos no presente trabalho, da ordem de 1,7% de sororeagentes, ou seja, 3 em 172 soros felinos examinados (TABELA Nº 8), é semelhante aos citados por WATSON & WANNAM (1973)¹⁰⁴, na Austrália, e por SANTA ROSA e col. (1976)⁸², no Brasil, respectivamente, de 1,0 e 1,5%. A maior frequência de

leptospirose infecção, em felinos domésticos, é a citada por ŠEBEK e col. (1976)⁸⁸ no Tirol austríaco, onde 6,8% dos gatos examinados apresentavam aglutininas antileptospiras, do sorotipo grippotyphosa.

O sorotipo em foco tem sido diagnosticado no Brasil com muita frequência, tanto através sorologia como por isolamento. SANTA ROSA (1970)⁷⁴, em São Paulo, obteve êxito no isolamento de 27 cepas (3%) de L.interrogans a partir de culturas de rim ou de urina de animais silvestres, destas, 21 cepas foram de grippotyphosa, ou seja, 77,7% do total de amostras isoladas.

Em toda a bibliografia nacional e internacional sobre o assunto, encontra-se menção ao isolamento de apenas 2 cepas de grippotyphosa em gatos, nas Filipinas, a partir de hemocultura¹¹ e de urocultura¹⁰ em felinos com sugestivos sintomas clínicos de leptospirose. No Estado de São Paulo, em 1974, HAGIWARA⁴⁴, trabalhando com soros de cães, relata, pela primeira vez, a ocorrência de sororeagentes ao sorotipo em tela, fato confirmado, em 1979, por YASUDA¹⁰⁸, que detectou 7,8% de positividade em canídeos, afirmando ocupar este sorotipo o 3º lugar em ordem decrescente de frequência dos que acometem estes espécimes.

Ainda no Brasil, tem-se diagnosticado, sorologicamente, animais reagentes ao sorotipo grippotyphosa em inúmeras espécies, tais como bovinos⁸⁵, suínos¹², ovinos e caprinos⁷⁵ e equinos⁸¹. Em inquéritos sorológicos realizados em vários estados brasileiros, têm-se diagnosticado soropositividade à grippotyphosa em humanos de diferentes profissões (SANTA ROSA e col., 1969⁸⁶, 1970⁸⁷; LIMA E SANTA ROSA, 1974⁵⁸; SANTA ROSA e col., 1980⁸⁴).

Finalmente, em relação ao percentual de positividade aqui detectado, ou seja, a ocorrência de 3 sororeagentes (1,7%) ao sorotipo autumnalis (TABELA Nº 8), deve-se destacar que, na bibliografia compilada tal fato somente havia sido observado por SANTA ROSA e col. (1976)⁸², em investigações sorológicas.

lógica realizada em São Paulo, num percentual praticamente igual (1,5%, ou seja, 3 gatos em 200 animais examinados). Encontramos ainda, na literatura sobre o assunto, relato de soropositividade frente ao sorotipo em apreço feito por MURPHY e col. (1958)⁷⁰, nos EUA, que obtiveram 4,5% de amostras positivas (16 soros) a este antígeno dentre 350 soros examinados, pela SAM. No Brasil, o diagnóstico sorológico de infecção leptospirótica pelo sorotipo autumnalis, já havia sido realizado em soros de cães de São Paulo (YASUDA, 1979¹⁰⁸) e em soros humanos de população do Amazonas (SANTA ROSA e col., 1980⁸⁴).

3.1.2. Isolamento e demonstração de *L. interrogans* em felinos.

Relativamente às nefroculturas realizadas com fragmentos de parênquima renal dos 172 felinos sacrificados, em nenhuma delas se obteve êxito no isolamento de Leptospira interrogans, pelo cultivo em meio de Fletcher. Da mesma forma, não foram encontradas leptospiros em nenhum dos cortes histológicos dos 22 pares de rins, provenientes dos felinos sororeagentes, submetidos à impregnação pelo nitrato de prata, através da técnica de Whartin-Starry.

Comparando-se os dados conseguidos na presente pesquisa no que tange às tentativas de isolamento por nefroculturas, com aqueles inquiridos constantes da bibliografia referente ao assunto (TABELA Nº 2), observa-se que, em cerca de 1/3 das investigações realizadas, também não se isolou leptospiros e, nos 2/3 restantes, a frequência máxima, obtida por isolamento, foi da ordem de 3,7%. No único trabalho sul-americano existente, referente à tentativa de isolamento do agente a partir de rim de gatos clinicamente normais, obteve-se apenas uma nefrocultura positiva dentre as 34 amostras, semeadas em meios de Noguchi e de Vervoort (HERRER e col., 1958⁴⁷).

A maioria dos pesquisadores tem encontrado, através de reações sorológicas, percentuais de soropositividade mais

elevados do que os obtidos através de isolamento ou de demonstração do agente, em felinos domésticos. Na tentativa de explicação de resultados semelhantes obtidos em trabalho executado com bovinos, Roberts (1958), citado por YANAGUITA (1972)¹⁰⁷, afirma que as aglutininas antileptospiras permanecem na circulação sanguínea de 6 a 7 anos após a primo-infecção, enquanto que as leptospiras mantêm-se viáveis, nos túbulos renais dos animais domésticos, por semanas ou meses, fato que justificaria os resultados contrastantes aludidos.

A frequência relativamente elevada de leptospirose felina, determinada por meios sorológicos, em animais criados em contacto com a população, associada à ausência de gatos eliminando o agente através da urina, obtida por tentativa de isolamento ou demonstração do agente no parênquima renal, nos leva a pensar em catalogar os gatos domésticos como não eliminadores de leptospiras ou apenas como eliminadores ocasionais, segundo a classificação proposta em 1958, por BABUDIERI⁵.

3.2. Inoculação experimental de *Leptospira interrogans* em gatos.

A escolha dos sorotipos canicola e icterohaemorrhagiae como inóculo, respectivamente, para os gatos constituintes dos grupos 1 e 2 do presente trabalho, prendeu-se primordialmente, ao fato das cepas destes dois sorotipos terem sido recentemente isoladas na Grande São Paulo (SP)¹⁰⁸, bem como, porque ambos os sorotipos têm sido frequentemente diagnosticados, tanto sorologicamente como por isolamento, em levantamentos de ocorrência da antropozoonose nos animais e no homem^{15, 82, 83, 108, 21}, e em surtos epidêmicos e epizooticos de leptospirose no Brasil^{23, 64, 76, 79}.

Deparou-se, na literatura, com afirmações de alguns autores (VAN DER HOEDEN, 1958⁹⁸; MURPHY e col., 1958⁷⁰ e JONES, 1964⁵²) de que os gatos seriam resistentes à infecção pelos sorotipos icterohaemorrhagiae e canicola. Por nos causar - espécie, esta suposição também nos auxiliou nas ponderações relativas à escolha dos sorotipos infectantes.

3.2.1. Exames clínico - laboratoriais.

Através da termometria diária, realizada durante 2 semanas após a inoculação das cepas de Leptospira interrogans, detectou-se hipertermia em 3 animais do Grupo I, inoculados com o sorotipo icterohaemorrhagiae; todavia, este aumento de temperatura interna se manteve apenas por 24 horas e foi da ordem de 0,5°C (F 312), 0,6°C (F 303) e 0,9°C (F 309). Da tomada de temperatura interna dos gatos pertencentes ao Grupo 2, inoculados com o sorotipo canicola, observou-se um pico de hipertermia de 1°C no gato F 311, que se manteve por 24 horas. Em nenhum dos exames clínicos realizados pôde-se detectar qualquer outra alteração do estado de hígidez dos gatos infectados, que pudesse estar relacionado à inoculação com Leptospira interrogans.

O fato do maior número de animais hipertérmicos (40,0 a 40,9°C durante 24 horas) situar-se entre os inoculados com icterohaemorrhagiae, pode estar relacionado à patogenicidade e virulência exacerbada da cepa autóctone R-192, que tem sido observada e comprovada experimentalmente em inoculação de cobaias.*

A observação de hipertermia, demonstrada em 40% dos animais inoculados, permitiu constatar, realmente, a ocorrência da infecção nos gatos utilizados. A ausência ou a brevidade do aumento de temperatura interna em gatos infectados experimentalmente, confirma, de forma parcial, os fatos que já haviam sido relatados por outros autores, com cepas de sorotipos iguais (MODRIC, 1974⁶⁷) ou diferentes (FERRIS & ANDREWS, 1965³⁸; SHOPHET & MARSHALL, 1980⁹¹) daqueles utilizados neste experimento.

Analisando-se agora, de forma isolada, a infectividade de L. interrogans para os espécimes felinos, constatou-se que, contrariamente ao afirmado por VAN DER HOEDEN (1958)⁹⁸ e

* Informações pessoais - C.A. SANTA ROSA (VPS-FMVZ/USP) e P.H. YASUDA (ICB/USP).

JONES (1964)⁵², os gatos realmente se infectam com o espiroqueta e, ao invés de existir uma suposta resistência natural dos felinos à infecção, o que nos parece ocorrer, na realidade, é uma melhor adaptabilidade de determinados sorotipos ou cepas deste agente ao parênquima renal dos felídeos.

O fato de não se ter observado, em nenhum momento, qualquer sintoma clínico em quaisquer dos 10 animais utilizados, após sua inoculação com cepas sabidamente patogênicas, a não ser breve a discreta hipertermia, já havia sido constatado e descrito, após a inoculação de felinos com icterohaemorrhagiae (SEMEL, 1956⁸⁹; JONES, 1964⁵²; MODRIC, 1978⁶⁸), com canicola (SEMEL, 1956⁸⁹; JONES, 1964⁵²) e com ballum (FESSLER & MORTER, 1964³⁹; JONES, 1964⁵²; FERRIS & ANDREWS, 1965³⁸; MODRIC, 1978⁶⁸). Mesmo em condições naturais, são poucos os pesquisadores que relacionaram a ocorrência de sintomas clínicos que pudessem ser creditados à leptospirose-doença nestes espécimes (HEMSLEY, 1956⁴⁶; REES, 1964⁷²; CARLOS e col., 1970¹¹, 1971¹⁰; MASON e col., 1972⁶²).

Confirmando o estado de higidez em que se mantiveram todos os animais inoculados, pôde-se observar manutenção e mesmo aumento de peso corporal em todos eles, pois é sabido que felinos, quando acometidos por quadro mórbido, mormente infeccioso, manifestam, precocemente, anorexia e consequente perda de peso.

Visando melhor avaliar-se a evolução da infecção por Leptospira interrogans, realizaram-se de forma sistemática, durante todo o período de observação, eritro e leucograma, além de exame químico e morfológico qualitativo das amostras de urina coletadas; todavia, não se observaram alterações de nota no quadro hemático, bem como nos exames de urina realizados.

Classicamente, nas leptospiroses humanas e de caninos domésticos, as principais alterações do quadro hemático são: leucocitose, neutrofilia, com ou sem desvio à esquerda,

e anemia (SILVA, 1974⁹³; HAGIWARA, 1981^{*}). O exame de urina de monstra, com frequência, hipo ou isostenúria, proteinúria, bilirubinúria, urobilinogenúria, cilindrúria, leucocitúria e hematúria (SILVA, 1974⁹³; CHESTER, 1980¹⁹; HAGIWARA, 1981^{*}). O fato de não se detectar, neste experimento, alterações flagrantes e típicas no quadro hemático e renal que pudessem ser creditadas à infecção ou à doença leptospirótica, confirma os resultados obtidos por FESSLER & MORTER (1964)³⁹ após inoculação experimental de felinos com os sorotipos pomona e ballum. Fatos semelhantes levaram WHITEHEAD (1964)¹⁰⁵ a afirmar que as nefropatias de felinos não são diagnosticadas tão frequentemente como aquelas de cães, e ainda, considerar que as nefrites intersticiais agudas ou crônicas decorrentes de infecção por espiroquetídeos, do Gênero Leptospira, são pouco frequentes e de raro diagnóstico clínico.

No presente trabalho, não se observou o síndrome icterícia nos animais inoculados experimentalmente. Este síndrome é diagnosticado com muita frequência em humanos (SILVA, 1974⁹³) e em caninos acometidos de leptospirose. Mesmo em condições naturais, poucos são os trabalhos que relacionam, em felinos, leptospirose com a ocorrência de icterícia (REES, 1964⁷²; CARLOS e col., 1970¹¹; CARLOS, 1970¹⁰; MASON e col., 1972⁶²).

3.2.2. Exames microbiológicos e sorológicos.

Os resultados relativos às hemo e uroculturas realizadas, bem como às sorologias executadas pela reação de sorroaglutinação microscópica, encontram-se dispostos na TABELA Nº 13 .

* HAGIWARA, M. K. - Leptospiroses nos carnívoros domésticos: Terapia e Imunoprofilaxia. In: CURSO DE ATUALIZAÇÃO EM LEPTOSPIROSES - promovido pela Sociedade Paulista de Medicina Veterinária. São Paulo, 1981.

TABELA Nº13 - TÍTULOS AGLUTINANTES PELA REAÇÃO DE SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (TÍTULO ≥ 100), E RESULTADOS DAS HEMOCULTURAS E UROCULTURAS DE GATOS INOCULADOS COM LEPTOSPIRA INTERROGANS, SOROTIPOS ICTEROHAEMORRHAGIAE (R-192) E CANICOLA (CCZ-8), SEGUNDO O TEMPO DECORRIDO DA INOCULAÇÃO

TEMPO P.I. (1) (DIAS)	4	7	10	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
RESULTADO	TÍTULO (2) HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA	TÍTULO HEMOCULTURA UROCULTURA
ANIMAL (Nº)														
F 301 ⁽³⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F 303 ⁽⁴⁾	-	-	400	-	200	-	200	-	200	-	200	-	-	-
F 309 ⁽⁴⁾	-	-	800	-	1600	-	800	-	800	-	200	-	200	-
F 312 ⁽⁴⁾	-	-	200	-	400	-	400	-	400	-	400	-	400	-
F 316 ⁽⁴⁾	-	-	400	-	400	-	400	-	400	-	200	-	200	-
F 320 ⁽⁴⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F 304 ⁽⁵⁾	-	-	-	-	200	-	200	-	200	-	100	-	-	-
F 311 ⁽⁵⁾	-	-	800	-	800	-	800	-	1600	-	800	-	400	-
F 315 ⁽⁵⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	200	-	400	-	400	-
F 317 ⁽⁵⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	200	-	400	-	400	-
F 319 ⁽⁵⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	200	-	200	-

(1) P.I. - PÓS INOCULAÇÃO

(2) TÍTULO - RECÍPROCA DA DILUIÇÃO

(3) TESTEMUNHO

(4) ANIMAIS INOCULADOS COM L. INTERROGANS SOROTIPO ICTEROHAEMORRHAGIAE (R:192)

(5) ANIMAIS INOCULADOS COM L. INTERROGANS SOROTIPO CANICOLA (CCZ-8)

+ DADO POSITIVO

- VALOR NUMÉRICO NULO

... DADO INEXISTENTE

* SACRIFÍCIO DO ANIMAL

Como se vislumbra na TABELA Nº 13, não se observou crescimento de leptospira em nenhuma das hemoculturas realizadas com amostras de sangue colhidas dos felinos mantidos no presente experimento. Isto vem confirmar fato já observado por autores estrangeiros (JONES, 1964⁵²; MODRIC, 1974⁶⁷), e que talvez esteja relacionado a uma leptospiremia breve (FESSLER & MORTER, 1964³⁹; MICHNA, 1970⁶⁶; SHOPHET & MARSHALL, 1980⁹¹), em decorrência de aumento rápido do nível de aglutininas antileptospira, ou seja, uma leptospiremia com duração inferior a 96 horas. Cabe mencionar que no presente experimento, a primeira coleta de sangue realizada foi no 4º dia a contar da inoculação dos animais. Talvez havêssemos logrado êxito no isolamento do agente a partir de amostras sanguíneas, se essas tivessem sido realizadas diariamente e após as primeiras 12 ou 24 horas, a contar da inoculação.

A partir da primeira semana decorrida da infecção experimental e até o final do experimento (8 semanas), detectaram-se aglutininas antileptospiras (TABELA Nº 13) no soro de 4 dos 5 animais do Grupo I, ou seja, daqueles inoculados com icterohaemorrhagiae. Com exceção do gato F 320, todos os demais comportaram-se como sororeagentes frente ao antígeno icterohaemorrhagiae, no decorrer das 8 semanas de observação.

Nos 5 animais inoculados com o sorotipo canicola (Grupo 2), detectaram-se anticorpos antileptospira, já ao final da primeira semana a contar da data de inoculação. O animal F 311 apresentou no soro colhido no 7º dia, anticorpos aglutinantes na diluição de 1:800, tornando-se os demais felinos sororeagentes, a partir de 10 dias (F 304), 21 dias (F 319), 28 dias (F 315) e 42 dias (F 317). Com exceção da fêmea F 304, na qual, na 5ª semana após a inoculação, não mais se detectou soropositividade com título igual ou maior a 100, todos os demais felinos do grupo 2 permaneceram sororeagentes até o sacrifício, ocorrido entre a 8ª e 12ª semanas de observação.

Para uma melhor visualização da dinâmica dos títulos de anticorpos detectados em 9 animais inoculados, bem como da ocorrência de leptospirúria em 2 dos felinos do Grupo 2,

apresentamos estes resultados sob a forma de gráficos (GRÁFICOS Nºs. 3 a 11), individualmente para cada animal.

HAGIWARA (1979)⁴³ e DIESCH (1980)³⁰ consideram como requisitos básicos para a confirmação diagnóstica da leptospirose animal, sintomática ou assintomática, a soroconversão ou aumento gradativo do título de anticorpos em pares de amostras coletadas com intervalo de 7 a 14 dias. Em 9 dos 10 animais inoculados, detectou-se soroconversão, observada precocemente (ou seja, na primeira semana) em 4 dos gatos inoculados com a cepa R-192 (icterohaemorrhagiae). A soronegatividade de um único animal dentre aqueles inoculados pode ser creditada à resistência individual frente ao agente, ou à positividade em títulos menores que aqueles aqui considerados.

Relativamente aos animais inoculados com a cepa CCZ-8 (canicola), observou-se soroconversão em todos os animais entre a 1ª e 6ª semanas. A relativa demora da positividade frente à reação de aglutinação microscópica nos animais deste grupo, deve estar relacionada à menor infectividade e patogenicidade da cepa empregada.

Comparando-se a precocidade do surgimento de aglutininas detectáveis pela reação utilizada, com aquela descrita por outros autores que trabalharam com felinos, pôde-se observar, no ~~computo~~ geral, resultados semelhantes aos descritos por FESSLER & MORTER (1964)³⁹, isto é, título de anticorpos igual ou maior a 100 já no 7º dia após a inoculação. Nos demais trabalhos relativos à infecção experimental de gatos com diferentes sorotipos de L. interrogans, descreve-se o início da positividade entre 4 (MODRIC, 1974⁶⁷) e 14 dias (SHOPHET & MARSHALL, 1980⁹¹). De modo genérico, no presente experimento, a resposta imunológica dos gatos infectados pelos sorotipos icterohaemorrhagiae e canicola, no que tange à soroconversão, foi similar àquela observada em outros animais domésticos, tais como cães^{43, 65}, ovinos e caprinos³⁹ e suínos⁷¹.

GRÁFICO Nº 3 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 303, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo ictero haemorrhagiae (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação.

O felino F 303 apresentou no 7º dia após a inoculação título de 400; houve na coleta subsequente uma queda do nível de anticorpos para 200, título este que se manteve inalterado nas 7 semanas subsequentes. Em nenhuma das dez hemoculturas e nas uroculturas do 7º, 14º, 49º e 56º dias realizadas, obteve-se o isolamento do agente.

GRÁFICO Nº 4 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 309, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo ictærohaemorrhagiae (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação.

O gato F 309 manifestou título inicial de 800 na colheita do 7º dia pós inoculação e, a seguir, houve uma ascensão do nível de aglutininas para 1.600 na 3ª colheita (10º dia). No 14º dia de evolução, detectou-se título de 800, que se manteve por 14 dias. Na 5ª semana, houve um declínio de título para 200, título este que se manteve neste nível até o sacrifício do animal. Deste espécime, também não se isolou leptospira, tanto dos cultivos de sangue colhido como das uroculturas realizadas no 10º, 28º e 56º dias de evolução.

GRÁFICO Nº 5 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 312, inoculado com Leptospita interrogans sorotipo ictero haemorrhagiae (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação.

Título
de
anticorpos

Ao término da 1ª semana a contar do momento da inoculação, observou-se título de anticorpos igual a 200, havendo aumento do mesmo no 10º dia pós inoculação, quando atingiu valores máximos (títulos 400), mantendo-se estável até o sacrifício do animal, aos 56 dias pós inoculação. No gato F 312, também não se isolaram leptopiras em nenhuma das uroculturas do 7º, 35º, 49º e 56º dias ou nas dez hemoculturas realizadas.

GRÁFICO Nº 6 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 316, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo icterohaemorrhagiae (R-192), segundo o tempo a contar da inoculação.

O gato F 316 manifestou, na colheita da 1^a semana pós inoculação, um nível de aglutininas antileptospira da ordem de 400, que se manteve por mais 21 dias e a seguir, declinou para 200 (5^a semana), nível este em que permaneceu até a 8^a semana. Também não se obteve êxito no que tange ao isolamento do sorotipo icterohaemorrhagiae das culturas das dez amostras de sangue e das uroculturas do 4º, 42º, 49º e 56º dias, realizadas a partir da inoculação.

GRÁFICO Nº 7 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 304, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo canicola (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.

Título
de
anticorpos

Após 10 dias da inoculação da cepa CCZ-8 do sorotipo canicola, o animal F 304 apresentou um nível de aglutininas antileptospira de 200. Este título permaneceu até a 3^a semana, decrescendo na 4^a semana a nível igual a 100. Nas determinações sorológicas realizadas com as amostras obtidas da 5^a, 6^a, 7^a e 8^a semanas, não se detectou a presença de aglutininas a partir da diluição de 1:100. As dez hemoculturas e as uroculturas do 21º e 56º dias foram sempre negativas quanto ao crescimento de leptospiros.

GRÁFICO Nº 8 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 311, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo canicola (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.

Já no final dos 7 primeiros dias a contar da inoculação, o gato F 311 apresentava-se sororeagente à diluição de 1:800. Entre a 1^a e 2^a semanas, a contar da inoculação, houve manutenção do título 800. No 21º dia, detectou-se positividade em título de 1:600; a partir daí, houve declínio do nível de aglutininas para 800 na 4^a semana, para 400 entre a 5^a e 7^a semanas e, finalmente, para 200, quando do sacrifício do animal, na 8^a semana. Em nenhuma das dez hemoculturas e das uroculturas, do 42º e 56º dias, constatou-se o crescimento do espiroqueta inoculado.

GRÁFICO Nº 9 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 315, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo canicola (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.

O animal F 315 apresentou título inicial (200) na 4ª semana após a inoculação, ocasião em que, a partir da amostra de urina colhida, obteve-se urocultura positiva. A partir de novas cistocenteses e uroculturas, conseguiu-se isolar o agente por mais 2 semanas (5ª e 6ª semanas). No 35º dia a partir da inoculação, detectou-se uma ascensão do título ao nível 400, que se manteve em platô por mais 3 semanas. Na 9ª semana, a titulação da amostra sérica, através da SAM, apresentou-se positiva até a diluição 1:1.600. Com 70 dias de evolução, houve uma nova ascensão do nível de aglutininas (3.200); todavia, na colheita subsequente, ou seja, naquela da 11ª semana de evolução, o título caiu para 800. Das uroculturas do 14º, 49º, 56º, 63º, 70º e 77º dias e das treze hemoculturas realizadas, não houve isolamento do agente inoculado.

GRÁFICO Nº 10 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 317, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo canicola (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.

O gato F 317 somente veio a se positivar sorologicamente pela SAM, na 6ª semana de evolução, com título da ordem de 400. Este título permaneceu até o 56º dia de evolução da infecção experimental, ascendeu mais uma diluição (1:800), permanecendo, com este nível de anticorpos até o sacrifício, ocorrido na 12ª semana pós inoculação. Não se detectou leptospirêmia no F 317 (14 hemoculturas), sendo possível, todavia, o isolamento, neste animal, de L. interrogans, a partir das uroculturas, desde a 3ª colheita de urina realizada (ou seja, do 14º dia de inoculação). Todos os cultivos de urina obtidos, semanalmente, desde o 14º e até o 56º dia, apresentaram-se positivos quanto ao crescimento de leptospiros. Não se isolou o agente nas colheitas da 9ª, 11ª e 12ª semanas de evolução, ocorrendo, entretanto, na urocultura da 10ª semana, o crescimento do espiroqueta inoculado.

GRÁFICO Nº 11 - Evolução dos títulos de anticorpos e resultados das hemoculturas e uroculturas do gato F 319, inoculado com Leptospira interrogans sorotipo canicola (CCZ-8), segundo o tempo a contar da inoculação.

O felino F 319, após receber o inóculo infectante, tornou-se sororeagente na 3ª semana do período de observação; houve uma ascensão no nível de aglutininas, ou seja, 200 na 4ª e 5ª semanas, 800 na 6ª semana e platô a partir daí e até o sacrifício do animal na 8ª semana. Em nenhuma das dez hemoculturas e das uroculturas da 2ª, 6ª, 7ª e 8ª semanas, detectou-se o crescimento de leptospiras.

A dinâmica da evolução dos níveis de aglutininas, a magnitude dos picos máximos atingidos, a manutenção e declínio dos níveis de anticorpos detectados pela SAM, observadas neste experimento, são difíceis de serem comparadas, pois a maioria dos autores que trabalharam com inoculação experimental de leptospiros em felinos não se preocupou em apresentar ou discutir estes aspectos da leptospirose.

TURNER (1968)⁹⁶, em extensa revisão sobre particularidades do diagnóstico desta zoonose, afirma que os títulos máximos são atingidos, geralmente, até a 3^a semana de vigência da infecção, fato que realmente pôde ser comprovado neste experimento, pois 6 dos 9 felinos soropositivos atingiram títulos máximos nos 21 primeiros dias de evolução da infecção leptospirótica. Os 3 felinos soropositivos (F 319 - 6^a semana, F 317 - 9^a semana, F 315 - 10^a semana) que manifestaram títulos máximos posteriormente à 3^a semana a contar da inoculação, pertenciam ao grupo 2, isto é, os inoculados com o sorotipo canicola. Depara-se ainda, na bibliografia consultada, com citações de obtenção de títulos máximos na 5^a semana após a inoculação com o sorotipo ballum, na 7^a semana, com icterohaemorrhagiae e entre a 7^a e 8^a semanas após a infecção com pomona^{39, 67, 91}.

Em termos de magnitude de títulos atingidos, os animais do grupo 1 apresentaram positividade sorológica máxima de 1600 (F 309), valor bastante próximo àquele obtido por MODRIC (1974)⁶⁷, que demonstrou, com a inoculação de cepa deste mesmo sorotipo, positividade sorológica máxima na diluição de 1:2000. Nos animais inoculados com canicola (Grupo 2), observou-se título máximo igual a 3200 (F 315), que foi, aliás, o maior título obtido neste experimento. Não há possibilidade de se realizar estudo comparativo entre os resultados por nós obtidos com o sorotipo canicola, pois não se pôde localizar nenhum trabalho experimental que fizesse qualquer citação da magnitude do título.

Com exceção do gato F 304, os demais se mantiveram positivos e com títulos iguais ou maiores a 200, durante um período mínimo de 2 meses contados a partir da data de ino

culação, confirmando, portanto, os resultados de MODRIC (1974)⁶⁷, que observou soropositividade até 3 meses após a inoculação de cepa do sorotipo pomona em felinos domésticos. Em 1979, HAGIWARA⁴³, utilizando a reação de soroaglutinação microscópica em cães inoculados com os mesmos sorotipos aqui utilizados, descreveu manutenção de soropositividade por, no mínimo, 8 semanas.

Pela observação da TABELA Nº 13 e dos GRÁFICOS de Nº 3 a 6, dispostos anteriormente, constata-se que nos animais do Grupo 1, ou seja, naqueles inoculados com icterohaemorrhagiae, não se detectou crescimento de L. interrogans nas uroculturas realizadas com amostras de urina colhidas, observação esta semelhante à descrita por Klarenbeek & Winsor (1938), citados por MURPHY e col. (1958)⁷⁰, por JONES (1964)⁵², após a inoculação de cepas dos sorotipos icterohaemorrhagiae e pomona e por MODRIC (1974)⁶⁷, após a infecção experimental de gatos jovens com icterohaemorrhagiae, sejroe e grippotyphosa.

Entretanto, das uroculturas providas de amostras de urina dos gatos pertencentes ao grupo 2, isto é, daqueles animais inoculados com o sorotipo canicola (GRÁFICOS de Nº 7 a 11), obteve-se positividade em 40% dos casos, ou seja, 2 (F 315 e F 317) dentre os 5 animais utilizados eliminaram o agente através a urina. Conforme se depreende da visualização da TABELA Nº 13 e do GRÁFICO Nº 9, o gato F 315 eliminou leptospiras na urina, no período compreendido entre a 4ª e 6ª semanas pós inoculação. O gato F 317, por sua vez, apresentou leptospirúria a partir de 14 dias a contar da infecção experimental. Detectou-se crescimento de leptospiras em mais 7 uroculturas deste animal, isto é, naquelas realizadas na 3ª, 4ª, 5ª, 6ª, 7ª, 8ª, e 10ª semanas dentre os 84 dias de observação a que foi submetido (GRÁFICO Nº 10).

Com relação ao valor percentual de 40% de gatos eliminando leptospiras pela urina após a inoculação do sorotipo canicola, pode-se considerá-lo comparável aos 33% de felinos eliminadores de Leptospira obtidos por FESSLER & MORTER (1964)³⁹, após a inoculação experimental de cepa do sorotipo pomona.

O início da leptospirose, entre a 2^a e 4^a semanas a contar da inoculação, observada neste trabalho, está próximo daqueles assinalados por FERRIS & ANDREWS (1965)³⁸ e por SHOPHET & MARSHALL (1980)⁹¹, que relataram positividade das amostras semeadas, respectivamente, 3 semanas (sorotipo pomona) e 2 semanas (sorotipo ballum) após a inoculação do material infectante.

A leptospirose por um período de 9 semanas manifestada pelo felino F 317 é comparável àquelas relatadas por FESSLER & MORTER (1964)³⁹, e por FERRIS & ANDREWS (1965)³⁸ de, respectivamente, 8 e 6 semanas, após a inoculação de pomona.

O fato de animal sorologicamente negativo eliminar leptospiros pela urina, já observado em inoculação experimental do sorotipo pomona em cães⁶⁵, ressalta a limitação da determinação de anticorpos como método único de confirmação diagnóstica de infecção por leptospiros. A evolução da infecção experimental com amostras do sorotipo canicola, detectado no gato F 317, comprova a citada observação, pois a leptospirose iniciou-se 14 dias após a inoculação do agente e a sor conversão do animal ocorreu somente 4 semanas mais tarde, ou seja, 42 dias após a infecção. Consequentemente, o evento de um animal assintomático eliminar leptospiros sem apresentar a glutininas antileptospiros em títulos igual ou maior a 100, deve ser considerada de relevância, em termos de Saúde Pública, devido ao perigo potencial por ele representado.

Em função da leptospirose manifestada pelo animais do grupo II, detectada no presente trabalho, permitimo-nos aventar a hipótese de que o sorotipo canicola está muito melhor adaptado para os felinos domésticos, ao menos em condições de experimentação, do que o sorotipo icterohaemorrhagiae. Esta hipótese foi há pouco tempo formulada para outra espécie de animal carnívoro, ou seja, para o cão (YASUDA, 1979¹⁰⁸). Para tanto, este último autor baseou-se nas observações por ele realizadas quando de inquérito sorológico e bacteriológico efetuados em cães errantes, onde detectou que 16% dos animais so

roreagentes para canicola apresentavam nefroculturas positivas para o mesmo sorotipo, enquanto que apenas 2% dos animais sorologicamente positivos para icterohaemorrhagiae eliminavam o agente através da urina.

Após o sacrifício dos animais de ambos os grupos e da realização das nefroculturas e do exame histológico, - executado em fragmentos de parênquima renal através a técnica de Warthin-Starry, constatou-se que não houve crescimento do espiroqueta no meio de Fletcher, e que rim não albergava o agente em foco. Estas observações vem confirmar relatos de VAN DER HOEDEN (1953)⁹⁹, JONES (1964)⁵², FERRIS & ANDREWS (1965)³⁸, SHOPHET & MARSHALL (1980)⁹¹ que, após a inoculação experimental de felinos, a despeito de terem obtido isolamento nas uroculturas realizadas, não conseguiram isolar e/ou demonstrar o agente nos rins dos animais, tanto por meios bacteriológicos como por histologia. O fato de não se conseguir isolar e demonstrar a presença de leptospiiras a partir de fragmentos de rins de animais que, comprovadamente, manifestaram leptospiúria, revela que estes estavam efetivamente livres da infecção e que se pode realmente classificar o gato como eliminador ocasional de Leptospira interrogans, confirmando proposição feita em 1958, por BABUDIERI⁵.

Em função da frequência de soropositividade obtida na população de gatos aqui estudada e das evidências decorrentes da inoculação experimental de leptospiiras em felinos adultos (a ausência de manifestações sintomáticas e a leptospiúria relativamente longa manifestada em presença de títulos mesmo elevados de aglutininas), permitimo-nos considerar os gatos domésticos como fontes de infecção em potencial, no tocante à transmissão da antroponose ao homem e aos demais animais.

4. CONCLUSÕES.

4. C O N C L U S Õ E S.

Em função dos resultados obtidos pela metodologia adotada, pôde-se concluir que:

- 1) a frequência de infecção por Leptospira interrogans na população felina estudada, segundo a reação de soroaglutinação microscópica, foi de 12,8%, constituindo-se o sorotipo pomona no principal responsável pela infecção leptospirótica nestes animais;
- 2) os soros felinos aqui investigados foram reagentes aos sorotipos de L. interrogans que se seguem: pomona (7,6%), icterohaemorrhagiae (4,6%), canicola (1,7%), grippotyphosa (1,7%), autumnalis (1,7%) e ballum (0,6%);
- 3) não se observou influência do sexo na ocorrência de leptospirose felina; todavia, houve predisposição etária, pois a infecção leptospirótica foi mais frequente em gatos adultos;
- 4) felinos inoculados experimentalmente com cepas autóctones de Leptospira interrogans mostraram-se infectados, pois 90% deles apresentaram aglutininas antileptospiras homólogas, no máximo 6 semanas após a inoculação;
- 5) a leptospirose experimental em felinos inoculados com os sorotipos icterohaemorrhagiae e canicola não se manifestou por quadro sintomático típico ou por alterações características do hemograma e do exame de urina;
- 6) os gatos domésticos constituem-se em fontes de infecção em potencial da antroponose, pois comprovou-se a ocorrência de leptospirose em 20% dos espécimes inoculados, permanecendo os animais clinicamente assintomáticos;

- 7) os felinos são eliminadores ocasionais de leptospiras através da urina;
- 8) o sorotipo canicola demonstrou melhor adaptação aos espécies felinos que o sorotipo icterohaemorrhagiae.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. ALICATA, J.E. & BREAKS, V. A survey of leptospirosis in Honolulu. Hawaii Med. J., 2: 137-421, 1942/43.
2. ALSTON, J.M. & BROOM, J.C. Leptospirosis in man and animals. Edinburger, E. & Livingstone, 1958.
3. ARAUJO, L.M. Exames de urina com fins diagnósticos in: BIRGEL, E.H. et al. Meios e métodos de diagnóstico em Medicina Veterinária. 2a. ed. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária/Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária, 1971. p. 55-56.
4. AVILA, J. A. et al. Pesquisa de aglutininas anti-Leptospira em soros de bovinos do município de Jaboticabal, Brasil. Científica, 6: 451-3, 1978.
5. BABUDIERI, B. Animal reservoirs of Leptospire. Ann. N. Y. Acad. Sci., 70: 393-413, 1958.
6. BIRGEL, E. H. Métodos de diagnóstico em hematologia clínica. In: _____. Meios e métodos de diagnóstico em Medicina Veterinária. 2a. ed. S.Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária/Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária, 1971. p. 25-54.
7. BRYSON, D.G. & ELLIS, W. A. Leptospirosis in a British domestic cat. J. Small Anim. Pract., 17: 459-65, 1976.
8. BUCHANAM, R. E. & GIBBONS, N.E. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8a. ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1974.
9. CACCHIONE, R. A. Enfoque de los estudios de las leptospirosis humana y animal en America Latina. 1º - Introdu

- çãõ - Argentina, Bolivia y Brasil. Rev. Asoc. Argent. Microbiol., 5: 36-53, 1973.
10. CARLOS, E.R. et al. Leptospirosis in the Philippines: feline studies. Am. J. vet. Res., 32: 1455-6, 1971.
 11. CARLOS, E.R. et al. Leptospirosis in the Philippines: 1. Isolation studies. Acta. Med. Philippina, 6: 149-53, 1970.
 12. CASTRO, A.F.P. et al. Isolamento de *L. canicola* de suínos abatidos em matadouro. Arq. Inst. Biol., S.Paulo, 29: 193-7, 1962.
 13. CASTRO, A.F.P. et al. Leptospirose canina em São Paulo. In: quêrito sorológico e isolamento da *L. icterohaemorrhagiae*. Arq. Inst. Biol., S.Paulo, 29: 199-205, 1962.
 14. CASTRO, A.F.P. et al. Pesquisa de aglutininas antileptospira entre magarefes em alguns municípios do Estado de São Paulo. Rev. Inst. med. trop. S.Paulo, 8: 287-90, 1966.
 15. CASTRO, A.F.P. et al. *Prea* (*Cavia aperae Azarae* Lich.) - (Rodentia: Cavidae) como reservatório de leptospira em São Paulo - Isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Arq. Inst. Biol., S.Paulo, 28: 219-23, 1961.
 16. CENTER FOR DISEASE CONTROL. Leptospirosis surveillance: annual summary. 1969. Atlanta, Ga., 1970.
 17. CENTER FOR DISEASE CONTROL. Leptospirosis surveillance: annual summary. 1972, Atlanta, Ga., 1974.
 18. CENTER FOR DISEASE CONTROL. Leptospirosis surveillance: annual summary. 1975, Atlanta, Ga., 1976.
 19. CHESTER, D.K. Spirochetal diseases: leptospirosis. In: CATCOTT, E.J., ed., Canine medicine. 4a. ed. Santa Bar

Bara, Calif., American Veterinary Publications, 1979. v. 1, p. 61-4.

20. CORDEIRO, F. et al. Leptospira interrogans in several wild life species in southeast Brasil. Pesq. vet. Bras., 1: 19-29, 1981.
21. CORRÊA, M.O. A. Human leptospirosis in Brazil. Intern. J. Zoonoses., 2: 1-9, 1975.
22. CORRÊA, M.O.A. & MEARIM, A.B. Leptospiroses no Brasil: levantamento bibliográfico de 1917 a 1970. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 31: 87-101, 1971.
23. CORRÊA, M.O.A. et al. Considerações sobre novo surto epidêmico de leptospiroses na cidade do Recife em 1970. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 32: 83-7, 1972.
24. CORRÊA, M.O.A. et al. Inquérito sorológico para o diagnóstico de leptospiroses entre lavradores de arrozais do vale do Rio Paraíba. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 14: 33-7, 1954.
25. CORRÊA, M.O.A. et al. Inquérito sorológico para leptospirose entre trabalhadores na limpeza pública na cidade de São Paulo. Resumo. Rev. paul. Med., 70: 102, 1967.
26. CORRÊA, M.O.A. et al. Leptospiroses. In: VERONESI, R. ed. Doenças infecciosas e parasitárias. 6a. ed. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1976. p. 787-807.
27. COSTA, E.A. Considerações epidemiológicas sobre leptospiroses. A propósito de inquérito sorológico em trabalhadores do Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre. Gaz. med. Bahia, 70: 75-104, 1970.
28. CRUZ, J. et al. Leptospiroses em servidores da Superintendência de Água e Esgotos da Capital (SAEC-São Paulo). Rev. D.A.E., 31: 61-6, 1971.

29. DESMECHT, M. Les leptospiroses. Ann. Méd. vét., 114: 197-220, 1970.
30. DIESCH, S.L. Vaccination and titer evaluation. Med.vet. Pract., 61: 905-8, 1980.
31. DIFCO LABORATORY. Supplementary literatura. Detroit, 1972.
32. DJANKOV, I. Research into Leptospirosis in cats. Bull. vet. Inst. Infect. Parasit. Dis., Bulgaria, 9: 171-4, 1963.
33. DOREA, A.J.D. & CALDAS, E.M. Leptospirose canina. Aglutininas antileptospira detectadas em soro de cães. (C. familiaris) na cidade de Salvador, Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14º, São Paulo, 1974. Anais. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1974. p.95-6.
34. ESSEVELD, H. & COLLIER, W.A. Leptospirose bei Katzen auf Java. Z. Immun. Forsch., 93: 512-28, 1938.
35. ESSEVELD, H. et al. Leptospirosis in the Netherlands East Indies, with special reference to the virus reservoirs. Mededeelingen Dienst der Volksgezondheid Nederlandsch-Indie, 29: 1-9, 1940.
36. EVERARD, C.O.R. et al. Leptospirosis in dogs and cats on the Island of Trinidad: West Indies. Int. J. Zoonoses, 6: 33-40, 1979.
37. FEIGIN, R.D. et al. Human leptospirosis from immunized dogs. Annals intern. Med., 79: 777-85, 1973.
38. FERRIS, D.H. & ANDREWS, R.D. Leptospira pomona in the feral cat. Amer. J. vet. Res., 26: 373-6, 1965.
39. FESSLER, J.F. & MORTER, R.L. Experimental feline leptospirosis. Cornell Vet., 54: 176-90, 1964.

40. GOMES, M.C.O. et al. Investigação sobre a ocorrência de leptospirose em trabalhadores de diversas profissões no distrito sede do Município de Sorocaba. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 28: 19-26, 1968.
41. GORDON-SMITH, C.E. et al. Animal leptospirosis in Malaya. 1. Methods, Zoogeographical background and broad analysis of results. Bull. Wld. Hlth Org., 24: 5-21, 1961.
42. GREENE, M.R. A survey for leptospirosis in southern California. Amer. J. Hyg. - Sec. B., 34: 87-90, 1941.
43. HAGIWARA, M.K. Estudo comparativo entre as reações de so roaglutinação microscópica e de fixação do complemento na leptospirose canina experimental pelos sorotipos ictero haemorrhagiae e canicola. São Paulo, 1979. [Tese de Doutorado - Faculdade de Saúde Pública da USP].
44. HAGIWARA, M.K. Leptospirose canina em São Paulo. São Paulo. 1974. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Saúde Pública da USP].
45. HARKNESS, A.C. et al. An isolation of Leptospira serotype pomona from a domestic cat. N. Z. vet. J., 18: 175, 1970.
46. HEMSLEY, L.A. Leptospira canicola and chronic nephritis in cats. Vet. Rec., 68: 300-01, 1956.
47. HERRER, A. et al. Leptospirosis en el Peru. 1. Identificación de las cepas de Leptospiras presentes en el perro y el gato e incidencia de la infección. Rev. med. exp., Lima, 12: 65-86, 1958.
48. HIGGINS, R. & CAYOUILLE, P. Serological diagnosis of Leptospirosis in the province of Quebec. Canad. vet. J., 19: 13-6, 1978.
49. HIGGINS, R. et al. Serological studies on Leptospirosis in domestic animals in Quebec. Canad. J. comp. Med., 44: 299-31, 1980.

50. HYAKUTAKE, S. et al. Contribuição ao estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 18: 10-6, 1976.
51. HYAKUTAKE, S. et al. Inquérito sorológico para o diagnóstico de leptospirose entre cortadores de cana de açúcar de alguns municípios do Estado de São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 25/27: 111-4, 1965/1967.
52. JONES, C.K. Response of Felis domestica to leptospiral infections. Southwest. Vet., 17: 109-14, 1964.
53. KERR, D.A. Improved Warthin-Starry method of staining spirochetes in tissue sections. Amer. J. Clin. Path. Technical Supplement, 2: 63-7, 1938.
54. LARSSON, M.H.M.A. et al. Valores hematológicos de felinos (Felis cati, L., 1758) normais. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 12: 185-195, 1975.
55. LEPTOSPIRAL serotype distribution lists: according to host and geographic area. Atlanta, Ga., Department of Health, Education and Welfare, 1966.
56. LEPTOSPIRAL serotype distribution lists: according to host and geographic area, supplement to 1966 publication. Atlanta, Ga., Department of Health, Education and Welfare, 1975.
57. LILLIE, R.D. & FULLMER, H.M. Histopathologic technic and practical histochemistry. 4a. ed. N. York, Mc Graw-Hill, 1976.
58. LIMA, D.P.C. & SANTA ROSA, C.A. Inquérito sorológico para leptospiroses no Rio Grande do Norte. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 16: 259-64, 1974.
59. LUCKE, V.M. & CROWTHER, S.T. The incidence of leptospiral agglutination titres in the domestic cat. Vet. Rec., 77: 647-8, 1965.

60. MAGALDI, C. Contribuição e epidemiologia das leptospiroses: investigações em trabalhadores da rede de esgotos da cidade de São Paulo. São Paulo, 1962. [Tese de Doutorado - Faculdade de Medicina da USP/].
61. MAILLOUX, M. Leptospirosis - zoonoses. Int. J. Zoonoses, 2: 45-54, 1975.
62. MASON, R.W. et al. Suspected leptospirosis in two cats. Aust. vet. J., 48: 622-3, 1972.
63. MEARIM, A.B. & CORRÊA, M.O.A. Leptospiroses no Brasil: levantamento bibliográfico de 1971 a 1977. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 37: 131-40, 1977.
64. MEIRA, D.A. & SANTA ROSA, C.A. Estudo epidemiológico e clínico de leptospirose em detentos de São Paulo. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo, 19: 163-72, 1964.
65. MENGES, R.W. et al. Culture and serologic studies on four dogs inoculated with two leptospiral serotypes, Leptospira pomona and Leptospira canicola. Amer. vet. Res., 21: 371-76, 1960.
66. MICHNA, S.W. Leptospirosis. Vet. Rec., 86: 484-96, 1970.
67. MODRIC, Z. Experimental leptospirosis in the cat. Folia Fac. Med. Univ. Comenianae Bratisl., 12: 257-62, 1974.
68. MODRIC, Z. Prirodna I Eksperimentalna leptospiroza u mačke (Natural and experimental leptospirosis in the cat), Vet. Arh., 48: 147-56, 1978.
69. MORBILIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT: annual summary, 1979. (Center for Disease Control). Atlanta, Ga., v.28, n. 54, 1980.
70. MURPHY, L.C. et al. The prevalence of leptospiral agglutinins in sera of the domestic cat. Cornell Vet., 48: 3-10, 1958.

71. NETSEPHYAEV, S.V. /Duration of carriage of Leptospire by pigs/. Veterinarya, Moscow, 143: 29-31, 1966, apud Vet. Bull., 37: 85, 1967.
72. REES, H.G. Leptospirosis in a cat. N.Z. vet. J., 12: 64, 1964.
73. SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. Rev. Microbiol., 1: 97-109, 1970.
74. SANTA ROSA, C.A. Leptospirose em animais silvestres. Isolamento de um novo sorotipo brasiliensis no sorogrupo Bataviae. São Paulo, 1970. [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu].
75. SANTA ROSA, C.A. & CASTRO, A.F.P. Presença de aglutininas anti-leptospira em soros de ovinos e caprinos no Estado de São Paulo. Arq. Inst. Biol., S.Paulo, 30: 93-8, 1963.
76. SANTA ROSA, C.A. et al. Aborto em suíno: isolamento conjunto de Leptospira icterohaemorrhagiae e Brucella suis. Arq. Inst. Biol., S.Paulo, 37:9-13, 1970.
77. SANTA ROSA, C. A. et al. Contribuição ao estudo epidemiológico das leptospiroses em serpentes do Brasil. II. Levantamento sorológico em Crotallus durissus terrificus. Laurenti, 1768, (Viperidae: Crotalinae) - Cascável. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 40: 39-43, 1980.
78. SANTA ROSA, C.A. et al. Inquérito sorológico para leptospirose e brucelose em cães da cidade de Belo Horizonte. Arq. Esc. Vet. UFMG, 26: 339-42, 1974.
79. SANTA ROSA, C.A. et al. Isolamento de Leptospira icterohaemorrhagiae de bovino em São Paulo. Arq. Inst. Biol., S.Paulo, 28: 113-8, 1961.
80. SANTA ROSA, C.A. et al. Isolamento de Leptospira pomona de suíno em São Paulo. Arq. Inst. Biol., S. Paulo, 29:165-74, 1962.

81. SANTA ROSA, C.A. et al. Leptospirose em equinos. Arq. Inst. Biol., S. Paulo, 35: 61-5, 1968.
82. SANTA ROSA, C.A. et al. Leptospirose em gatos: inqurito sorolgico. In: CONGRESSO, 1 /JORNADAS ARGENTINAS DE MICROBIOLOGIA, 4, Buenos Aires, 1976. Libro de resumes. Buenos Aires, Asociacion Argentina de Microbiologia, 1976. (resumo, 9).
83. SANTA ROSA, C.A. et al. Leptospirose em morcgo. Arq. Inst. Biol., S.Paulo, 36: 175-8, 1969.
84. SANTA ROSA, C.A. et al. Leptospirose no Estado do Amazonas: inqurito sorolgico. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 22: 265-8, 1980.
85. SANTA ROSA, C.A. et al. Nove anos de leptospirose no Instituto Biolgico de So Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 29/30: 19-27, 1969/70.
86. SANTA ROSA, C.A. et al. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira em soros de trabalhadores de diversas profisses. Rev. Microbiol., 1: 19-24, 1970.
87. SANTA ROSA, C.A. et al. Verificao de reaes de soroa glutinao para o diagnstico de leptospirose, posiivas entre doadores do Banco de Sangue de So Paulo. Rev. Soc. bras. Med. trop., S.Paulo, 3: 31, 1969.
88. SBEK, Z. et al. Leptospiral antibodies in domestic animals in Tyrol. Folia Parasitol., Prague, 23: 15-23, 1976.
89. SEMMEL, M. "ber das Vorkommen von Leptospirose bei Katzen in Mnchen und Umgebung. Inaug. Diss., Munich, 1954, p. 51 apud Vet. Bull., 26: 7, 1956.
90. SHOPHET, R. A serological survey of leptospirosis in cats. N. Z. Vet. J., 27: 236, 245-6, 1979.

91. SHOPHET, R. & MARSHALL, R.B. An experimentally induced predator chain transmission of Leptospira ballum from mice to cats. Brit. vet. J., 136: 265-70, 1980.
92. SIAM, M.A. et al. The possible role of stray dogs and cats in the epidemiology of some bacterial human pathogens in Egypt. Zentralbl. Veterinaermed., Reihe B, 20: 409-14, 1973.
93. SILVA, J.J.P. Formas graves de leptospirose. Contribuição ao seu estudo clínico. Niterói, 1974. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Medicina da UFRJ].
94. SZYFRES, B. La leptospirosis como problema de salud humana y animal en America Latina y el area del Caribe. In: REUNION INTERAMERICANA SOBRE EL CONTROL DE LA FEBRE AFTOSA Y OTRAS ZOONOSIS, 8, Guatemala, 1975. Washington D. C., Organizacion Panamericana de la Salud, 1976. (OPAS - Publ. Cient., 316).
95. TASSELLI, E. & MARRAGHINI, M. Indagini sieroepidemiologiche sulla diffusione della Leptospirosi del cane e del gatto in provincia di Firenze. Zooprofilassi, 24: 481-9, 1969.
96. TURNER, L.H. Leptospirosis. II. Serology. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 62: 880-99, 1968.
97. VAN DER HOEDEN, J. Account of research on leptospirosis in the Veterinary Institute (Department of Agriculture, Tel-Aviv) 1950/1954. Refuah Vet., 12: 246-238, 1955.
98. VAN DER HOEDEN, J. Epizootology of leptospirosis. Advanc. vet. Sci., 4: 278-339, 1958.
99. VAN DER HOEDEN, J. Leptospirosis among goats in Israel. J. comp. Path., 63: 101-11, 1953.
100. VAN DER HOEDEN, J. Zoonoses. Amsterdam, Elsevier, 1964.

101. VARELA, G. & ZAVALA, J. Estudios serologicos de leptospirosis en la Republica Mexicana. Rev. Inst. Salubr. Enferm. trop., Mexico, 21: 49-52, 1961.
102. VAN ORDEN, A. Silver staining techniques. Center for Disease Control: personal communication apud SULZER, C.R. & WALLIS, L. J. Leptospirosis methods in laboratory diagnosis. Atlanta, Ga., Center for Disease Control, 1980. /D. H. E. W. - Publication nº (CDC) 80-8275/.
103. VERONESI, R. et al. Leptospiroses em cães da cidade de São Paulo: inquérito sorológico. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 16: 78-84, 1956.
104. WATSON, A.D.J. & WANNAN, J.S. The incidence of leptospiral agglutination in domestic cat in Sidney. Aust.Vet. J., 49: 545, 1973.
105. WHITEHEAD, J.E. Diseases of the urogenital system. In: CATCOTT, E.J., ed. Feline medicine & surgery. Santa Barbara, Calif., American Veterinary Publications, 1964. p. 258-60.
106. WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Expert Group on Current Problems in Leptospirosis Research, Moscow, 1966. Report. Geneva, World Health Organization, 1967. (Who-Tecn. rep. ser., 380).
107. YANAGUITA, R.M. Contribuição ao estudo da leptospirose bovina. Isolamento de dois novos sorotipos no sorogrupo Hebdomadis: sorotipos Guaicurus e Goiano. São Paulo, 1972. /Tese de Doutorado - Instituto de Ciências Biomédicas da USP/.
108. YASUDA, P.H. Leptospirose em cães errantes da cidade de São Paulo. São Paulo, 1979. /Tese de Doutorado - Instituto de Ciências Biomédicas da USP/.