

## LEPTOSPIROSE CLÍNICA EM UM CANINO: DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO, BACTERIOLÓGICO E MOLECULAR

NATALIA FERREIRA DIAZ<sup>1</sup>; CAROLINE XAVIER GRALA<sup>2</sup>; DULCINÉIA ESTEVES SANTOS<sup>2</sup>; FRANCIELI DELL'OSBEL<sup>2</sup>; JÚLIA MENDONÇA GOMES<sup>2</sup>; ÉVERTON FAGONDE DA SILVA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – nataliafdiaz@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – carolinexavier098@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – santoseduветvet@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – fran\_dellosbel@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – juliamentdngomes@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – fagondee@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose com distribuição mundial (CAMARGO; REIS; VARZIM, 2019), sendo mais prevalente em países tropicais e subtropicais (SILVESTRINI; HEINEMANN; CASTRO, 2020). Em humanos e animais, as formas de infecção mais comuns são o contato com a urina, solo úmido, água de superfície e a lama contaminados (SILVA et al., 2020), em regiões com alta precipitação pluviométrica, as quais levam a inundações, principalmente em localidades que carecem de saneamento básico (SCANDURA et al., 2020).

Devido ao contato próximo com os seres humanos, os cães desempenham um importante papel na epidemiologia da leptospirose humana, pois podem atuar como reservatórios carregando leptospiros patogênicas (SILVA et al., 2020). A virulência da leptospira varia de acordo com a resposta imune do hospedeiro e seu período de incubação ocorre, em média, em uma semana (LANÇA, 2011). Logo, é de extrema importância seguir corretamente o protocolo vacinal. Portanto, em filhotes é necessária aplicação da primeira dose a partir de 8 semanas de idade ou mais, e a segunda dose após 2 a 4 semanas e em cães adultos realizar duas doses com intervalos de 2 a 4 semanas, com revacinação anual em ambos os casos (SOUZA, 2020).

Os cães podem ser infectados por muitos sorovares, mas a doença no ambiente urbano vem sendo associada tradicionalmente aos sorovares Canicola que tem os cães como fonte de infecção, seguido por Icterohaemorrhagiae, que por sua vez tem os roedores como fonte de infecção (SILVA et al., 2020). Sendo estes sorovares associados à síndrome nefrítica e à síndrome hepatonefrítica, respectivamente (CAMARGO; REIS; VARZIM, 2019).

O presente estudo teve como objetivo realizar o diagnóstico sorológico e molecular em um canino com leptospirose clínica. O molecular é realizado através do resultado positivo na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que detecta leptospiros nos tecidos e fluidos corporais de animais (SILVA et al., 2020). Enquanto o Teste de Soroaglutinação Microscópica (MAT), contém baixa sensibilidade na fase inicial da doença, contanto ainda é considerado padrão-ouro para o diagnóstico sorológico da leptospirose em humanos e animais (GOMES et al., 2023).

### 2. METODOLOGIA

*Exame clínico e amostras*

Um canino SRD, macho, de quatro anos de idade foi admitido no HCV/UFPEL. A queixa principal era prostração, falta de apetite, episódios de diarreia e vômitos. O animal possuía protocolo vacinal desatualizado. A temperatura retal era de 34°C. Após a avaliação clínica, imagem e laboratorial, a suspeita foi de leptospirose. Amostras de sangue total e urina foram encaminhadas ao laboratório do GEDTA/UFPEL.

#### *Diagnóstico sorológico - Teste de Soroaglutinação Microscópica (MAT)*

Após o processamento das amostras, o Teste de Soroaglutinação Microscópica (MAT), que é recomendado como teste de referência pela Organização Mundial da Saúde Animal (PINNA et al., 2018), foi realizado utilizando-se uma bateria de 12 antígenos vivos e a amostra de soro do canino, com o intuito de detectar anticorpos séricos (JEREMIAS, 2022).

#### *Diagnóstico molecular - Reação em cadeia da Polimerase (PCR)*

Para a realização da PCR, a amostra de urina do cão foi submetida a extração de DNA genômico, usando o Promega Wizard SV Genomic DNA Purification System® (Promega, Madison, USA). Os primers utilizados foram desenhados para amplificar o gene lipL32, o qual está presente somente em leptospiros patogênicas (LipL32\_45F - 5'AAG CAT TACTTG CGC TGG TG 3'e LipL32\_286R - 5'TTT CAG CCA GAA CTC CGATT3') (Stoddard et al. 2009). A amostra foi considerada positiva quando houve a amplificação de um fragmento de aproximadamente 32kDa.

#### *Diagnóstico bacteriológico - Isolamento Bacteriano*

Amostras de urina foram inoculadas em meio de cultura EMJH líquido e semi-sólido, e os tubos foram incubados a 29°C. Os tubos foram examinados semanalmente até a observação de leptospiros, existência de contaminação por outros microorganismos ou após o período de 10 semanas (Faine et al., 2000).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No MAT, o soro reagiu contra os sorovares Canicola (1:400) e Icterohaemorrhagiae (1:200). Utilizando-se a PCR, foi possível amplificar os genes LipL32 na amostra de urina. Até o momento, não foi possível o isolamento do agente etiológico.

O resultado do diagnóstico sorológico foi fundamental para a conduta clínica e o tratamento efetivo da enfermidade. O exame direto da urina em microscópio de campo escuro (DFM) revelou células com morfologia e movimentação compatíveis com leptospiros no exame inicial da amostra, porém o cultivo bacteriano não pode ser considerado e, como consequência, o diagnóstico laboratorial de certeza não foi possível no caso.

O MAT detectou títulos para os sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae. Os altos títulos encontrados em apenas uma coleta puderam ser considerados como indicativos da leptospirose, caracterizando a fase aguda da doença.

Os sinais clínicos do animal, os quais foram relatados pelo proprietário e confirmados no exame clínico, são compatíveis com a infecção pelo sorovar Canicola que causa um quadro predominantemente renal (Faine et al., 2000).

#### 4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados, MAT e PCR demonstram ser técnicas fundamentais para o diagnóstico da leptospirose, favorecendo a definição rápida da terapia e a conclusão do caso.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMARGO, C. A. J.; REIS, G.; VARZIM, F. L. S. B. Leptospirose canina: revisão de literatura. **Fundação de Ensino Octávio Bastos**, São João da Boa Vista, 2019.

FAINE S. et al. **Leptospira and Leptospirosis**. Melbourne: Medical Sciences, 2000. 2nd Ed.

GOMES, L. R. et al. Alterações clínico-patológicas, diagnóstico sorológico e molecular em cães com suspeita de leptospirose. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.44, p.823-840, 2023.

JEREMIAS, M. C. N. **Leptospirose em cães: Relato de caso**. 2022. f. 20. Trabalho de Conclusão de Residência (Especialização) Programa de Residência Uniprofissional em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia.

LANÇA, S. I. O. **Contribuição para o estudo da leptospirose canina em Portugal**. 2011. 109f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

PINNA, M. H. et al. Detection of bovine carriers of *Leptospira* by serological, bacteriological, and molecular tools. **Tropical Animal Health and Production**, v.50, p.883–888, 2018.

SCANDURA, S. C. et al. Pesquisa sorológica de sorovares de leptospirosas que mais frequentemente infectam e causam doença em cães com suspeita clínica de leptospirose. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.6, p.9391-9403, 2020.

SILVA, E. R. D. F. S. et al. Leptospirose canina: revisão de literatura. **Revista Científica De Medicina Veterinária**, Piauí, v.34, p.11, 2020.

SILVESTRINI, A. R.; HEINEMANN, M. B.; CASTRO, A. M. M. G. Leptospirose no contexto da Saúde Única e diretrizes de vacinação. **PUBVET**, São Paulo, v.14, n.2, p.1-8, 2020.

SOUZA, A. C. R. **Revisão sobre os procedimentos de vacinação em cães contra leptospirose**. 2020. f.29. Monografia (Especialização) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia.



STODDARD R. A. et al. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.64, p.247–255, 2009.