

Aborto equino por *Leptospira* sp.

Leptospira sp. as a cause of equine abortion

Caroline Argenta Pescador¹ Luís Gustavo Corbellini¹ Alexandre Paulino Loretti²
Elsio Wunder Júnior³ Fernanda Junges Frantz³ David Driemeier⁴

- RELATO DE CASO -

RESUMO

Descreve-se um caso de aborto equino por *Leptospira* sp. em um feto de 6 meses proveniente de um estabelecimento localizado próximo a Porto Alegre/RS. As lesões macroscópicas se caracterizaram por icterícia e hemorragias distribuídas difusamente sobre a pele, mucosa oral, tecido subcutâneo, pulmão, coração e sistema gastrointestinal. O fígado estava aumentado de tamanho, friável e de coloração amarelada. Os rins apresentavam hemorragias petequiais na superfície capsular e na superfície de corte observaram-se palidez da região cortical e medular. Cortes de rim e sistema nervoso central, corados por Warthin-Starry, revelaram a presença de espiroquetas nos túbulos, glomerulos e substância branca do encéfalo. Cultivo aeróbio de amostras de fígado e pulmão não revelaram crescimento bacteriano significativo. O teste de imunofluorescência direta para *Leptospira* sp. foi positivo e a sorologia fetal resultou numa titulação de 80 para o sorovar *copenhageni* e 40 para os sorovares *icterohaemorrhagiae* e *pomona*.

Palavras-chave: aborto, equino, *Leptospira* sp.

ABSTRACT

This report describes an abortion on 6-month-old equine aborted fetus that has been caused by *Leptospira* sp. Main lesions included jaundice and hemorrhages diffusely scattered throughout the skin, oral mucosa, subcutaneous tissues, lungs, heart and gastrointestinal system. The liver was enlarged, pliable and yellow colored. The cortical and medullar of the kidneys were pale and petechial hemorrhages were present on the capsular surface. Warthin-Starry stained slices of the kidneys and central nervous system revealed the presence of spirochaetes within the tubules, glomeruli and white matter of the encephalo. Aerobic cultivation from

samples of the liver and lungs were negative. The direct immunofluorescence test for *Leptospira* sp. was positive and the fetus's serological test resulted titers of 80 against serotype *copenhageni* and 40 against the serotypes *icterohaemorrhagiae* and *pomona*.

Key words: abortion, equine, *Leptospira* sp.

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose bacteriana prevalente em todo o mundo. É causada por espiroquetas da espécie *Leptospira interrogans*, que apresentam mais de 212 sorovares, agrupados em 23 sorogrupos (ELLIS, 1994). Este agente pode afetar animais domésticos, selvagens e humanos, representando, portanto, um importante problema de saúde pública (BARWICK et al., 1997). A transmissão da leptospirose depende de condições favoráveis para a sobrevivência do organismo no meio ambiente, do número de animais portadores em uma população e do tempo de duração que os animais portadores abrigam as leptospirosas (HUNTER & HERR, 1994). A umidade, temperatura e o pH são pontos críticos para a sobrevivência do agente no meio ambiente (RIET-CORREA & LEMOS, 2001). A infecção ocorre diretamente através da pele e mucosas que entram em contato com urina, fluidos placentários, leite ou água e alimentos contaminados, podendo também ser transmitida pelo sêmen e por via transplacentária

¹Médico veterinário aluno do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

²Médico Veterinário, Professor Assistente, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, UFRGS.

³Aluno de Graduação em Medicina Veterinária Faculdade de Veterinária UFRGS

⁴Médico Veterinário, Professor Adjunto, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, UFRGS, CP 15094, Av. Bento Gonçalves, 9090, 91540-000, Porto Alegre, RS. E-mail: davetpat@vortex.ufrgs.br Autor para correspondência.

(BOLIN & PRESCOTT, 1999). Na espécie equina, os sorovares de *Leptospira* spp. mais frequentemente encontrados são *pomona*, *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *australis*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *butembo*, *ballum* e *autumnalis* (SWART et al., 1982).

A infecção por *Leptospira* sp. em equinos é principalmente subclínica, sendo considerada como uma causa importante de abortos (usualmente ao 6^o mês de gestação), nascimento de animais fracos ou prematuros, natimortos e mortalidade neonatal. Febre, icterícia, problemas oculares e morte por nefrite intersticial têm também sido observadas (HONG et al., 1993; HUNTER & HERR, 1994). A presença de leptospiros no interior do globo ocular causa uveíte progressiva, envolvendo úvea posterior, córnea, retina e nervo óptico, podendo inclusive, resultar em cegueira (HUNTER & HERR, 1994). A avaliação macroscópica em fetos equinos abortados é normalmente prejudicada pela autólise (HUNTER & HERR, 1994). Entretanto, quando presentes, são caracterizadas por icterícia, hemorragias sob a forma de petéquias e equimoses no pulmão, mucosa traqueal, coração e mucosa gastrointestinal. Os rins apresentam-se com uma coloração amarelada e o fígado friável e com coloração amarelo-alaranjada (HODGIN et al., 1989). Microscopicamente, há dissociação hepatocelular, infiltração inflamatória linfocitária nas tríades portais, placentite caracterizada por trombose, vasculite e infiltração de células inflamatórias no estroma juntamente com hiperplasia adenomatosa cística e necrose do epitélio. Nefrite, pneumonia, encefalite e miocardite são também descritas (POONACHA et al. 1994).

O diagnóstico definitivo de leptospirose em fetos abortados através do isolamento é limitado devido às dificuldades do cultivo (ELLIS & MICHINA, 1976). Os testes de imunofluorescência direta e sorologia fetal têm sido usados com resultados satisfatórios no diagnóstico de leptospirose em tecidos e no soro de fetos abortados, respectivamente (DONAHUE et al., 1991). A detecção de *Leptospira* spp. no sêmen equino foi recentemente descrita no Brasil (SCARCELLI et al., 2001). Levantamentos sorológicos realizados por autores nacionais (GIORGI et al., 1981) relatam que os equinos apresentam anticorpos para diferentes sorovares de leptospiros, tendo sido o isolamento da *icterohaemorrhagiae* o primeiro conseguido no Brasil a partir de um feto equino abortado (GIORGI et al., 1981). Este trabalho descreve um caso de aborto equino por leptospirose ocorrido no município de Porto Alegre.

RELATO DO CASO

Em junho de 2002, um feto equino abortado de 6 meses de idade, da raça quarto de milha, foi encaminhado ao Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Durante a realização da necropsia, fragmentos de diversos órgãos foram coletados e fixados em formalina tamponada 10%, sendo processados através de métodos convencionais para exames histológicos rotineiros e corados por hematoxilina-eosina e coloração de prata (Warthin-Starry). Foram realizadas impressões de secções de rim para o teste de imunofluorescência direta, utilizando-se anticorpo comercial multivalente na diluição de 1:20 (MILLER et al., 1989). Foi realizado cultivo bacteriano aeróbio de fragmentos de fígado e pulmão. Amostras de soro fetal também foram coletadas para a realização do teste de microaglutinação, partindo de uma diluição de 1:10, para os seguintes sorovares: *australis*, *autumnalis*, *bratislava*, *canicola*, *copenhageni*, *kirshneri*, *grippotyphosa*, *hardjobovis*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *pyrogenes*, *wolffi*.

RESULTADOS

Conforme informações obtidas com a proprietária, a égua que abortou havia sido vacinada contra tétano, gripe e encefalomielite, mas não para leptospirose. A propriedade possui um total de 20 equinos da raça quarto de milha, de diferentes idades. Casos esporádicos de aborto estavam ocorrendo na propriedade.

Durante a necropsia, observou-se icterícia e hemorragias (petéquias, equimoses e sufusões) distribuídas, difusamente, sobre a pele, mucosa oral e tecido subcutâneo (Figura 1). O fígado estava aumentado de tamanho, friável e de coloração amarelada. Tanto a serosa quanto a mucosa do intestino apresentavam-se intensamente avermelhadas. Havia hemorragias puntiformes na serosa do ceco. A cortical e a medular renais estavam pálidas e hemorragias petequiais estavam presentes na superfície capsular. No estômago, foram encontradas petéquias e sufusões na serosa, além de conteúdo sanguinolento no seu interior. Esplenomegalia, hidrotórax, hemorragias petequiais e equimóticas na superfície epicárdica, bem como edema pulmonar e sufusões na pleura visceral também foram constatadas (Figura 2). Microscopicamente, havia dissociação difusa de hepatócitos, hepatite linfoplasmocitária e pericolangite mononuclear difusas subagudas discretas, nefrite intersticial

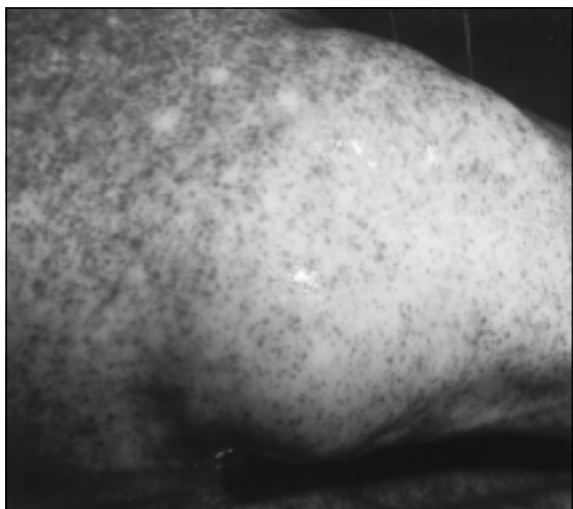


Figura 1 - Feto eqüino abortado. Membro anterior apresentando múltiplas hemorragias petequiais na pele.



Figura 2 - Feto eqüino abortado demonstrando icterícia generalizada da carcaça, fígado de coloração amarelada, intestino difusamente avermelhado e a presença de líquido na cavidade torácica.

linfoplasmocitária difusa subaguda discreta, hemorragia peribronquiolar difusa severa e hipoplasia folicular difusa no baço. No cérebro, constatou-se hemorragia multifocal moderada com presença de neutrófilos no interior de alguns focos de hemorragia. Os cortes de rim, fígado e cérebro corados por Warthin-Starry revelaram a presença de espiroquetas de coloração enegrecida no interior dos túbulos e

glomérulos renais, sinusóides hepáticos e substância branca do sistema nervoso central. O cultivo bacteriano de amostras de fígado e pulmão não revelou crescimento bacteriano significativo. *Leptospira* sp., fortemente marcadas com fluoresceína foram observadas no exame de imunofluorescência direta em impressões de rim (Figura 3). Em algumas áreas, observaram-se até 10 espiroquetas por campo. A sorologia fetal revelou uma titulação de 80 para o sorovar *copenhageni* e 40 para os sorovares *icterohaemorrhagiae* e *pomona*. Foram coletadas amostras de fígado, rim, líquido da cavidade torácica e conteúdo estomacal para tentativa de isolamento do agente. Tais amostras foram inoculadas em meio EMJH semi-sólido com 5-fluorouracil, mas os resultados foram inconclusivos em função da contaminação.

DISCUSSÃO

A leptospirose tem sido considerada como causa de abortos e mortes neonatais em eqüinos (DONAHUE et al., 1991). Em diversos países, os eqüinos têm apresentado sorologia bastante variável, não demonstrando a ocorrência de um sorovar preferencial (HUNTER & HERR, 1994). Laboratórios de diagnóstico relatam dificuldades no isolamento da *Leptospira*, tanto pela fragilidade da natureza do agente, como pelos custos e a complexidade do isolamento, além do prolongado período de incubação

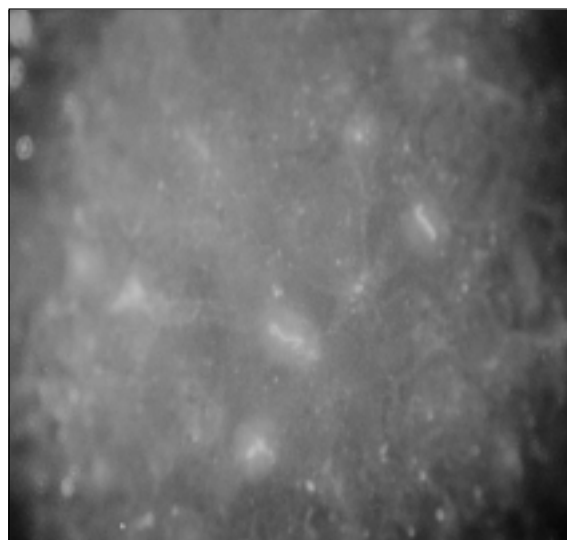


Figura 3 - Impressão de rim do feto eqüino abortado. Imunofluorescência direta com anticorpo comercial multivalente na diluição de 1:20. Presença de espiroquetas marcadas com fluoresceína. 1000X

necessário (DONAHUE et al., 1991). Tais aspectos justificam, em parte, porque a enfermidade ainda não é totalmente conhecida (BOLIN & PRESCOTT, 1999). Tecidos de animais que morreram dentro de um período de 24 horas e que são refrigerados, bem como tecidos que são submetidos ao congelamento não são adequados para o isolamento da leptospira (DONAHUE et al., 1991). A técnica de imunofluorescência direta utilizada neste caso, confirmou a suspeita de leptospirose, demonstrando ser um teste bastante útil no diagnóstico definitivo desta doença. As amostras cultivadas em meio EMJH foram inviáveis para confirmação através do isolamento em função do alto grau de contaminação (ELLIS & MICHINA, 1976).

Os resultados sorológicos encontrados auxiliaram na determinação dos sorogrupos e respectiva titulação de anticorpos envolvidos na infecção, complementando o diagnóstico. Fetos eqüinos são considerados imunocompetentes (DONAHUE et al., 1991), sendo que a titulação de anticorpos encontrada no soro fetal, neste caso, representa uma resposta imune à infecção. A alta titulação observada sugere uma infecção recente, uma vez que a diluição inicial no exame de microaglutinação em fetos abortados é de 1:10 (BOLIN & PRESCOTT, 1999). Ao contrário da freqüente condição de autólise observada em fetos abortados, o que muitas vezes é responsável pela rotineira ausência de achados macroscópicos e microscópicos (HUNTER & HERR, 1994; RADOSTITS et al., 1994 RIET-CORREA & LEMOS, 2001), o feto examinado no presente estudo apresentava-se em bom estado de conservação, demonstrando, de maneira muito evidente, as lesões descritas. O presente diagnóstico baseou-se nos achados de necropsia, na histopatologia, imunofluorescência direta e no perfil sorológico. Os resultados encontrados comprovam a infecção por *Leptospira* sp. no feto eqüino abortado, devendo-se, portanto, considerar a possibilidade da ocorrência desta enfermidade como causa de problemas reprodutivos também na espécie eqüina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARWICK R.S. et al. Risk factors associated with the likelihood of leptospiral seropositivity in horses in the state of New York. **Am J Vet Res**, v.58, p.1097-1103, 1997.
- BOLIN C.A.; PRESCOTT J.F. Leptospirosis. In: HOWARD J.L.; SMITH R.A. **Current veterinary therapy**. 4.ed. Philadelphia : Saunders, 1999. V.1, p.352-357.
- DONAHUE J. M. et al. Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. **J Vet Diagn Invest**, v.3, p.148-151, 1991.
- ELLIS, W.A.; MICHINA, S.W. Bovine leptospirosis: Demonstration of leptospirae of the Hebdomadis serogroup in aborted fetuses and a premature calf. **Vet Rec**, v.27, p.430-432, 1976.
- ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. In: MILLER, R.B. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.10, p.463-476, 1994.
- GIORGI, W. et al. Leptospirose em eqüinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **Instituto Biológico São Paulo**, v.47, p.47-53, 1981.
- HODGIN, E. et al. Leptospira abortion in horses. **J Vet Diagn Invest**, v.1, p.283-287, 1989.
- HONG C.B. et al. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 following seasons. **J Vet Diagn Invest**, v.5, p.560-566, 1993.
- HUNTER, P.; HERR, S. Leptospirosis. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. **Infectious diseases of Livestock**. Oxford : Oxford University, 1994. V.2, p.997-1008, 1994.
- MILLER, D. A.; WILSON, M.A.; KIRKBRIDE, C. A. Evaluation of multivalent *Leptospira* fluorescent antibody conjugates for general diagnostic use. **J Vet Diagn Invest**, v.1, p. 146-149, 1989.
- POONACHA K. B. et al. The role of *Leptospira interrogans* serovar Pomona type Kennewicki as a cause of abortion and stillbirth in mares. In: INTERNATIONAL CONFERENCE, 1994, Tokyo, Japan. **Proceedings...** Tokyo: Equine Infections disease, 1994. VII. p.113-119.
- RADOSTITS O.M.; BLOOD D.C.; GAY C.C. **Veterinary medicine**. 7.ed. London : Baillière Tindall, 1994. p.1763.
- RIET-CORREA, F.; LEMOS, R.A.A. Leptospirose. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e eqüinos**. 2.ed. São Paulo : Varela, 2001. V.1, p.275-284.
- SCARCELLI, E. et al. Detecção de *Leptospira* spp. em sêmen eqüino pela técnica da Reação da Polimerase em Cadeia (PCR). **Arquivos do Instituto Biológico São Paulo**, v.68, p.102, 2001.
- SWART, K. S.; CALVERT, K.; MENEY, C. The prevalence of antibodies to serovars of *Leptospira interrogans* in horses. **Aust Vet J**, v.59, p.25-27, 1982.