



Pets podem ter COVID-19: Incidência e soroprevalência em animais sintomáticos atendidos em clínica particular

Pets may have COVID-19: Incidence and seroprevalence in symptomatic animals cared for in a private clinic

A. G. Guimarães*; D. A. B. Lee; P. O. Meira-Santos; T. L. Bezerra; L. P. Borges

¹Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-Sergipe, Brasil

*adrianagibara@academico.ufs.br

(Recebido em 15 de setembro de 2021; aceito em 07 de junho de 2022)

A presença do SARS-CoV-2 e os anticorpos produzidos pela resposta imune contra este vírus em animais tem sido alvo de diversos estudos recentes. Estes achados são de suma importância para a melhor compreensão da cadeia de transmissão da COVID-19 e da participação dos animais de estimação neste processo. Neste estudo, animais domésticos com sintomas gripais e atendidos em uma clínica veterinária particular do Estado de Sergipe foram avaliados quanto à presença do SARS-CoV-2 e dos anticorpos IgM e IgG produzidos contra este vírus. Além disso, investigou-se a presença de antígenos fecais (parvovírus e coronavírus animal). A maioria dos animais avaliados (93,5%) apresentaram antígenos detectáveis para o SARS-CoV-2 e reagentes para o anticorpo IgM, havendo associação significativa entre estes dois parâmetros ($**** < 0,0001$; com razão de chance de 1573, IC 95% = 28,36 a 87243). Não foram observadas diferenças significativas entre os níveis de IgM entre cães e gatos. Além disso, não detectamos a presença de IgG contra o SARS-CoV-2 e coinfeções por coronavírus animal ou parvovírus. Este estudo reforça a hipótese de que os animais domésticos são susceptíveis a infecção pelo novo coronavírus, ressaltando a importância do cuidado em relação a convivência entre Pets e humanos e a possível cadeia de contato entre pets e humanos, ainda não evidenciada.

Palavras-chave: coronavírus, animais domésticos, SARS-CoV-2.

The presence of SARS-CoV-2 and the antibodies produced by the immune response against this virus in animals has been the subject of several recent studies. These findings are of paramount importance for a better understanding of the COVID-19 transmission chain and the participation of pets in this process. In this study, domestic animals with flu-like symptoms and treated at a private veterinary clinic in the State of Sergipe were evaluated for the presence of SARS-CoV-2 and IgM and IgG antibodies produced against this virus. In addition, the presence of fecal antigens (parvovirus and animal coronavirus) was investigated. Most of the animals evaluated (93.5%) had detectable antigens for SARS-CoV-2 and reagents for the IgM antibody, with a significant association between these two parameters ($**** < 0.0001$; with an odds ratio of 1573, 95% CI = 28.36 to 87243). No significant differences were observed between IgM levels between dogs and cats. Furthermore, we did not detect the presence of IgG against SARS-CoV-2 and animal coronavirus or parvovirus co-infections. This study reinforces the hypothesis that domestic animals are susceptible to infection by the new coronavirus, highlighting the importance of care in relation to the coexistence between Pets and humans and the possible chain of contact between pets and humans, which has not yet been evidenced.

Keywords: coronavirus, domestic animals, SARS-CoV-2.

1. INTRODUÇÃO

Desde dezembro de 2019, a pandemia da COVID-19 se espalhou pelo mundo a partir dos primeiros casos descobertos em Wuhan na China [1], sendo considerada a pior pandemia dos últimos 100 anos. Algumas hipóteses para a origem do novo coronavírus foram levantadas e investigadas, incluindo um vazamento acidental de um laboratório de pesquisa ou uma ocorrência natural de animais [2, 3].

Pouco se sabe sobre a suscetibilidade e comportamento das infecções por SARS-CoV-2 em pets (cães e gatos), apesar dos recentes relatos de casos de infecções por SARS-CoV-2. Infecções naturais e experimentais já foram identificadas em animais ao redor do mundo e a

função desses animais no ciclo de transmissão da COVID-19 para seres humanos passou a ser um objeto de estudo de suma importância [4-6].

Através da técnica de qRT-PCR foram identificados 13,3% de cães positivos para SARS-CoV-2 em casas com pessoas sob quarentena. Estes animais apresentaram secreções orais, nasais e retais positivas para o novo coronavírus, apresentando sequência genética idêntica ao vírus identificado em casos humanos. Adicionalmente, anticorpos reagentes para o SARS-CoV-2 também foram identificados nestes animais [7].

Outrossim, um estudo realizado no Rio de Janeiro, Brasil, demonstrou a associação entre a presença de infecção de cachorros e gatos com SARS-CoV-2 e casos de COVID-19 humana na mesma residência [8]. Algumas evidências sugerem que estes são casos de transmissão humano-animal do SARS-CoV-2. Não está claro se os cães infectados podem transmitir o vírus a outros animais ou retransmitir aos humanos [7].

Sendo assim, este estudo buscou avaliar os casos de infecção pelo SARS-CoV-2 e a soroprevalência para este vírus, excluindo as reações cruzadas para os coronavírus/parvovírus de animais, em Pets atendidos em uma clínica veterinária do Estado de Sergipe.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo epidemiológico longitudinal realizado com cachorros e gatos atendidos no período de novembro de 2020 a março de 2021 em uma clínica veterinária particular no nordeste do Brasil, Estado de Sergipe. Estes Pets deram entrada na unidade com até 7 dias de manifestações clínicas gripais (febre, vômito, torpor, diarreia, tosse e espirro).

As amostras de fezes e soro dos animais coletados pela equipe da clínica veterinária foram cedidas para a equipe do Laboratório de Bioquímica e Imunologia Clínica (LaBiC-Imm, Departamento de Laboratório de Farmácia) da Universidade Federal de Sergipe (UFS). As amostras fecais foram submetidas a detecção de Parvovírus e Coronavírus animal e antígenos contra SARS-CoV-2, enquanto o soro foi utilizado para a detecção de anticorpos IgM e IgG contra SARS-CoV-2. Por esta razão, este estudo não se enquadra nos critérios de avaliação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe, sendo dispensada a sua aprovação pelo mesmo.

No laboratório, os materiais biológicos foram armazenados em tubos Eppendorf e processados no mesmo dia. Os soros foram submetidos a ensaios de imunofluorescência para anticorpos IgM e IgG Anti-SARS-CoV-2, usando um sistema de teste de diagnóstico *in vitro* baseado na tecnologia de imunofluorescência de detecção por sanduíche de fluxo lateral (Ichroma™ COVID-19 Ab em conjunto com um Ichroma™ II Reader, Boditech Med Inc., Coreia do Sul) de acordo com as instruções do fabricante. Este método apresenta sensibilidade de 95,8% e especificidade de 97% [9, 10]. Segundo a bula do fabricante, foram considerados os valores abaixo de 0,9 COI como “não reagente”, de 0,9 a 1,1 COI como “indeterminado” e acima de 1,2 COI “reagente”.

A presença do Antígeno do SARS-CoV-2 foi detectada em amostras de fezes, as quais foram submetidas ao teste de imunoensaio cromatográfico qualitativo no Laboratório de Bioquímica e Imunologia Clínica da UFS/LaBiC, conforme descrito anteriormente [9, 10].

A detecção dos Antígenos fecais para parvovírus e coronavírus animal foram detectados por imunoensaio cromatográfico qualitativo (ALERE PARVO/CORONA Ag Test Kit, Bionote Inc, Gyeonggi-do, Korea) com sensibilidade de detecção de 93,1% quando comparado ao RT-PCR e especificidade de 97,5% quando comparado ao RT-PCR, segundo instruções do fabricante.

Os dados tabulados em planilhas foram submetidos a análise estatística descritiva para determinação da média e do desvio padrão dos níveis de IgM, e percentuais, utilizando o Microsoft Excel (2013). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism® 6.0 (GraphPad Software, Inc., CA. USA). A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Kolmogorov-Smirnov e a comparação entre as médias foi realizada utilizando o Teste de Mann-Whitney (média e desvio padrão dos níveis de IgM detectados nos cães e nos gatos). As associações entre o tipo de animal e a presença de IgM, bem como entre a detecção do antígeno SARS-CoV-2 e do anticorpo IgM, foram verificadas

através do teste exato de Fisher, a partir do qual foi estimada a razão de chance (RC) e o intervalo de confiança de 95% (IC 95%). O nível de significância estatística usado foi $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

O estudo incluiu 76 animais domésticos, sendo 71 cachorros e 5 gatos. Entre os cachorros, 36 eram fêmeas e 35 machos. Entre os gatos houveram 4 fêmeas e apenas 1 macho. Através da sorologia para o coronavírus (SARS-CoV-2), verificamos que 71 animais domésticos (93,5%) apresentaram-se reagentes para IgM ($3,5 \pm 2,6$), entre eles 68 cães (89,5%; $3,9 \pm 2,6$) e 3 gatos (3,9%; $2,9 \pm 0,6$; Tabela 1), não sendo verificadas diferenças significativas entre os níveis deste anticorpo nos grupos de pets ($p = 0,1477$, Figura 1). Todos os animais haviam tido contato com pessoas contaminadas pelo vírus e que residiam no mesmo local.

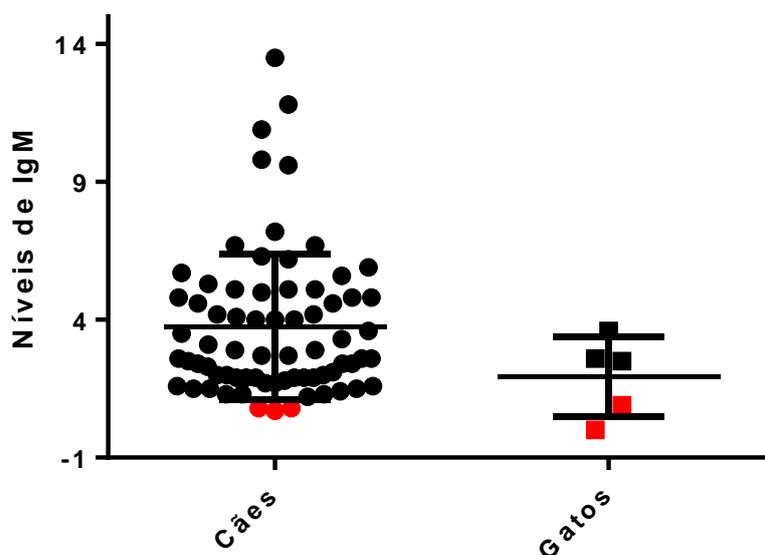


Figura 1: Níveis de anti-IgM para SARS-CoV-2 (COI) detectados no soro de cães e gatos participantes do estudo. As esferas pretas representam os valores de IgM considerável reagente ($> 1,2$ COI) e as vermelhas (inferiores a $0,9$ COI: não reagente ou de $0,9$ a $1,1$ COI: indeterminado). As linhas pretas indicam a média \pm o desvio padrão dos níveis de IgM por grupo de animais. Os dados seguiram uma distribuição não paramétrica e a comparação entre os grupos foi realizada através do Teste de Mann-Whitney, $p = 0,1477$.

Além disso, observou-se uma associação significativa ($*p = 0,0323$) entre a presença de IgM e o tipo de animal doméstico incluído no estudo, com razão de chance de 15,11 (IC 95% = 1,794 a 127,3), o que indica que os cachorros tem uma chance cerca de 15 vezes maior de apresentar IgM contra o SARS-CoV-2. Ao contrário do observado para o IgM, em nenhum dos animais avaliados foi possível detectar a presença de IgG contra o SARS-CoV-2 (Tabela 1).

Os animais positivos (71) para antígenos de SARS-CoV-2 também apresentaram IgM reagente, havendo associação significativa entre estes parâmetros ($**** < 0,0001$) com razão de chance de 1573 (IC 95% = 28,36 a 87243), indicando que a presença do antígeno nos animais aumenta em 1573 vezes a chance da presença de IgM contra SARS-CoV-2.

Diferentemente do observado para o coronavírus humano, não foi detectada a presença de parvovírus e coronavírus animal em nenhum dos materiais fecais analisados (Tabela 1).

Tabela 1: Resultados dos testes realizados nas amostras fecais e sanguíneas dos pets incluídos no estudo.

Parâmetros laboratoriais		Cães n (%)	Gatos n (%)	Total
		71 (93,4%)	5 (6,6%)	76 (100%)
IgM (Média ± DP COI)	Não reagente	3 (3,9%) (0,8 ± 0,1)	1 (1,3%) (0 ± 0)	4 (5,3%) (0,6 ± 0,3)
	Indeterminado	0 -	1 (1,3%) (0,9 ± 0)	1 (1,3%) (0,9 ± 0)
	Reagente	68 (89,5%) (3,9 ± 2,6)	3 (3,9%) (2,9 ± 0,6)	71 (93,5%) (3,5 ± 2,6)
IgG	Não reagente	71 (93,4%)	5 (6,6%)	76 (100%)
Antígeno SARS-CoV-2	Detectável	68 (89,5%)	3 (3,9%)	71 (93,5%)
Parvovírus	Não detectável	3 (3,9%)	2 (2,6%)	5 (6,6%)
Coronavírus animal	Não detectável	71 (93,4%)	5 (6,6%)	76 (100%)

4. DISCUSSÃO

Através deste estudo, foi possível verificar que na maior parte dos animais investigados, entre cães e gatos, foi detectada a presença do coronavírus humano e do anticorpo IgM para o SARS-CoV-2, porém sem a presença de IgG. De fato, diversos estudos tem demonstrado a susceptibilidade à infecção pelo SARS-CoV-2 de animais domésticos como cães e gatos, bem como a presença de anticorpos neutralizantes contra este vírus [4-6, 8, 11-14].

Bosco-Lauth et al. (2020) [4] observaram o comportamento da infecção experimental por SARS-CoV-2 em cães. Os animais inoculados com o vírus apresentaram-se assintomáticos e através do isolamento viral e qRT-PCR foi possível identificar partículas virais nas secreções orais e nasais dos animais. Adicionalmente, foi possível observar que os animais desenvolveram atividade neutralizadora contra as partículas virais, demonstrando a capacidade dos animais de produzir anticorpos e responder às infecções [4].

No nosso estudo, também foi possível observar que não houve diferença significativa entre os níveis de anticorpos IgM produzidos pelos cães e pelos felinos, corroborando com estudos anteriores que demonstram a capacidade destes pets de produzirem resposta imunológica contra o SARS-CoV-2 [4, 6, 13]. Entretanto, ainda existem controvérsias na literatura sobre gatos terem a capacidade de produzir maior resposta imune do que os cães.

Semelhantemente ao observado na resposta imune dos humanos, nós verificamos uma associação significativa entre a presença do SARS-CoV-2 e de IgM em níveis reagentes. De fato, a produção de imunoglobulinas do tipo IgM caracteriza a fase aguda da doença, na qual além das manifestações clínicas, também é possível detectar o antígeno do vírus em materiais biológicos de indivíduos contaminados [15].

Além disso, não foi detectada a presença de IgG contra SARS-CoV-2 em nenhum dos animais participantes do estudo. De fato, a presença de IgG em animais doentes tem apresentado baixa ocorrência, como demonstrado por Perisé-Barrios et al. (2021) [16], os quais verificaram que, de 17 animais doentes, apenas 1 apresentou reagente para IgG contra SARS-CoV-2. Isso ocorre porque a produção dos anticorpos neutralizantes aumenta ao longo dos dias após a infecção. Bosco-Lauth et al. (2020) [4] demonstraram que gatos e cães apresentaram títulos mais elevados de anticorpos neutralizantes ao longo de 28 a 42 dias após a infecção, o que impediu uma reinfecção dos gatos quando expostos novamente ao vírus.

Por fim, nós também investigamos se os animais apresentavam infecções por coronavírus animal, responsável por causar infecções no trato digestivo de animais [16], além do parvovírus, cuja coinfeção com coronavírus animal pode levar a casos mais graves da doença [17]. Nenhum dos 76 animais participantes do estudo apresentaram antígenos fecais compatíveis com parvovírus ou coronavírus animal. Embora o coronavírus animal pertença ao grupo dos α -coronavírus, diferente do SARS-CoV-2 que pertence à classe dos β -coronavírus, verificar a

presença destes vírus também é importante, uma vez que podem agravar o quadro clínico dos animais e possivelmente apresentar reações cruzadas com a metodologia utilizada.

Apesar deste e outros estudos apontarem que os animais de estimação podem se contaminar com o SARS-CoV-2, não é possível concluir se cães e gatos representam uma função na cadeia de transmissão do SARS-CoV-2 para humanos, uma vez que não existem evidências suficientes que suportem a hipótese de que os animais domésticos sejam considerados uma fonte de infecção para o homem [7]. Contrariamente, os animais de estimação estão expostos a infecções vindas dos humanos, o que indica a necessidade de distanciamento entre os pets saudáveis e os humanos contaminados [7, 11, 13, 18].

Outro aspecto interessante em termos de transmissão é que animais infectados são capazes de transmitir o vírus para outros animais coabitantes de uma mesma residência ou local [4, 13, 19-21]. Por outro lado, vale ressaltar que as manifestações clínicas dos animais infectados com SARS-CoV-2 são bem mais amenas do que as observadas nos seres humanos, com predominância de animais assintomáticos ou manifestações respiratórias que podem chegar até estágios moderados, além de que normalmente os animais se recuperam rapidamente [22].

5. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que grande parte dos animais domésticos atendidos em uma clínica veterinária particular com síndromes gripais apresentavam infecção pelo SARS-CoV-2 e produção de IgM compatível com a fase aguda da doença, sem a presença de IgG e coinfeção por coronavírus animais ou parvovírus. Embora não esteja claro o papel dos pets na cadeia de transmissão da COVID-19, a presença de cães e gatos positivos para o vírus demonstra a importância do diagnóstico e dos cuidados necessários para proteger a saúde animal.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à equipe do Mr Zoo por ter cedido as amostras de soro e fezes dos animais para o desenvolvimento desta pesquisa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. Mar 2021;19(3):141-54. doi: 10.1038/s41579-020-00459-7
2. Bloom JD, Chan YA, Baric RS, Bjorkman PJ, Cobey S, Deverman BE, et al. Investigate the origins of COVID-19. *Science*. 2021;372(6543):694. doi: 10.1126/science.abj0016
3. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res*. 2020;24:91-8. doi: 10.1016/j.jare.2020.03.005
4. Bosco-Lauth AM, Hartwig AE, Porter SM, Gordy PW, Nehring M, Byas AD, et al. Experimental infection of domestic dogs and cats with SARS-CoV-2: Pathogenesis, transmission, and response to reexposure in cats. *Proc Natl Acad Sci*. 2020;117(42):26382-8. doi: 10.1073/pnas.2013102117
5. Decaro N, Balboni A, Bertolotti L, Martino PA, Mazzei M, Mira F, et al. SARS-CoV-2 Infection in dogs and cats: Facts and speculations. *Front Vet Sci*. 2021;8:80. doi: 10.3389/fvets.2021.619207
6. Patterson EI, Elia G, Grassi A, Giordano A, Desario C, Medardo M, et al. Evidence of exposure to SARS-CoV-2 in cats and dogs from households in Italy. *Nat Commun*. 2020;11(1):6231. doi: 10.1038/s41467-020-20097-0
7. Sit THC, Brackman CJ, Ip SM, Tam KWS, Law PYT, To EMW, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;586(7831):776-8. doi: 10.1038/s41586-020-2334-5
8. Calvet GA, Pereira SA, Ogrzewalska M, Pauvolid-Corrêa A, Resende PC, Tassinari W de S, et al. Investigation of SARS-CoV-2 infection in dogs and cats of humans diagnosed with COVID-19 in Rio de Janeiro, Brazil. *PLOS ONE*. 2021;16(4):e0250853. doi: 10.1371/journal.pone.0250853
9. Borges LP, Martins AF, de Melo MS, de Oliveira MGB, Neto JM de R, Dósea MB, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies in an asymptomatic population in Sergipe, Brazil. *Rev Panam Salud Pública*. 2020;44:e108. doi: 10.26633/RPSP.2020.108

10. de Melo MS, Borges LP, de Souza DRV, Martins AF, de Rezende Neto JM, Ribeiro AA, et al. Anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies in health workers in Sergipe, Brazil. *MedRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.09.24.20200873
11. Leroy EM, Ar Gouilh M, Brugère-Picoux J. The risk of SARS-CoV-2 transmission to pets and other wild and domestic animals strongly mandates a one-health strategy to control the COVID-19 pandemic. *One Health*. 2020;10:100133. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100133
12. Sailleau C, Dumarest M, Vanhomwegen J, Delaplace M, Caro V, Kwasiborski A, et al. First detection and genome sequencing of SARS-CoV-2 in an infected cat in France. *Transbound Emerg Dis*. 2020;67(6):2324-8. doi: 10.1111/tbed.13659
13. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science*. 2020;368(6494):1016-20. doi: 10.1126/science.abb7015
14. Zhang Q, Zhang H, Gao J, Huang K, Yang Y, Hui X, et al. A serological survey of SARS-CoV-2 in cat in Wuhan. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):2013-9. doi: 10.1080/22221751.2020.1817796
15. Zhang J, Zhang X, Liu J, Ban Y, Li N, Wu Y, et al. Serological detection of 2019-nCoV respond to the epidemic: A useful complement to nucleic acid testing. *Int Immunopharmacol*. 2020;88:106861. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106861
16. Perisé-Barrios AJ, Tomeo-Martín BD, Gómez-Ochoa P, Delgado-Bonet P, Plaza P, Palau-Concejo P, et al. Humoral responses to SARS-CoV-2 by healthy and sick dogs during the COVID-19 pandemic in Spain. *Vet Res*. 2021;52(1):22. doi: 10.1186/s13567-021-00897-y
17. Stout AE, André NM, Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR. Coronaviruses in cats and other companion animals: Where does SARS-CoV-2/COVID-19 fit? *Vet Microbiol*. 2020;247:108777. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108777
18. Fritz M, Rosolen B, Krafft E, Becquart P, Elguero E, Vratskikh O, et al. High prevalence of SARS-CoV-2 antibodies in pets from COVID-19+ households. *One Health Amst Neth*. Jun 2021;11:100192. doi: 10.1016/j.onehlt.2020.100192
19. Chan JF-W, Zhang AJ, Yuan S, Poon VK-M, Chan CC-S, Lee AC-Y, et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden syrian hamster model: Implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2020;71(9):2428-46. doi: 10.1093/cid/ciaa325
20. Gaudreault NN, Trujillo JD, Carossino M, Meekins DA, Morozov I, Madden DW, et al. SARS-CoV-2 infection, disease and transmission in domestic cats. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):2322-32. doi: 10.1080/22221751.2020.1833687
21. Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, Fan S, Takeda M, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*. 2020;383(6):592-4. doi: 10.1056/NEJMc2013400
22. Rajesh K, Seetha H, Abdullah GA-S, Mehboobali P, Tapan B, Githa EM, et al. COVID-19 and Domestic animals: Exploring the Species barrier crossing, zoonotic and reverse zoonotic transmission of SARS-CoV-2. *Curr Pharm Des*. 2021;27(9):1194-201. doi: 10.2174/1381612826666201118112203