

mv&z

REVISTA DE EDUCAÇÃO
CONTINUADA EM
MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DO CRMV-SP

JOURNAL OF CONTINUING EDUCATION IN
ANIMAL SCIENCE OF CRMV-SP

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO • ISSN 2596-1306 (on-line) • VOL. 17 • Nº 2 • 2019

RUA VERGUEIRO, 1753/1759 - 4º E 5º ANDARES - VILA MARIANA - CEP: 04101-000 - SÃO PAULO/SP

RESUMOS

Consensos em Leptospirose II e
I Simpósio Internacional de Medicina
Legal Veterinária

CLÍNICA DE PEQUENOS ANIMAIS

Estudo descreve as principais alterações
clínicas e laboratoriais observadas em cão
intoxicado por veneno de sapo identificado
como sendo *Rhinella icterica*



NUTRIÇÃO ANIMAL

Pesquisa mostra resultados de avaliação de parâmetros clínicos e laboratoriais de equinos quarto-de-milha, suplementados com gama-orizanol e L-carnitina antes e após execução da prova de três tambores



EX LIBRIS



CRMV-SP

CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA
DO ESTADO DE SÃO PAULO – CRMV-SP

DIRETORIA EXECUTIVA

Presidente	Méd.-vet. Mário Eduardo Pulga
Vice-Presidente	Méd.-vet. Odemilson Donizete Mossero
Secretário-Geral	Méd.-vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
Tesoureiro	Méd.-vet. Rodrigo Soares Mainardi
Conselheiros Efetivos	Méd.-vet. Carlos Eduardo Larsson Méd.-vet. Fábio Fernando Ribeiro Manhoso Méd.-vet. Luiz Claudio Nogueira Mendes Méd.-vet. Mirela Tinucci Costa Méd.-vet. Mitika Kuribayshi Hagiwara Méd.-vet. Otávio Diniz
Conselheiros Suplentes	Méd.-vet. Carlos Augusto Donini Méd.-vet. Haroldo Alberti Méd.-vet. Leonel Rocha Zoot. Luiz Marques da Silva Ayroza Méd.-vet. Martin Jacques Cavaliero Méd.-vet. Rosemary Viola Bosch
URFAS	
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Araçatuba	Rua Oscar Rodrigues Alves, 55, 7º andar, sl. 12 Fone: (18) 3622 6156 Fax: (18) 3622 8520 e-mail: dr.aracatuba@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Botucatu	Rua Amando de Barros, 1040 Fone/fax: (14) 3815 6839 e-mail: dr.botucatu@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Campinas	Av. Dr. Campos Sales, 532, sl. 23 Fone: (19) 3236 2447 Fax: (19) 3236 2447 e-mail: dr.campinas@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Marília	Av. Rio Branco, 936, 7º andar Fone/fax: (14) 3422 5011 e-mail: dr.marilia@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Presidente Prudente	Av. Cel. José Soares Marcondes, 983, sl. 61 Fone: (18) 3221 4303 Fax: (18) 3223 4218 e-mail: dr.prudente@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Ribeirão Preto	Rua Visconde de Inhaúma, 490, cj. 306 a 308 Fone/fax: (16) 3636-0261 e-mail: dr.ribeirao@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Santos	Av. Almirante Cochrane, 194, cj. 52 Fone/fax: (13) 3227 6395 e-mail: dr.santos@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – São José do Rio Preto	Rua Marechal Deodoro, 3.011, 8º andar Fone/fax: (17) 3235 1045 e-mail: dr.riopreto@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Sorocaba	Rua Riachuelo, 460, 10º andar, sl. 1005 Fone/fax: (15) 3224 2197 e-mail: dr.sorocaba@crmvsp.gov.br
Unidade Regional de Fiscalização e Atendimento – Taubaté	Rua Jacques Felix, 615 Fone: (12) 3632 2188 Fax: (12) 3622 7560 e-mail: dr.taubate@crmvsp.gov.br

REVISTA DE EDUCAÇÃO CONTINUADA EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DO
CRMV-SP

Reconhecida como veículo de divulgação técnico-científica pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), Resolução nº 689, de 25 de julho de 2001.

INDEXAÇÃO

A Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP está indexada na Base de Dados da Biblioteca Nacional de Agricultura (Binagri); na Biblioteca Virtual em Medicina Veterinária e Zootecnia (BVS-Vet) – Periódicos Brasileiros em Medicina Veterinária e Zootecnia (VetIndex); no Centro de Agricultura e Biotecnologia Internacional (CABI); na Rede Iberoamericana de Inovação e Conhecimento Científico (REDIB) e no Sistema Aberto e Integrado de Informação em Agricultura (SABIA).

CONSELHO EDITORIAL

Editor científico: Méd.-vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
Editores associados: Méd.-vet. Alexandre Jacques Louis Develey
Méd.-vet. José Cezar Panetta
Méd.-vet. Eduardo Harry Birgel (Academia Paulista de Medicina Veterinária – Apamvet)

COMISSÃO EDITORIAL

Méd.-vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
Méd.-vet. Carlos Eduardo Larsson
Assessoria de Comunicação
Editor Responsável: Méd.-vet. Sílvio Arruda Vasconcellos
Jornalistas Responsáveis: Laís Domingues – MTB: 59.079/SP e
Camila Garcia – MTB: 60.003/SP
E-mail: comunicacao@crmvsp.gov.br

Sede do CRMV-SP

Rua Vergueiro, 1753/1759 - 4º e 5º andares
Vila Mariana - CEP: 04101-000 - São Paulo/SP
Tel.: (11) 5908 4799
Site: www.crmvsp.gov.br

Revisão Técnica: Academia Paulista de Medicina Veterinária | Apamvet

Projeto Gráfico: Plínio Fernandes | Traço Leal

Direção de Arte: Aline Maya | Tikinet

Diagramação: Natalia Bae e Patricia Okamoto | Tikinet

Coordenação editorial: Máisa Kawata | Tikinet

Revisão: Isabela Bragança e Máisa Kawata | Tikinet

Periodicidade: Quadrimestral

Site: As edições da Revista mv&z estão disponíveis no site
www.revistamvez-crmvsp.com.br

7 Editorial**Clínica de Pequenos Animais****8** Cistite flegmonosa severa: relato de caso**14** Pneumonia e leptomeningite criptocócica em felino: relato de caso**24** O uso da dimetilarginina simétrica (SDMA) no diagnóstico e estadiamento da doença renal crônica em felinos: revisão de literatura**34** Descrição clínica e achados laboratoriais de cão intoxicado por veneno de sapo (*Rhinella icterica*) (Anura: Bufonidae): relato de caso**Nutrição Animal****40** Efeito da gama-orizanol e L-carnitina sob parâmetros corporais, de performance e laboratoriais em equinos quarto-de-milha praticantes de três tambores**Cirurgia Veterinária****48** Sarcoma de tecidos moles em cães: a ressecção cirúrgica cura?**Cirurgia Veterinária****56** Exodontia em ovino santa inês: relato de caso**Resumos****62** I Simpósio Internacional de Medicina Legal Veterinária**66** Consensos em Leptospirose II**98** Normas para Publicação

Capa: Pixabay/Hartizens



Uma publicação

CORPO DE REVISORES

Adriana Maria Lopes Vieira, Instituto Pasteur/CRMV-SP
Agar Costa Alexandrino de Perez, Instituto de Pesca/CRMV-SP
Alexandre Jacques Louis Develey, Apamvet
Alexander Welker Biondo, UFPR
Alice Maria Paula Della Libera, FMVZ-USP
Ana Paula de Araújo, CRMV-SP
Ana Carolina Brandão de Campos Fonseca Pinto, FMVZ-USP
Angelo João Stopiglia, FMVZ-USP/Apamvet
Antonio Carlos Paes, FMVZ-Unesp Botucatu
Antônio Guilherme Machado de Castro, CFMV
Antonio J. Plantino Ferreira, FMVZ-USP
Arani Nanci Bomfim Mariana, Apamvet
Archivaldo Reche Junior, FMVZ-USP
Arsênio Caldeira Baptista Júnior, Méd.-vet. Autônomo
Benedicto Wladimir de Martin, Apamvet
Caris Marone Nunes, Unesp - Araçatuba
Carla Bargi Belli, FMVZ-USP
Carlos Alberto Hussni, FMVZ-Unesp Botucatu
Carlos Eduardo Larsson, FMVZ-USP/Apamvet
Célia Regina Orlandelli Carrer, FZEA-USP
Celso Martins Pinto, Unisa
Ceres Berger Faraco, Amvebea
Cristiane Schilbach Pizzutto, FMVZ-USP
Clair Motos de Oliveira, FMVZ-USP
Cláudio Ronaldo Pedro, CRMV-SP
Daniel G. Ferro, FMVZ-USP
Édson Ramos de Siqueira, FMVZ-Unesp Botucatu
Eduardo Harry Birgel, Apamvet
Eduardo Harry Birgel Junior, FZEA-USP Pirassununga
Edviges Maristela Pituco, Instituto Biológico
Eliana Kobayashi, Méd.-vet. Autônoma
Eliana Roxo, Instituto Biológico
Fábio Fernando Ribeiro Manhoso, UNIMAR - SP/CRMV-SP
Fábio Gregori, FMVZ-USP
Fernando José Benesi, FMVZ-USP
Flávio Massone, FMVZ-Unesp Botucatu
Francisco Rafael Martins Soto, IFSP - São Roque
Fumio Honma Ito, FMVZ-USP
Gilson Hélio Toniollo, FCAV-Unesp Jaboticabal
Helenice de Souza Spinosa, FMVZ-USP
João Palermo Neto, FMVZ-USP
Jorge Timenetsky, Instituto de Ciências Biomédicas - USP
José Antonio Jerez, FMVZ-USP
José Antônio Visintin, FMVZ-USP
José de Alvarenga, FMVZ-USP
José de Angelis Côrtes, FMVZ-USP/Apamvet
José Rafael Modolo, FMVZ-Unesp Botucatu

José Roberto Kfoury Júnior, FMVZ-USP
Josete Garcia Bersano, Instituto Biológico
Júlia Maria Matera, FMVZ-USP
Karime Cury Scarpelli, CRMV-SP
Luiz Cláudio Lopes Correa da Silva, FMVZ-USP
Luiz Carlos Vulcano, FMVZ-Unesp Botucatu
Luiz Eduardo Bagini Lucarts, FMVZ-USP
Marcelo Bahia Labruna, FMVZ-USP
Marcelo da Silva Gomes, Zoológico de São Bernardo do Campo
Márcia Mery Kogika, FMVZ-USP
Márcio Gárcia Ribeiro, FMVZ-Unesp Botucatu
Márcio Rangel de Mello, Méd.-vet. Autônomo
Marcos Veiga dos Santos, FMVZ-USP
Maria Helena Matiko Akao Larsson, FMVZ-USP
Maria Cláudia Araripe Sucupira, FMVZ-USP
Mário Eduardo Pulga, CRMV-SP
Maristela Vasconcellos Cardoso, Instituto Biológico
Milton Kolber Unip Unimes Unisa, UNIP/Unimes/Unisa
Mitika Kuribayashi Hagiwara, FMVZ-USP/CRMV-SP/Apamvet
Nádia Maria Bueno Fernandes Dias, Méd.-vet. Autônoma
Nilson Roberti Benites, FMVZ-USP
Odemilson Donizete Mossero, CRMV-SP
Paulo Anselmo Nunes Filippi, Zoológico de Campinas
Paulo Eduardo Brandão, FMVZ-USP
Paulo Francisco Domingues, FMVZ Unesp Botucatu
Paulo Marcelo Tavares Ribeiro, CRMV-SP
Paulo Sérgio de Moraes Barros, FMVZ-USP
Raphael Lucio Andreatti Filho, FMVZ-Unesp Botucatu
Raimundo de Souza Lopes, FMVZ-Unesp Botucatu
Ricardo Augusto Dias, FMVZ-USP
Ricardo Moreira Caill, CRMV-SP/Mapa
Rita de Cássia Maria Garcia, UFPR
Sílvia Ferrari, Universidade Anhembi Morumbi
Sílvia Arruda Vasconcellos, FMVZ-USP/CRMV-SP/Apamvet
Sílvia Marcy dos Santos, Instituto Biológico
Simone de Carvalho Balian, FMVZ-USP
Solange Maria Gennari, FMVZ-USP
Sonia Regina Pinheiro, FMVZ-USP
Sony Dimas Bicudo, FMVZ-Unesp Botucatu
Stélio Pacca Loureiro Luna, FMVZ-Unesp Botucatu
Terezinha Knöbl, FMVZ-USP
Vicente Borelli, FMVZ-USP/Apamvet
Viviani Gomes, FMVZ-USP
Waldir Gandolfi, FMVZ Unesp-Botucatu/Apamvet
Wilson Roberto Fernandes, FMVZ-USP



Fale conosco

comunicacao@crmvsp.gov.br



Prezados colegas,

Com o tempo e as inovações tecnológicas, os periódicos científicos sofreram numerosas modificações. De modo geral, as versões impressas perderam espaço para as virtuais. Antigamente, o pesquisador frequentava bibliotecas buscando, nas estantes, as coleções de revistas que lhes interessavam, folheava número por número, examinava artigos e autores para sua pesquisa. Hoje, digitalmente, basta procurar por autor e tema, sem nem mesmo precisar se preocupar com o nome da revista, caso não queira. O acesso é rápido, fácil e prático.

O CRMV-SP acompanhou essa modernização quando passou a oferecer um site exclusivo para a Revista *mv&z*. Por meio dele, é possível acessar todas as edições do periódico, desde 1998, além de fazer buscas por palavras-chave e autor. Rumo à excelência, atualizamos o site da Revista para uma nova versão do *Open Journal Systems* (OJS), software de código aberto para o gerenciamento de periódicos acadêmicos revisados por pares. O sistema é adaptado para dispositivos móveis, possui navegação mais fluída e novas áreas de conteúdo. Por meio dele, também será possível atribuir *Digital Object Identifier* (DOI) a todos os artigos da Revista. Caso ainda não conheça o novo portal da publicação, convido-o(a) a visitá-lo: www.revistamvez-crmvsp.com.br.

Recentemente, a publicação conquistou também dois novos indexadores: o Sistema Aberto e Integrado de Informação em Agricultura (SABIIA), da Embrapa Bibliotecas, e a Rede Iberoamericana de Inovação e Conhecimento Científico (REDIB). Os indexadores oferecem valiosas ferramentas de busca por autores, pois disponibilizam informações de artigos originais ao leitor, facilitando a localização do material de interesse sem que seja necessário procurar minuciosamente todos os periódicos da área em questão. Mais uma grande conquista para a classe médica-veterinária e zootécnica.

Nesta segunda edição do ano, você poderá conferir os seguintes artigos: “Cistite flegmonosa severa: relato de caso”, “Exodontia em ovino santa inês: relato de caso”, “O uso da dimetilarginina simétrica (SDMA) no diagnóstico e estadiamento da doença renal crônica em felinos: revisão de literatura”, “Pneumonia e leptomeningite criptocócica em felino: relato de caso”, “Sarcoma de tecidos moles em cães: a ressecção cirúrgica cura?” e “Efeito da gama-orizanol e L-carnitina sob parâmetros corporais, de performance e laboratoriais em equinos quarto-de-milha praticantes de três tambores”.

O lançamento de cada novo número de uma revista científica é algo a ser saudado com entusiasmo. Trata-se de mais uma contribuição que consagra o trabalho intelectual de inúmeros profissionais, que se dedicam à construção de novos conhecimentos e à divulgação do resultado de um esforço que, muitas vezes, fica restrita a poucos. Nós, do CRMV-SP, ficamos felizes em oferecer essa possibilidade de dar ciência ampla e irrestrita dos resultados dessas importantes investigações à sociedade em geral. Desejo que a leitura dessa Revista seja proveitosa.

Boa leitura!

Mário Eduardo Pulga
Presidente do CRMV-SP

"Nossas profissões terão a grandeza que dermos a elas. Esse desafio é de cada um de nós."

Cistite flegmonosa severa: relato de caso

Severe phlegmonous cystitis: case report

Resumo

Relata-se um caso de cistite flegmonosa severa, ou cistite purulenta, decorrente de infecção por bactérias em uma fêmea da espécie canina, da raça dachshund, com nove anos de idade, apresentando disúria há aproximadamente uma semana. Exames bioquímicos foram realizados, além de análise de cálculo e exame de ultrassonografia abdominal. Os exames de bioquímica não apresentaram alterações. A análise de cálculos apresentou carbonato de cálcio/urato. A confirmação do diagnóstico foi obtida pela ultrassonografia com a visualização de uma área de aspecto heterogêneo, hipocogênico e hiperecogênico em região caudal à bexiga. O animal passou por cirurgia, na qual foi retirada uma massa aderida à bexiga, e encaminhada para exame histológico, resultando em perda de revestimento epitelial e severa infiltração leucocitária. Este relato salienta a importância do diagnóstico, que pode ser realizado com o emprego de exames laboratoriais e exames de imagem, como importantes auxiliares.

Abstract

A case of severe phlegmonous cystitis or purulent cystitis due to bacterial infection is reported in a 9-year-old female dog of the Dachshund breed, presenting dysuria about a week ago. Biochemical examinations were performed, besides calculation analysis and abdominal ultrasound examination. The biochemistry exams did not present alterations. Calculation analysis showed calcium carbonate/urate. The diagnosis was confirmed by ultrasonography in which a heterogeneous, hypoechogenic and hyperechogenic aspect was seen in the caudal region of the bladder. The animal underwent surgery, in which a mass adhered to the bladder was removed and sent for histological examination, resulting in loss of epithelial lining and severe leukocyte infiltration. This report emphasizes the importance of diagnosis, which can be performed through laboratory and imaging tests as important auxiliaries.

Recebido em 30 de agosto de 2018 e aprovado em 14 de fevereiro de 2019.

Bruna Higa Nakamuta¹

Milton Kolber²

Nathalie Nagasse²

Rua Continental, 1106, apto. 01,
Jardim do Mar, São Bernardo do Campo/SP, Brasil
CEP: 09726-412
✉ bruna.higa@gmail.com



Palavras-chave

Cão. Cistite. Diagnóstico. Infecção. Severa.
Ultrasonografia.

Keywords

Cystitis. Diagnosis. Dog. Infection. Severe.
Ultrasonography.

As infecções do trato urinário (ITU), ou cistites, muito frequentes em cães, apresentam menor ocorrência nos gatos (BARSANTI, 2006). Esta afecção, predominantemente de origem bacteriana, segundo estimativas, afetará um número elevado de cães em alguma fase da vida (BARSANTI, 2006; THOMPSON *et al.*, 2011), acometendo, frequentemente, fêmeas castradas, machos castrados, fêmeas intactas e, raramente, machos intactos (BARSANTI, 2006).

A definição de ITU está relacionada à colonização microbiana do epitélio do trato urinário, como mucosa uretral, bexiga, ureteres, pelve renal, túbulos contorcidos e dutos coletores dos rins. Habitualmente, o trato urinário é um ambiente estéril, excetuando-se a uretra distal que apresenta, naturalmente, micro-organismos residentes (BARSANTI, 2006). Pode ocorrer em mais de um órgão, ou ser localizada tanto no trato inferior quanto superior (BARSANTI, 2006; SENIOR, 2011). Entretanto, quando a infecção está em um local supõe-se que o outro também esteja contaminado, pois a bexiga e a uretra proximal estão intimamente ligadas (BARSANTI, 2006).

¹ Graduanda da Universidade Metodista de São Paulo – Faculdade de Saúde, Curso de Medicina Veterinária.

² Docente da Universidade Metodista de São Paulo – Faculdade de Saúde, Curso de Medicina Veterinária.

A ascensão de bactérias presentes na porção distal da uretra e sua multiplicação em locais de trato urogenital, usualmente desprovido de microbiota, frequentemente são de origem intestinal (JOHNSON *et al.*, 2003). Este fenômeno ocorre devido às alterações dos mecanismos de defesa do hospedeiro, predispondo ao parasitismo (JOHNSON, 1991; JOHNSON *et al.*, 2003).

Escherichia coli é o microrganismo mais isolado em culturas de urina de cães dentre as bactérias que causam ITU, e os relatos indicam predominância do isolamento desta bactéria em percentuais em torno de 70% (SENIOR, 2011). O trato urinário também pode ser colonizado por fungos e leveduras. Estas infecções são raras em cães e o microrganismo mais frequentemente isolado é a *Candida albicans* (BALL *et al.*, 2008; BRITO *et al.*, 2009).

Fatores como urolitíase, neoplasias, alterações do sistema nervoso, doenças como o hiperadrenocorticismismo, *diabetes mellitus* e corticosteróides, podem ocasionar susceptibilidade às infecções bacterianas do trato urinário inferior (CETIN *et al.*, 2003).

O conhecimento sobre a classificação da severidade das ITUs (agudas ou crônicas) pode ajudar na formulação do tratamento e no prognóstico (LULICH; OSBORNE, 1995). Além disso, podem ser sintomáticas ou assintomáticas, sendo a assintomática, ou oculta, comum em cães, com relatos de 9% em machos intactos e de 95% em cães com hiperadrenocorticismismo ou *diabetes mellitus* (BARSANTI, 2006; LITTMAN, 2011).

Os possíveis sinais clínicos dos cães acometidos por ITU são disúria, polaquiúria, estrangúria, hematúria e incontinência urinária, e, na maioria das vezes, não são observados sinais sistêmicos, porém quando ocorrem (febre e leucocitose), indicam que os rins também foram afetados. Entretanto, o diagnóstico não deve ser baseado exclusivamente nos sinais clínicos, pois se não for constatada a bacteriúria, não poderá ser descartada a possibilidade de infecção bacteriana, que deverá ser verificada pela urocultura (LING, 1984; BARSANTI, 2006).

A urocultura é a base laboratorial para o diagnóstico de ITU, podendo ser qualitativa (isolamento e a identificação) ou quantitativa (número de bactérias por unidade de volume, isolamento e possível identificação) (CETIN *et al.*, 2003).

Em pacientes com suspeita de ITU, o método preferido é a cistocentese, pois fornece amostras de urina livres de contaminantes vaginais e prepuciais (LITTMAN, 2011), sendo um procedimento seguro, rápido, simples de ser realizado, além de não traumático ou doloroso, se realizado de forma apropriada (LING, 2008).

A ultrassonografia, utilizada para auxiliar o diagnóstico, propicia informações quanto à topografia, dimensão,

forma, anatomia interna da bexiga e o aspecto da urina (GALLATTI; IWASAKI, 2004; BARSANTI, 2006).

Descrição do caso

Uma fêmea da espécie canina, da raça dachshund, com nove anos de idade foi atendida no Hospital Veterinário da Universidade Metodista de São Paulo, São Bernardo do Campo/SP com histórico de disúria há aproximadamente uma semana.

Foram realizados exames de bioquímica sérica, análise de cálculo e exame de ultrassonografia abdominal. Os exames de bioquímica (albumina, TGP, TGO e creatinina) não apresentaram alterações. Entretanto, na análise de cálculos, o resultado foi carbonato de cálcio/urato. No exame de ultrassom foi visualizada uma área de aspecto heterogêneo, hipocogênico e hiperecogênico, intimamente ligada, em região caudal da bexiga.

O animal foi submetido à cirurgia, encontrando-se uma massa aderida à bexiga próxima ao ureter, que foi retirada. O exame histológico efetuado revelou perda de revestimento epitelial e severa infiltração leucocitária mista e difusa de macrófagos e neutrófilos, com amplo predomínio de neutrófilos. Os urólitos de carbonato de cálcio apontados no exame de análise de cálculos também foram retirados através de sondagem.

O diagnóstico foi de cistite flegmonosa severa ou cistite purulenta, decorrente de infecção por bactérias.

Discussão

A cistite grave ou de longa duração leva frequentemente ao espessamento difuso da parede vesical, que se apresenta hiperecótica, com mucosa de superfície irregular, usualmente mais pronunciada, crânio ventralmente e, em casos graves, pode envolver toda a parede vesical (LANG, 2006). No caso relatado, o animal não apresentou parede espessada na ultrassonografia, foi observada apenas uma formação com área de aspecto hipo e hiperecogênico intimamente ligada à região caudal à bexiga, com íntima ligação.

A presença de urólitos (cálculos) ao longo do trato urinário (MAXIE; NEWMAN, 2007; OSBORNE *et al.*, 2008) é a característica de urolitíase e podem ser formados em qualquer local do sistema urinário (OSBORNE 2008; NETA; MUNHOZ, 2008). A infecção do trato urinário inferior em cadelas, por bactérias produtoras de urease, torna o pH da urina mais alcalino, predispondo a formação dos cálculos (LING *et al.*, 1998).

O exame urológico, normalmente, é suficiente para identificar tanto as doenças bacterianas, com ou sem complicações, como as demais condições neoplásicas, inflamatórias, neurológicas ou traumáticas do trato

urinário. Entretanto, os exames de rotina adotados na prática clínica, geralmente, não são suficientes para garantir o diagnóstico.

A predisposição dos cães à ITU pode ocorrer por diversos fatores, como alterações anatômicas, doenças endócrinas, metabólicas ou neurológicas, neoplasias, dentre outras (BARSANTI, 2006; SENIOR, 2011). A predisposição em relação ao sexo ainda é controversa, Osborne e Stevens (1999) e Seguin et al. (2003) afirmam que fêmeas caninas são acometidas por cistite bacteriana com maior frequência do que os machos, atribuindo-se como causa provável a proximidade entre a vulva e o ânus, e a uretra curta. Entretanto, Ferian et al. (2007) e Pappaíardo et al. (2007) relatam diversos casos clínicos com a predominância do acometimento dos machos em relação às fêmeas.

Quanto ao fator idade e raça, ainda não existe um consenso, sendo muito variável e sem associação predisponente (OSBORNE; STEVENS, 1999; NORRIS et al., 2000; CETIN et al., 2003; PAPPAÍARDO et al., 2007). Assim, diversos fatores descritos podem predispor os cães à ITU, como alterações anatômicas, doenças endócrinas, metabólicas ou neurológicas, neoplasias, dentre outras (CETIN et al., 2003; BARSANTI, 2006; SENIOR, 2011).

Os exames complementares para o diagnóstico das doenças vesicais devem incluir diagnóstico por imagem de acordo com as necessidades e conveniências (CARVALHO, 2008). A ultrassonografia auxilia no diagnóstico das infecções do trato urinário (GALLATTI; IWASAKI, 2004; LANG, 2006), e no caso relatado foi essencial para o diagnóstico e tratamento, não descartando-se também o exame histopatológico, que possibilita a diferenciação entre neoplasias e pólipos, que possuem tratamento e prognósticos diferenciados.

Conclusões

Os exames complementares aplicados ao diagnóstico das ITUs devem empregar o diagnóstico por imagem como recurso auxiliar que, neste caso, foi essencial para o diagnóstico e tratamento do animal. Entretanto, não deve ser descartado o exame histopatológico, que também fornece subsídios para o prognóstico diferenciado e tratamento adequado. 📌

Referências

BALL, K. R. et al. Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v. 49, p. 985-990, 2008.

BARSANTI, J. A. Genitourinary infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. St Louis: Saunders/Elsevier, 2006. p. 935-961.

BRITO, E. H. S. et al. Candidose na Medicina Veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2655-2664, 2009.

CARVALHO, M. B. Semiologia do sistema urinário. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. p.389-409.

CETIN, C. et al. Bacteriological examination of urine samples from dogs with syttons of urinary tract infection. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, Ankara, v. 27, p. 1225-1229, 2003.

FERIAN, P. E. et al. Estudo clínico, laboratorial e microbiológica de infecções urinárias em cães: 14 casos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, n. 2, p. 581-582, 2007.

GALLATTI, L. B.; IWASAKI, M. Estudo comparativo entre as técnicas de ultrassonografia e cistografia positiva para detecção de alterações vesicais em cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 41, n. 1, p. 3-11, 2004.

JOHNSON, J. R. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infections. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 4, p.80-128, 1991.

JOHNSON, J. R. et al. Identification of urovirulence traits in *Escherichia coli* by comparison of urinary and rectal *E. coli* isolates from dogs with urinary tract infection. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, p. 337-345, 2003.

LANG, J. Urinary tract. In: MANNION, P. **Diagnostic ultrasound in small animal practice**. Oxford: Blackwell, 2006. p. 109-144.

LING, G. V. Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of canine urinary tract. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Toronto, v. 185, n. 10, p. 1162-1164, 1984.

LING, G. V. Infecções bacterianas do trato urinário. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5. ed. São Paulo: Manole, 2008. v. 2. p. 1768-1776.

LING, G. V. et al. Renal calculi in dogs and cats: prevalence, mineral type, breed, age, and gender interrelationships (1981-1993). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 12, p. 11-21, 1998.

LITTMAN, M. P. Diagnosis of infectious diseases of the urinary tract. In: BARTGES, J.; POLZIN, D. J. **Nephrology and urology of small animals**. Ames: Wiley-Blackwell, 2011. p. 241-252.

LULICH, J. P.; OSBORNE, C. A. Bacterial infections of the urinary tract. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. 4. ed. Philadelphia: Saunders, 1995. p. 1775-1788. v. 2.

MAXIE, M. G.; NEWMAN, S. J. The urinary system. *In*: MAXIE, M. G. (ed.). **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**. 5. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. p. 425-522. v. 2.

NETA, E. S. M.; MUNHOZ, A. D. Urolitíase em cães e gatos: uma revisão. **Medvep**, Curitiba, v. 6, n. 17, p. 24-34, 2008.

NORRIS, C. R. *et al.* Recurrent and persistent urinary tract infections in dogs: 383 cases (1969-1995). **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 36, p. 484-492, 2000.

OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B. **Urinalysis**: a clinical guide to compassionate patient care. Shawnee Mission: Bayer Corporation, 1999. 214 p.

OSBORNE, C. A. *et al.* Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007:

perspectives from the Minnesota Urolith Center. **Veterinary Clinics of North America**: small animal practice, Philadelphia, v. 39, p. 183-197, 2008.

PAPPAÍARDO, M. C. F. *et al.* Estudo retrospectivo de 193 uroculturas e antibiogramas em cães e gatos. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, n. 2, p. 596-598, 2007.

SEGUIN, M. A. *et al.* Persistent urinary tract infections and reinfections in 100 dogs (1989-1999). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 17, p. 622-631, 2003.

SENIOR, D. Urinary tract infection: bacterial. *In*: BARTGES, J.; POLZIN, D. J. **Nephrology and urology of small animals**. Ames: Wiley-Blackwell, 2011. p.710-716.

THOMPSON, M. F. *et al.* Canine bacterial urinary tract infection: new developments in old pathogens. **The Veterinary Journal**, London, v. 190, p. 22-27, 2011.

Pneumonia e leptomeningite criptocócica em felino: relato de caso

Cryptococcal pneumonia and leptomeningitis in feline: a case report

Resumo

A criptococose é uma doença fúngica infecciosa, tegumentar e/ou sistêmica, crônica, de distribuição global, causada por levedura sapróbia do gênero *Cryptococcus* que pode infectar humanos, animais silvestres e mamíferos domésticos, especialmente felinos domésticos. Duas espécies estão mais diretamente envolvidas com a doença: o *Cryptococcus neoformans* e o *Cryptococcus gattii*, porém pacientes imunocomprometidos têm, como principal causador, o *Cryptococcus neoformans*. Todavia, o *Cryptococcus gattii*, além de afetar hospedeiros imunossuprimidos, também pode causar a doença em indivíduos imunocompetentes. Este relato apresenta os achados clínicos e o diagnóstico firmado com o exame histopatológico de um caso de pneumonia e leptomeningite criptocócica em um felino, macho, sem raça definida, de cinco anos de idade, atendido no Hospital Veterinário “Dr. Vicente Borelli” – do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (Unifeob).

Abstract

Cryptococcosis is a chronic, global, infectious, integumentary and/or systemic fungal disease caused by yeast from the genus *Cryptococcus* that can infect humans, wild animals and domestic mammals, especially domestic cats. Two species are most directly involved with the disease *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, but immunocompromised patients have, as the main cause, *Cryptococcus neoformans*. However, *Cryptococcus gattii*, despite affecting immunosuppressed hosts, can also cause disease in immunocompetent individuals. The present report presents the clinical findings and the diagnosis confirmed through the histopathological examination of a cryptococcal pneumonia and leptomeningitis case observed in a male feline, undefined breed, five-year-old, treated at the Veterinary Hospital “Dr. Vicente Borelli” – do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (Unifeob).

Recebido em 10 de dezembro de 2018 e aprovado em 11 de fevereiro de 2019.

Débora Quioqueti de Souza Franco¹

Gabriela Bócoli Martins de Oliveira¹

Ana Carolina de Souza Luiz²

Lucas Bessa²

Poliana Silva Beker dos Reis²

Lídia Hilderbrand Pulz³

Rua Antônio Silva Oliveira, 100,
Nova República IV
São João da Boa Vista/SP, Brasil
CEP: 13875-218
✉ debora.franco@unifeob.edu.br



Palavras-chave

Criptococose. *Cryptococcus spp.* Doença fúngica. Gatos. Histopatológico.

Keywords

Cryptococcosis. *Cryptococcus spp.* Fungal disease. Cats. Histopathological.

A criptococose é uma enfermidade fúngica, sistêmica, que acomete o homem, animais silvestres e mamíferos domésticos, em especial os felinos (GALIZA *et al.*, 2014; LOPEZ, 2013; PEREIRA *et al.*, 2013). Esta enfermidade tem como agente etiológico um fungo da classe Blastomycetes, família Cryptococcaceae, gênero *Cryptococcus* (ZACHARY, 2013). As espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* são as que habitualmente causam a doença. Tais espécies apresentam particularidades quanto à apresentação, características epidemiológicas, clínica e habitat (CANAVARI *et al.*, 2017; FIRACATIVE *et al.*, 2018; MARTINS *et al.*, 2008).

A epidemiologia da criptococose depende diretamente da espécie envolvida, mas nos indivíduos imunocomprometidos o principal agente causal é a espécie *Cryptococcus neoformans*. No entanto, a *Cryptococcus gattii*, além de afetar hospedeiros imunossuprimidos, também determina a doença em indivíduos imunocompetentes (FIRACATIVE *et al.*, 2018; GALIZA *et al.*, 2014; LAPPIN, 2015). O *C. neoformans* e o *C. gattii* parecem ter nichos ambientais distintos. O *C. neoformans*, com as variedades *neoformans* e *grubii*, tem distribuição cosmopolita e pode ser isolado de excretas de aves, principalmente pombos (*Columba livia*), solo, frutos e vegetais em decomposição (REFAI; EL-HARIRI;

¹ Pós-graduando em Propedêutica Complementar no Hospital Veterinário “Dr. Vicente Borelli” do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (Unifeob), São João da Boa Vista/SP, Brasil

² Pós-graduando em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais no Hospital Veterinário “Dr. Vicente Borelli” do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (Unifeob), São João da Boa Vista/SP, Brasil.

³ Docente e Orientadora em Propedêutica Complementar no Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (Unifeob), São João da Boa Vista/SP, Brasil.

ALAROUSY, 2017). As fezes de aves são o substrato utilizado para a multiplicação do fungo mais importante para o aparecimento de casos em seres humanos e nos animais. No ambiente urbano os pombos assumem relevante papel na epidemiologia da infecção (CANAVARI *et al.*, 2017; FARIA *et al.*, 2010; FIRACATIVE *et al.*, 2018). Entretanto, o *C. gattii* está fortemente associado com cavidades existentes em troncos de árvores, como eucalipto, cássia, jambolão, caquera, cedro e pinho (CHIESA, 2016).

Os casos de criptococose descritos em humanos e em animais podem resultar de uma mesma fonte ambiental (FIRACATIVE *et al.*, 2018; PETRAGLIA, 2008).

Animais e humanos adquirem a infecção a partir do material orgânico presente no ambiente contaminado pela levedura, que facilmente dispersa seus esporos no ar e transmite-se anemofílicamente, pois ambos adquirem a doença pela inalação de basidiósporos ou blastoconídeos do *Cryptococcus* spp (CONSENSO... , 2008; LOPEZ, 2013). No sistema respiratório ocorre a primo infecção que mais comumente afeta a cavidade nasal, e a seguir os pulmões. O fungo pode disseminar-se sistemicamente para diversos órgãos, incluindo o sistema nervoso central, tecido de aparente predileção (MENDONÇA *et al.*, 2002).

A patogênese da criptococose é determinada por três fatores principais: o *status* imunológico do hospedeiro; a virulência da estirpe; e o tamanho do inóculo. A complexidade dessas interações determina a forma de apresentação final da doença (GALIZA *et al.*, 2014; LOPEZ, 2013).

Animais com o sistema imune debilitado, à semelhança dos humanos, são os mais afetados pela criptococose (FIRACATIVE *et al.*, 2018; GALIZA *et al.*, 2014; LOPEZ, 2013). Nos animais, os estados de desnutrição (MENDONÇA *et al.*, 2002), imunossupressão causada por drogas, afecções virais ou bacterianas e outras enfermidades debilitantes, como neoplasias e graves insuficiências orgânicas, predispõem a infecção, podendo determinar maior gravidade ou pior prognóstico (PEREIRA *et al.*, 2013).

A criptococose apresenta quatro síndromes principais: respiratória, nervosa, tegumentar e ocular, com inúmeras manifestações clínicas (CANAVARI *et al.*, 2017; COELHO *et al.*, 2009; FIRACATIVE *et al.*, 2018; PETRAGLIA, 2008; RONDELLI *et al.*, 2010). As aves dificilmente desenvolvem a doença, pois sua alta temperatura corporal inibe a replicação do fungo. Em humanos, a doença geralmente apresenta uma forma generalizada com acometimento do sistema nervoso central. Em cães, a criptococose é menos frequente do que nos felinos, e manifesta-se principalmente por sintomatologia neurológica e oftálmica (COUTO, 2006; LAPPIN, 2015; NELSON), ao passo que nos felinos a forma respiratória com acometimento nasal é a mais frequente (COELHO *et al.*, 2009; LAPPIN, 2015).

Nos quadros de acometimento do sistema respiratório são referidos sintomas como anosmia, dispneia, espirros, estertores respiratórios, corrimento nasal unilateral ou bilateral, e muco purulento, seroso ou sanguinolento. Esse tipo sindrômico ocorre com mais frequência nos felinos domésticos e é visto em pelo menos 50% dos gatos acometidos. Formam-se massas firmes, nódulos, tumores ou pólipos no tecido subcutâneo, principalmente no plano e/ou espelho nasal, conferindo um aspecto característico de “nariz de palhaço”. Lesões pulmonares podem ou não resultar em manifestações clínicas, embora possam ser detectadas com o emprego de radiografias torácicas, tomografias ou em necropsias (COELHO *et al.*, 2009; LAPPIN, 2015).

No quadro neurológico da criptococose pode ser evidenciada uma meningoencefalomielite difusa ou focal ou, ainda, a formação de granulomas, estando o cortejo mórbido relacionado ao local da lesão (MARCASSO *et al.*, 2005). Nesses quadros, os animais podem apresentar depressão, desorientação, cervicalgia, ataxia, progredindo para paresia, paraplegia, convulsões, vocalização, diminuição da consciência, espasticidade, andar em círculos, anisocoria, midríase, déficit visual, cegueira, surdez e perda de olfato (COELHO *et al.*, 2009).

A criptococose tegumentar manifesta-se, comumente, nas regiões cefálica e cervical de gatos, sendo incomum em cães. As lesões consistem em nódulos, gomas únicos ou múltiplos, firmes, indolores, de crescimento rápido que tendem a ulcerar, drenar exsudato, e apresentar crostas hemorrágicas. O assentamento de deformações do plano nasal se apresenta com formações nódulo-tumorais ou mesmo em placas que originam o epônimo de “nariz de otomano ou veneziano” por aduncar o plano nasal, por vezes, assim como o acometimento do espelho nasal, que gera a denominação de “nariz de palhaço”, já referida (COELHO *et al.*, 2009; LOPEZ, 2013).

Nos quadros ópticos os achados clínicos mais frequentes são uveíte anterior, retinite granulomatosa, hemorragia de retina, edema papilar, neurite óptica, midríase, fotofobia, blefarospasmo, deslocamento retineano, opacidade de córnea, hifema e cegueira (LARSSON *et al.*, 2003).

O diagnóstico é estabelecido pelos dados colhidos na anamnese, nos achados do exame físico em que são observadas massas expansivas de material translúcido mucinoso, gelatinoso ou mesmo cárneos nariculares de gatos que são bastante característicos da enfermidade, contudo as lesões macroscópicas não são suficientes para o estabelecimento do diagnóstico definitivo (PETRAGLIA, 2008). Os achados hematológicos e bioquímicos normalmente não são específicos, e o exame radiográfico pode ou não evidenciar alterações.

A confirmação do diagnóstico da criptococose pode ser obtida com o emprego de diferentes procedimentos laboratoriais: exame citofungoscópico; sorologia; histopatológico e isolamento fúngico (COELHO *et al.*, 2009; GALIZA *et al.*, 2014; RONDELLI *et al.*, 2010).

As enfermidades de caráter inflamatório, neoplásico ou infeccioso, como infecções fúngicas algóticas, bacterianas cutâneas ou sistêmicas, encefalites, meningoencefalites e neoplasias devem ser consideradas no diagnóstico diferencial da criptococose (CHIESA, 2016; PEREIRA *et al.*, 2013).

O prognóstico de felinos acometidos pela criptococose, em que não houve comprometimento do sistema nervoso central, é reservado; já nos que apresentaram envolvimento neurológico é de reservado a mau (CHIESA, 2016).

Relato de caso

Foi atendido no Hospital Veterinário “Dr. Vicente Borelli”, do Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos (Unifeob), um felino, macho, sem raça definida, com cinco anos de idade. Na anamnese o tutor relatou que o animal convivia com outra gata saudável, ambos castrados, vacinados com vacina quádrupla e contra a raiva, não testados sorologicamente para a presença de doença retroviral (FIV/FeLV) e que há alguns dias apresentava paresia de membros posteriores. Ainda foi informado que próximo à residência havia infestação por pombos, mas os felinos não tinham acesso à rua. O animal apresentava, inicialmente, quadro emergencial de dispnéia, midríase, anisocoria, hipotensão, nistagmo horizontal e vertical, opistótomo, ausência de dor superficial

ou profunda em membros locomotores, e tetraparesia. O hemograma evidenciava leucopenia e linfopenia. Os resultados de determinações bioquímicas (ureia, creatinina, fosfatase alcalina, gama glutamil transferase e albumina) não apresentaram alterações significativas. O exame ultrassonográfico também não revelou qualquer alteração digna de nota, e a radiografia torácica evidenciou discreta densidade homogênea entre o quinto e sétimo espaços intercostais do hemitórax direito (Figura 1A e 1B).

Em 12 horas a contar do primo atendimento, o animal apresentou ataxia, distúrbios de comportamento, mostrando-se agressivo, evoluindo para parada cardiorrespiratória e óbito.

No exame necroscópico, o felino apresentava bom escore corporal e não foi observada qualquer lesão cutânea aparente, com especial atenção à face, plano e mucosa nasal. Na avaliação do sistema respiratório, foram observados dois nódulos firmes, em lobo cranial do pulmão direito, de aproximadamente 2,0 x 2,0 cm, aderidos ao parênquima pulmonar, de superfície regular e congestos.

À inspeção do encéfalo, verificou-se a hiperemia meníngea, vasos cerebrais ingurgitados e nódulos congestos em topografia correspondente ao cerebelo. Fragmentos de tecido contendo os nódulos pulmonares, do cerebelo e cérebro foram coletados, acondicionados em formol a 10% para fixação, e enviados ao Laboratório de Patologia Veterinária da Unifeob, onde foram processados e dispostos em parafina para a posterior confecção de lâminas histológicas, coradas em hematoxilina-eosina (HE) ou Ácido periódico de Schiff (PAS).

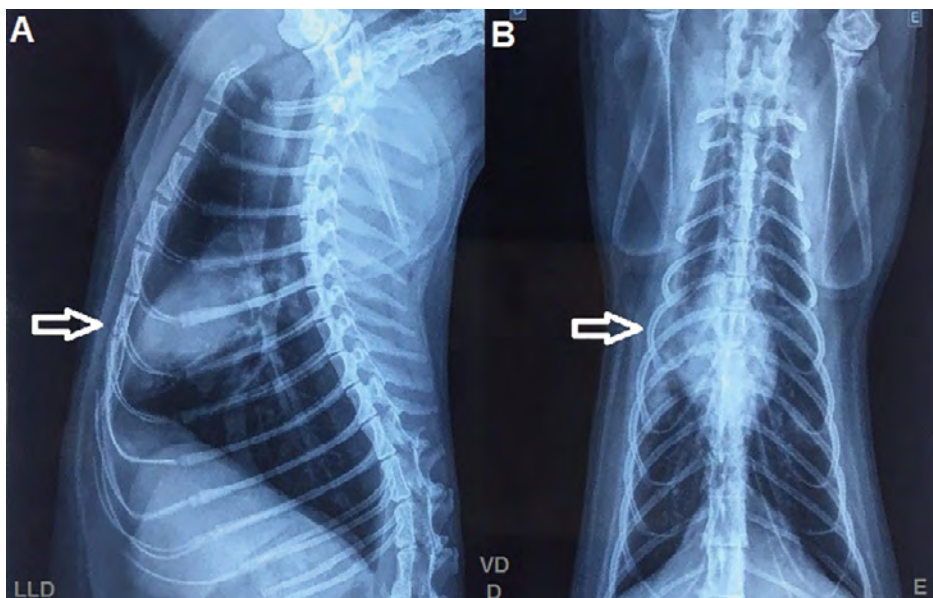


Figura 1 – Radiografia torácica de felino acometido por criptococose. **A** – Projeção látero-lateral direita do tórax, apresentando discreta densidade homogênea (seta). **B** – Projeção ventro-dorsal do tórax, evidenciando discreta densidade homogênea entre quinto e sétimo espaços intercostais do hemitórax direito (seta).

Fonte: Arquivo pessoal, São João da Boa Vista, 2018.

Na avaliação histológica do tecido pulmonar foi verificada a presença de pneumonia intersticial grave e difusa. Os septos alveolares estavam espessados com infiltrados de mononucleares e os alvéolos preenchidos com grandes macrófagos espumosos, células de revestimento alveolar esfoliadas e organismos identificados morfológicamente e tintorialmente como *Cryptococcus* spp. As inúmeras leveduras evidenciadas eram de conformação arredondadas

a ovaladas com espessa cápsula que não se corava pela coloração de HE. Algumas leveduras apresentavam um brotamento de base estreita, características de *Cryptococcus* spp, e dispunham-se nos espaços aéreos alveolares e bronquiolares, bem como no interstício (Figura 2B). Também foi constatada a invasão vascular por leveduras (Figura 4), que causaram possível embolização com consequente acometimento do sistema nervoso.

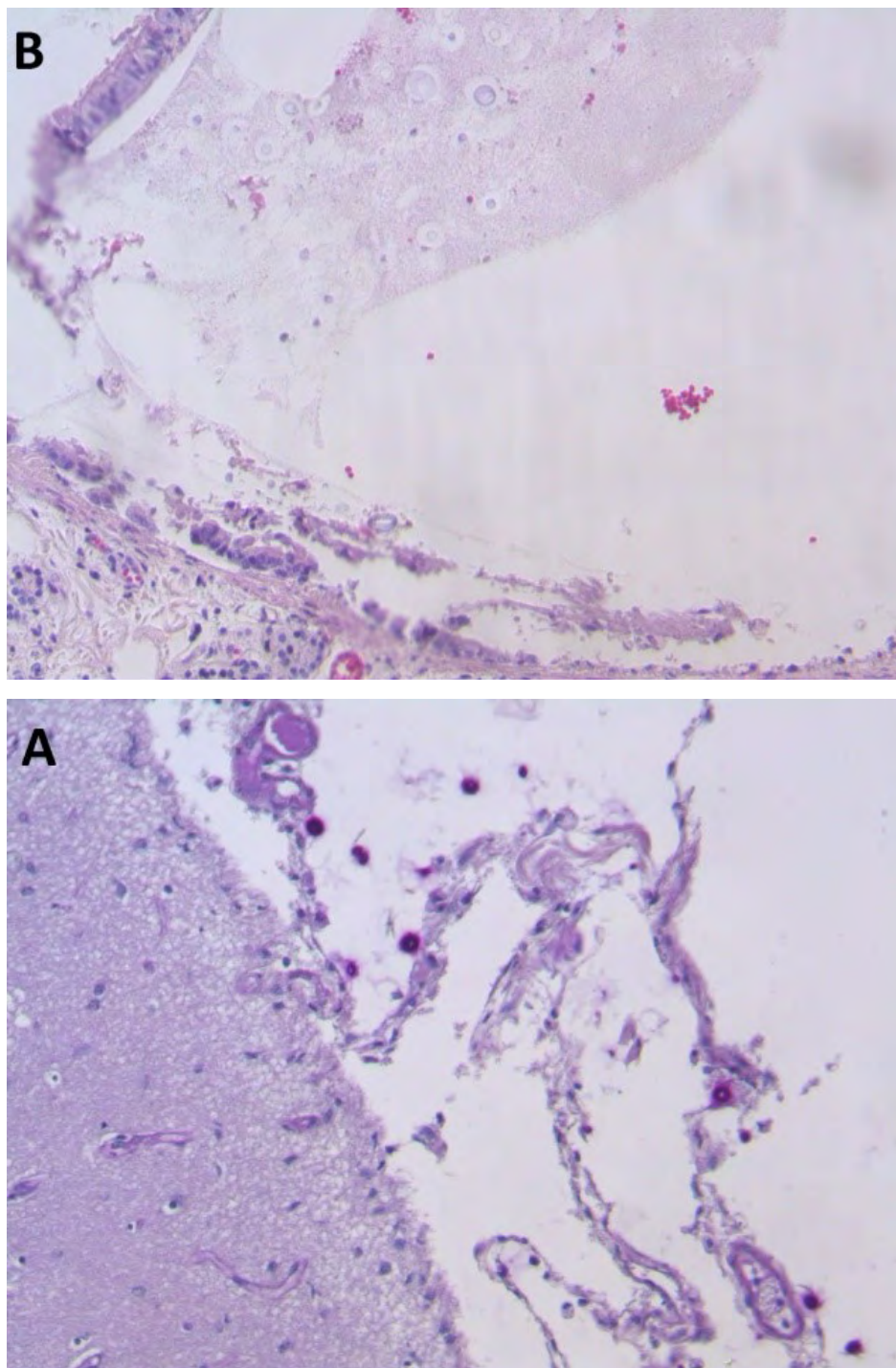


Figura 2 – Pneumonia fúngica granulomatosa causada por *Cryptococcus* spp. **A** – Coloração PAS evidenciando as leveduras fortemente coradas em violáceo (PAS; aumento de 20x). **B** – Leveduras de *Cryptococcus* spp., arredondadas, com célula central circundada por uma cápsula não corada pelo HE, conferindo ao tecido um aspecto de “lesão em bolha de sabão” (HE; aumento de 20x).

Fonte: Arquivo pessoal, São João da Boa Vista, 2018.

Nos fragmentos de cérebro e cerebelo, as leveduras redondas, por vezes com brotamento, de 5 a 20 µm de diâmetro, também estavam presentes, localizando-se principalmente no espaço subaracnóideo. Um infiltrado inflamatório composto, principalmente, por macrófagos espumosos e discreta congestão vascular, característico de um quadro de leptomeningite criptocócica, apresentava-se entremeadado às leveduras (Figura 3B).

A coloração de PAS, além de possibilitar uma melhor visualização dos componentes estruturais das leveduras, cápsula ou a célula propriamente dita, também facilitou a visualização da invasão e disseminação do agente em diversos órgãos e tecidos. A parede das células era positiva ao PAS com halo central, intensamente corado, circundado por uma camada levemente violácea (Figura 2A e 3A).

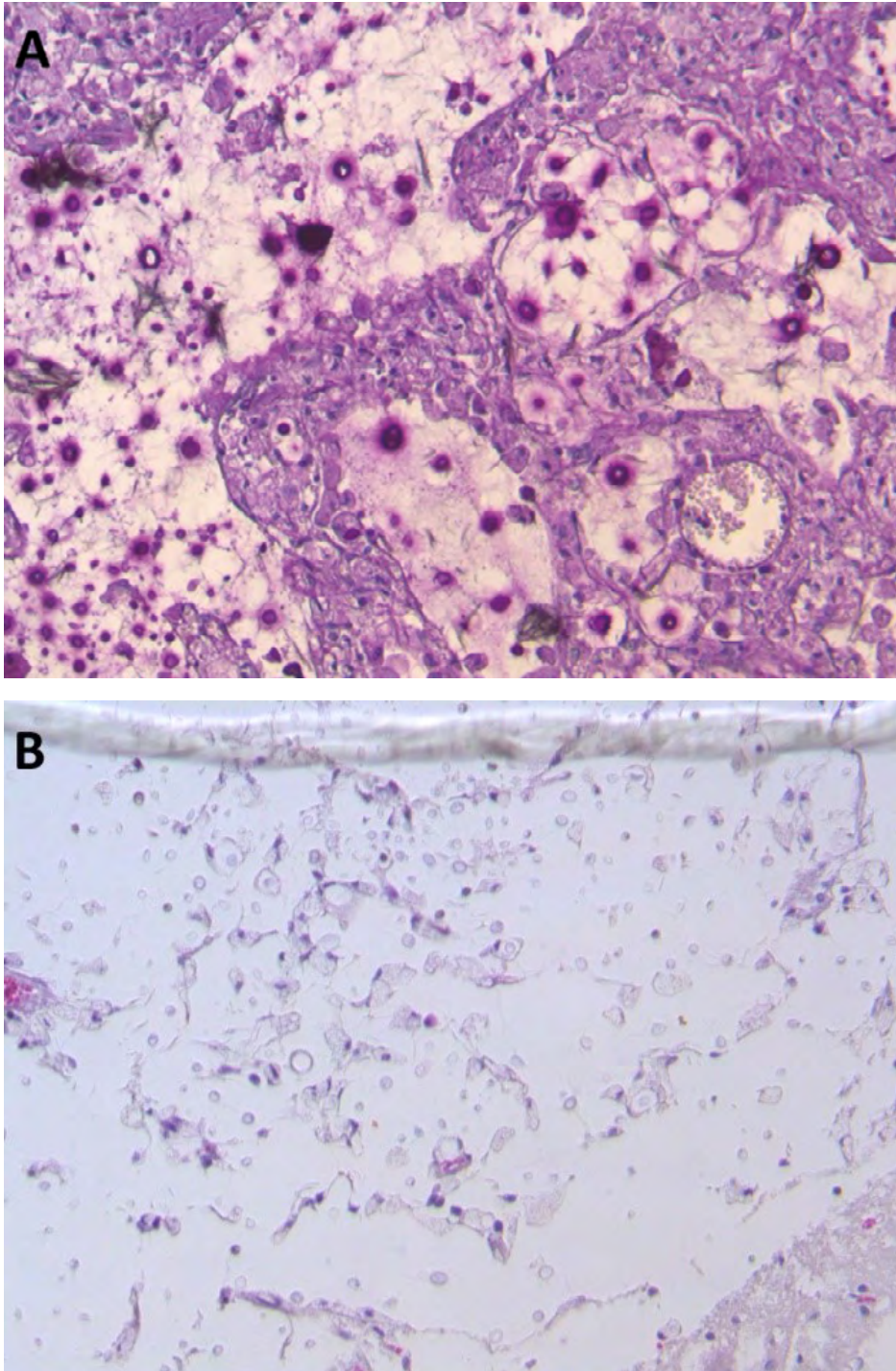


Figura 3 – Leptomeningite criptocócica. **A** – Leveduras no espaço sub-aracnoideo, fortemente coradas em violáceo pela coloração de PAS (PAS; aumento de 20x). **B** – Leveduras com cápsula espessa não coradas pelo HE, características de *Cryptococcus* spp. localizados no espaço subaracnóideo (HE; aumento de 20x).
Fonte: Arquivo pessoal, São João da Boa Vista, 2018.

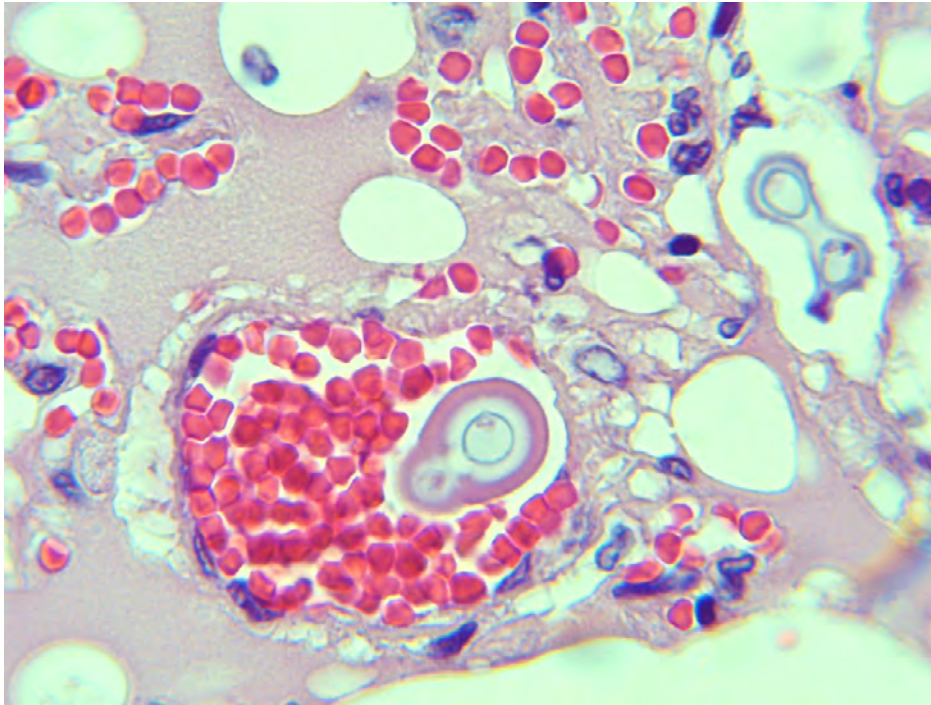


Figura 4 – Invasão vascular por *Cryptococcus* spp. (HE; aumento de 100x).
Fonte: Arquivo pessoal, São João da Boa Vista, 2018.

Discussão

Neste caso não foi observada a forma clássica da criptococose felina, que tipicamente apresenta: comprometimento rostral da cavidade nasal; secreção nasal, uni ou bilateral; distorção do plano nasal, caracterizando os clássicos sinais de “nariz de otomano” ou “nariz de palhaço”; ou edema subcutâneo na ponte nasal (MEDLEAU; BARSANTI, 1990; CHIESA, 2016). Corroborando o referido por Faria et al. (2010), foram visualizadas alterações inespecíficas, com lesões distribuídas em diversos órgãos, podendo mimetizar outras afecções.

Este relato envolveu um felino macho, em concordância com Malik et al. (1992), Gerds-Grogan e Dayrell-Hart (1997) e Petraglia (2008), que relatam a maior frequência da ocorrência da criptococose em gatos machos com uma ampla faixa etária envolvida (MALIK *et al.*, 1992; MEDLEAU; BARSANTI, 1990), contudo os animais com idade superior a quatro anos (62%) são os mais acometidos (PETRAGLIA, 2008).

Coelho et al. (2009) relataram que o envolvimento do sistema nervoso central (SNC) ocorre em, aproximadamente, 25% dos gatos afetados pela criptococose. Neste relato, as manifestações clínicas foram relativamente inespecíficas e as lesões pulmonares, com subsequentes alterações neurológicas, foram responsáveis pela sintomatologia apresentada. Considerando que no quadro de neurocriptococose as vias aéreas são a principal porta de entrada do *Cryptococcus* spp., as manifestações clínicas são muito diversas, apresentando-se como

uma infecção assintomática até uma grave pneumonia (CHAYAKULKEEREE; PERFECT, 2008).

Na espécie humana, a principal condição predisponente para infecções fúngicas envolve as doenças causadoras de imunodeficiência, particularmente o vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/AIDS). Tem sido postulado que a infecção por FIV e/ou FeLV, também, poderia predispor os gatos à infecção por *Cryptococcus* (GERDS-GROGAN; DAYRELL-HART, 1997, JACOBS *et al.*, 1997).

Pinto (2010) refere que a neurocriptococose ocorre principalmente em indivíduos com imunossupressão avançada, e que o fungo invade o SNC devido ao local apresentar substratos que favorecem sua multiplicação, por ser um sítio imuno privilegiado, bem como pela existência de receptores do fungo nas células neuronais.

Neste caso, não foi determinado sorologicamente a presença concomitante de doença retroviral, entretanto deve-se considerar que nenhum estudo de caso/controlado forneceu evidências convincentes de que gatos com infecção crônica por FIV e FeLV apresentam maior incidência de doenças infecciosas (WALKER; MALIK; CANFIELD, 1995).

Nos casos de neurocriptococose recomenda-se a pesquisa dos esporos no líquido cefalorraquidiano (LCR). O LCR encontra-se comumente com hiperproteinorraquia e hipoglicorraquia, além de pleocitose. O diagnóstico padrão-ouro em pacientes vivos é realizado pela visualização direta das estruturas do fungo (cápsula espessa) no LCR, em lavado brônquico, lesões cutâneas e em mucosas,

urina e material provindo de punção de medula óssea, além de sua confirmação com o crescimento em cultura e no histopatológico (DARZÉ, 1999). O felino, deste relato, já foi trazido para atendimento veterinário com a doença disseminada e alterações neurológicas importantes, não sendo possível a realização de procedimento anestésico para punção de medula, coleta de LCR ou lavado traqueobrônquico. O paciente evoluiu com perda progressiva de funções neurológicas e choque. A criptococose e suas complicações, principalmente as do SNC, colocam os pacientes em evidente risco de vida (RUAS *et al.*, 2015).

Após o óbito, o diagnóstico definitivo pode ser realizado com base nas alterações histopatológicas (GALIZA *et al.*, 2014). Para o exame histopatológico amostras teciduais podem ser coradas em HE, mucicarmim de Mayer ou PAS (CHIESA, 2016; GALIZA *et al.*, 2014; QUEIROZ *et al.*, 2008), tal como foi efetuado neste relato.

A espessa cápsula de polissacarídeos do *Cryptococcus* spp. não se cora pela HE, apresentando a área de maior magnitude de assentamento leve dúpico um aspecto característico de “bolhas de sabão” (ZACHARY, 2013; GALIZA *et al.*, 2014). A cápsula pode ser visualizada histologicamente pela coloração de PAS, o que permite a observação da invasão tecidual nos órgãos e a visualização das estruturas das leveduras. Dessa forma, a morfologia típica do fungo permite o estabelecimento do diagnóstico definitivo de criptococose por microscopia (PEREIRA *et al.*, 2013; ZACHARY, 2013; GALIZA *et al.*, 2014). No exame histopatológico, o padrão morfológico do fungo, observado neste caso, foi semelhante ao descrito por outros autores. Infelizmente não foram tentados o cultivo, isolamento e a caracterização bioquímica e molecular do patógeno.

Conclusão

A dificuldade na formulação de um diagnóstico presuntivo de criptococose pode estar diretamente associada à diversidade em sua apresentação clínica e na distribuição das lesões. Neste caso o diagnóstico foi dificultado devido ao animal não ter apresentado a forma mais comumente encontrada em felinos. Deste modo, a confirmação obtida com o histopatológico foi relevante para o estabelecimento do diagnóstico definitivo da criptococose. 📌

Referências

CANAVARI, I. C. *et al.* Criptococose: revisão de literatura. **Revista Eletrônica de Veterinária**, Málaga, n. 18, n. 9, p. 1-5, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/2X6lpwW>. Acesso em: 2 set. 2018.

CHAYAKULKEEREE, M.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. *In*: HOSPENTHAL, D. R.; RINALDI, M. G. **Diagnosis and treatment of human mycoses**. Totowa: Humana Press, 2008. p. 255-276. Disponível em: <https://bit.ly/2HAGM12>. Acesso em: 2 set. 2018.

CHIESA, S. C. Criptococose. *In*: LARSSON, L. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. São Caetano do Sul: Interboock, 2016. p. 94-281.

CONSENSO em criptococose: 2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 5, p. 524-544, 2008. Disponível em: <https://bit.ly/2EwIUWR>. Acesso em: 3 set. 2018.

COELHO, H. E. *et al.* Meningite felina associada à *Cryptococcus neoformans* no município de Uberaba-MG: relato de caso. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 15, n. 1, p. 29-34, 2009. Disponível em: <https://bit.ly/2QoXJOD>. Acesso em: 10 out. 2018.

DARZÉ, C. *et al.* Fatores prognósticos da meningoencefalite criptocócica. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, São Paulo, v. 57, n. 3, p. 649-652, 1999. Disponível em: <https://bit.ly/2WuX580>. Acesso em: 10 out. 2018.

FARIA, R. O. *et al.* Ocorrência de *Cryptococcus neoformans* em excretas de pombos na cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 2, p. 198-200, 2010. Disponível em: <https://bit.ly/2M3K94D>. Acesso em: 2 set. 2018.

FIRACATIVE, C. *et al.* The status of cryptococcosis in Latin America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 113, n. 7, 2018. Disponível em: <https://bit.ly/2JC317R>. Acesso em: 2 set. 2018.

GALIZA, G. J. N. *et al.* Características histomorfológicas e histoquímicas determinantes no diagnóstico da criptococose em animais de companhia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 3, p. 261-269, 2014. Disponível em: <https://bit.ly/2QJJA4N>. Acesso em: 2 nov. 2018.

GERDS-GROGAN, S.; DAYRELL-HART, B. Feline cryptococcosis: a retrospective evaluation. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 33, p. 118-122, 1997. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9111720>. Acesso em: 16 out. 2018.

JACOBS, G. J. *et al.* Cryptococcal infection in cats: factors influencing treatment outcome, and results of sequential serum antigen titers in 35 cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 11, p. 1-4, 1997. Disponível em: <https://bit.ly/2K2Nj6f>. Acesso em: 23 out. 2018.

LAPPIN, M. R. Criptococose. *In*: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 1360-1363.

LARSSON, C. E., *et al.* Canine ocular cryptococcosis: a case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 5, p. 533-538, 2003. Disponível em: <https://bit.ly/2YQXPSn>. Acesso em: 2 set. 2018.

LOPEZ, A. Sistema respiratório, mediastino e pleuras. *In*: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 532-533.

- MALIK, R. *et al.* Cryptococcosis in cats: clinical and mycological assessment of 29 cases and evaluation of treatment using orally administered fluconazole. **Journal of Medical and Veterinary Mycology**, Abingdon, v. 30, p. 133-144, 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1588463>. Acesso em: 10 out. 2018.
- MARCASSO, R. A. *et al.* Criptococose no sistema nervoso de cães: relato de três casos. **Semina: ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 229-238, 2005. Disponível em: <https://www.redalyc.org/html/4457/445744076014/>. Acesso em: 27 out. 2018.
- MARTINS, D. B. *et al.* Diagnóstico de criptococose canina pela citologia aspirativa por agulha fina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 826-829, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n3/a39v38n3.pdf>. Acesso em: 10 out. 2018.
- MEDLEAU, L.; BARSANTI, J. A. Cryptococcosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: WB. Saunders, 1990. p. 687-695.
- MENDONÇA, C. S. *et al.* Criptococose na cavidade oral de um gato doméstico: relato de caso. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 5, n. 2, p. 257-263, 2002. Disponível em: <https://bit.ly/2HBUdhf>. Acesso em: 11 out. 2018.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.
- PEREIRA, M. F. *et al.* Aspectos clínicos e anatomopatológicos da criptococose nasal com disseminação sistêmica em cão: relato de caso. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 7, n. 2, p. 7-15, 2013. Disponível em: <https://bit.ly/2X6J0dU>. Acesso em: 16 out. 2018.
- PETRAGLIA, F. **Relato de um caso de criptococose em gato**. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais) – Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: <https://bit.ly/2X5hjlu>. Acesso em: 2 set. 2018.
- PINTO, L. I. S. **A criptococose meníngea em doentes com infecção HIV**. 2010. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, 2010. Disponível em: <https://bit.ly/2wvf73vo>. Acesso em: 28 out. 2018.
- QUEIROZ, J. P. A. F., *et al.* Criptococose: uma revisão bibliográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 2, n. 2, p. 32-38, 2008. Disponível em: <https://bit.ly/2Qitysk>. Acesso em: 1 nov. 2018.
- REFAI, M.; EL-HARIRI, M.; ALAROUSY, R. Cryptococcosis in animals and birds: a review. **European Journal of Academic Essays**, [S. l], v. 4, n. 8, p. 202-223, 2017. Disponível em: <https://bit.ly/2K1lfQz>. Acesso em: 17 out. 2018.
- RONDELLI, M. C. H. *et al.* Criptococose diagnosticada por *imprints* de lesões em mucosa oral em cão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1271-1274, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v62n5/35.pdf>. Acesso em: 2 set. 2018.
- RUAS, P. A. S. *et al.* Relato de caso de neurocriptococose em paciente hebiátrico HIV positivo. **Revista Educação em Saúde**, Anápolis, v. 3, n. 1, p. 111-114, 2015. Disponível em: <https://bit.ly/2X0kvz2>. Acesso em: 24 maio 2019.
- WALKER, C.; MALIK, R.; CANFIELD, P. J. Analysis of leucocytes and lymphocyte subsets in cats with naturally-occurring cryptococcosis but differing feline immunodeficiency virus status. **Australian Veterinary Journal**, Oxford, v. 72, p. 93-97, 1995. Disponível em: <https://eurekamag.com/pdf/002/002563560.pdf>. Acesso em: 16 set. 2018.
- ZACHARY, J. F. Sistema nervoso. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 810-811.

O uso da dimetilarginina simétrica (SDMA) no diagnóstico e estadiamento da doença renal crônica em felinos: revisão de literatura

Symmetrical dimethylarginine (SDMA) use in diagnostic and staging of chronic kidney disease in felines: a literature review

Resumo

O objetivo desta revisão de literatura é descrever os testes laboratoriais utilizados rotineiramente na clínica de pequenos animais para a detecção da doença renal crônica (DRC) em felinos, enfatizando o diagnóstico precoce desta afecção pela utilização de uma nova ferramenta laboratorial, a dimetilarginina simétrica (SDMA). A DRC caracteriza-se pela perda progressiva e irreversível dos néfrons, sendo a filtração a função mais básica dos rins, correlacionada, assim, à taxa de filtração glomerular (TFG) e à massa renal funcional. Embora a mensuração da taxa de filtração glomerular seja método de referência para a avaliação da função renal, seu uso infrequente permite o uso de marcadores alternativos, como a concentração de uréia e creatinina séricas. O SDMA é uma molécula estável, sendo amplamente excretado pelo rim, o que o torna um bom candidato à biomarcador renal, pois seu tamanho e carga permitem que seja livremente excretado por filtração glomerular. A dosagem do SDMA é extremamente precisa, sendo o diagnóstico precoce de DRC possível atualmente, intervenções renoprotetoras que retardam seu progresso, ou visam estabilizar a doença, são possíveis.

Abstract

The purpose of this literature review is to describe laboratory tests routinely used in the small animal clinic for the detection of chronic kidney disease in felines, emphasizing the early diagnosis of this condition using a new laboratory tool for symmetrical dimethylarginine (SDMA). Chronic Kidney Disease (CKD) is characterized by the progressive and irreversible loss of the nephrons, which is the most basic function of the kidneys, correlated with the glomerular filtration rate (GFR) and the functional renal mass, respectively. Although the measurement of TF glomerular filtration rate is a reference method for the evaluation of renal function, its infrequent use allows the use of alternative markers such as serum urea and creatinine concentration. SDMA is a stable molecule, being widely excreted by the kidney, which makes it a good candidate for renal biomarker because its size and load allow it to be freely excreted by glomerular filtration. The SDMA dosage is extremely accurate, with the early diagnosis of CKD being currently possible, thus allowing for renoprotective interventions that delay its progress or aim to stabilize the disease.

Recebido em 25 de abril de 2018 e aprovado em 28 de janeiro de 2019.

Patrícia Pietro Lourenço¹
Karina D'Elia Albuquerque²

Rua Maria Carlota, 94, casa 4
São Paulo/SP, Brasil
CEP: 03647-000
✉ patricialorenc1@gmail.com



Palavras-chave

SDMA. Doença renal crônica. Felinos.
Estadiamento.

Keywords

SDMA. Chronic kidney disease. Feline.
Staging.

Adoença renal crônica (DRC) é uma das principais causas de morbidade em gatos, especialmente à medida que envelhecem, sendo sua prevalência recentemente identificada e estimada em 1 a 3% nos felinos; dentre estes 30% têm mais de 15 anos de idade ao diagnóstico (ROBERTSON; DAVIS, 2015). Segundo Jericó, Kogika e Andrade Neto (2015) a prevalência de DRC nos felinos é aproximadamente duas a três vezes maior do que em comparação com cães.

Considera-se DRC quando há perda da funcionalidade renal, que se deve a lesões estruturais irreversíveis, levando à destruição de pelo menos 75% dos néfrons funcionais em ambos os rins (MCGAVIN; ZACHARY, 2013).

O diagnóstico e manejo da DRC é uma realidade rotineira na prática clínica de pequenos animais. A IRIS (Internacional Renal Interest Society) formulou as diretrizes da DRC para um estadiamento e tratamento dos pacientes, padronizando práticas de manejo e de diagnóstico (DIAS, 2014; NELSON; COUTO, 2015).

Ainda que a DRC seja uma patologia de caráter progressivo, o diagnóstico antecipado permite que intervenções renoprotetoras atrasem sua progressão (ROBERTSON; DAVIS, 2015; SANTOS, 2017).

¹ Graduanda da Universidade Guarulhos (UNG) Ser Educacional.

² Docente da disciplina de Clínica de pequenos animais da Universidade Guarulhos (UNG) Ser Educacional.

A dimetilarginina simétrica (SDMA) é um novo biomarcador renal preciso para calcular TGF estimado em humanos, sendo mais sensível do que creatinina sérica para avaliar a disfunção renal (RELFORD; ROBERTSON; CLEMENTS, 2016), permitindo um diagnóstico precoce e já incluído como parte das diretrizes IRIS, modificadas em 2015, para estadiamento da DRC precoce e avançada (HALL *et al.*, 2017).

Esta revisão de literatura visa descrever os testes laboratoriais utilizados rotineiramente na clínica de pequenos animais para a detecção da doença renal crônica, e exalta o diagnóstico precoce pela utilização de uma nova ferramenta laboratorial, a SDMA, sendo hoje o método diagnóstico mais eficaz na detecção da DRC, permitindo uma intervenção precoce do clínico antes destes animais atingirem os estágios finais da DRC.

Doença renal crônica em felinos

Anatomia e fisiologia renal

Os rins, nos mamíferos, são órgãos pareados, complexos que desempenham função de excreção, metabolismo, secreção e regulação (MCGAVIN; ZACHARY, 2013). Recebem aproximadamente 25% do débito cardíaco, desempenham a manutenção da homeostase do organismo, além da produção de hormônios que regulam a pressão arterial sistêmica e a produção de eritrócitos (KLEIN, 2014).

A organização funcional e anatômica dos rins, como demonstrado na Figura 1, é composta por lóbulos, onde cada lóbulo representa uma coleção de néfron, sendo o parênquima renal composto por córtex e medula, e, assim, uma relação corticomedular de aproximadamente 1:2 ou 1:3 nos mamíferos domésticos (MCGAVIN; ZACHARY, 2013). O néfron é a unidade funcional do rim, composto de glomérulo, túbulo contorcido proximal, alça de Henle, túbulo contorcido distal e ducto coletor (KLEIN, 2014).

Os gatos possuem cerca de 200.000 néfrons por rim, sendo a urina formada no interior de cada néfron em três etapas: a filtração glomerular, a reabsorção tubular e a secreção tubular. Uma das funções mais importantes do rim é a manutenção do equilíbrio hídrico do organismo (MCGAVIN; ZACHARY, 2013; JERICÓ; KOGIKA; ANDRADE NETO, 2015).

A taxa de filtração glomerular (TFG) se relaciona com a massa renal funcional, ou seja, ao número de néfrons funcionais, sendo este o volume de plasma filtrado pela cápsula de Bowman do capilar glomerular por unidade de tempo (JERICÓ; KOGIKA; ANDRADE NETO, 2015). Os rins mantêm a TFG em um nível relativamente constante, apesar de alterações na pressão arterial sistêmica e

no fluxo sanguíneo renal, sendo mantida dentro de uma variação fisiológica pela modulação renal da pressão arterial sistêmica e do volume intravascular, feitos pelo controle intrínseco do fluxo sanguíneo renal e da pressão dos capilares glomerulares (KLEIN, 2014).

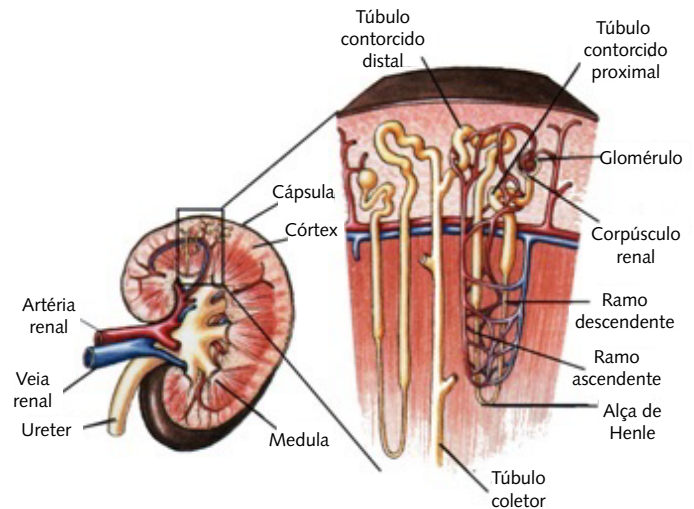


Figura 1 – Rim. A) Corte longitudinal do rim que ilustra sua morfologia e circulação; B) Disposição dos néfrons corticais e justamedulares.
Fonte: Cheida, 2003.

O sistema renina-angiotensina-aldosterona é um importante regulador da TFG e do fluxo sanguíneo renal. A renina é um hormônio liberado pela estimulação decorrente da redução na pressão de perfusão renal, mais frequentemente causada por uma hipotensão sistêmica (MCGAVIN; ZACHARY, 2013).

Valores dentro da normalidade da TGF em felinos são de 2 a 4 ml/min/kg. Estes são dependentes do fluxo sanguíneo renal adequado, do número de néfrons funcionais e da pressão sanguínea tanto tubular como intersticial, sendo assim um método não tão simples de ser mensurado (THRALL *et al.*, 2015).

A DRC caracteriza-se pela perda progressiva e irreversível dos néfrons e tem evolução insidiosa evoluindo progressivamente para uremia, insuficiência renal crônica (IRC) e falência renal (SANTOS, 2017).

Estadiamento renal

Calcula-se que, aproximadamente, um a cada três gatos desenvolverão alguma forma de doença renal, sendo que o quanto antes for detectado a doença renal torna-se possível uma intervenção pelo melhor tratamento para cada paciente em estágios menos avançados da doença, sendo hoje este teste já disponível a todos os veterinários a partir do laboratório IDEXX (IDEXX LABORATORIES, 2017).

Embora a mensuração direta da TFG seja amplamente aceita como método de referência para a avaliação da função renal, os clínicos frequentemente usam marcadores

de substituição, como a concentração de uréia e creatinina séricas para determinar a adequação da TFG (BROWN, 2016).

A determinação da concentração de creatinina plasmática repetida em pelo menos duas ocasiões, estando o animal estável, em jejum alimentar e hidratado não detectaram diminuições leves a moderadas na TFG (AUGUST, 2011; DIAS, 2014; INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2016).

As variações de creatinina transitórias pré-renais ou pós-renais devem ser descartadas mesmo que haja o diagnóstico já estabelecido de DRC, bem como levar em consideração a condição corpórea do paciente, especialmente a massa muscular, para evitar a ocorrência de classificação errônea (GALVÃO et al., 2010).

Exames laboratoriais

A creatinina plasmática é derivada, praticamente em sua totalidade, do catabolismo da creatina presente nos tecidos musculares, classificado com um metabólito utilizado para armazenar energia no músculo sob a forma de fosfocreatina. A utilização dessa reserva muscular ocorre de maneira constante e irreversível, com uma produção de aproximadamente 2% ao dia, proporcional à massa muscular, tendo uma produção constante de creatinina (JERICÓ; KOGIKA; ANDRADE NETO, 2015).

A concentração sérica de creatinina não é capaz de detectar graus leves de perda da função renal, decorrente da sua baixa sensibilidade, inviabilizando sua mensuração como método de diagnóstico precoce, sendo viável em pacientes com redução a partir de 75% na TFG, indicando acometimento renal de intensidade moderada a grave (POLETTI, 2016).

A análise laboratorial da urina pode oferecer informações sobre a natureza da disfunção renal, auxilia no diagnóstico de inflamação das vias urinárias, disfunção tubular renal e doença glomerular, também permite uma detecção mais precoce desta quando comparada aos testes sanguíneos (DONGEN; HEIENE, 2013).

A densidade específica urinária é um método de triagem bem utilizado para detecção em alterações na capacidade de concentração urinária. Esta é definida como o peso de uma solução comparado ao mesmo volume de água, sendo quantificado por refratometria (POLETTI, 2016).

O estado inicial de hidratação do paciente deve ser sempre interpretado diante da densidade específica urinária. A urina diluída pode ser normal em pacientes com hiper-hidratação, pois os rins tentam eliminar o excesso de água existente (THRALL, et al., 2015).

No caso de urinálise seriadas revelarem densidade específica urinária entre 1,007 e 1,013 há indicativo de que os rins não estão concentrando nem diluindo o filtrado

glomerular, ou seja, a urina é isostenúrica com relação ao plasma sanguíneo, podendo estar associada à DRC com deficiência parcial da função renal ou diminuição da capacidade de retenção de água (ELLIOTT; BROWN, 2004).

Seguindo o estadiamento, a IRIS recomenda que os pacientes sejam subestadiados, sempre que possível, de acordo com outros dois fatores importantes: a quantidade de proteína excretada na urina e a pressão arterial sistêmica (ELLIOTT; WATSON, 2010; FREITAS, 2010).

A avaliação destes parâmetros se torna aconselhável, pois cada um deles pode ocorrer separadamente ou em conjunto em qualquer estágio da DRC, além de ambos serem considerados fatores de risco de lesão renal progressiva, nos quais a proteinúria e a hipertensão podem influenciar no prognóstico do paciente (POLZIN et al., 2010).

Dimetilarginina Simétrica (SDMA)

Devido ao uso infrequente da medição direta de TFG na prática veterinária e das limitações da disponibilidade de marcadores para função renal, métodos alternativos têm sido utilizados para o diagnóstico da DRC em felinos (BRAFF et al., 2014).

A SDMA e a dimetilarginina assimétrica (ADMA) foram isoladas a partir de urina humana por Kakimoto e Akazawa (1970). Eles descobriram que a excreção desses compostos não era de fontes dietéticas, pensando-se, então, em uma fonte endógena (YERRAMILI et al., 2016).

Em 1992, Vallance et al. (1992) relataram um aumento de oito vezes nos níveis combinados de ADMA e SDMA no soro de pacientes com hemodiálise, e Marescau et al. (1997) relataram que as concentrações de SDMA em soro e urina correlacionaram-se com o grau de insuficiência renal em pacientes não diagnosticados com DRC, sugerindo que o SDMA sérico era um bom indicador para o início da disfunção renal.

A arginina é um aminoácido essencial condicional, e na maioria dos animais a modificação pós-tradução dos grupos de proteína arginina ocorre nas mitocôndrias, envolvendo a enzima proteína arginina metiltransferase, que resulta em dois isômeros estruturais, SDMA e ADMA, e são lançados em circulação após a proteólise (BRAFF et al., 2014; YERRAMILI et al., 2016).

O ADMA é amplamente eliminado por hidrólise enzimática, aproximadamente 80%, já o SDMA é eliminado principalmente através dos rins, por filtração e excreção renal, portanto, as concentrações circulantes são especialmente afetadas por alterações na TFG e, assim, correlacionadas com a função renal, sugerindo o mesmo como candidato ideal para um marcador endógeno da função renal, substituto à creatinina (NABITY et al., 2015). As estruturas moleculares da ADMA e do SDMA são mostradas na Figura 2.

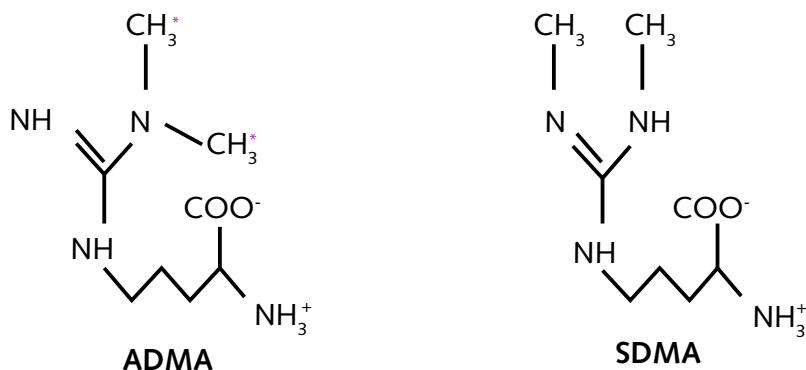


Figura 2 – Estrutura molecular da ADMA e SDMA.
Fonte: Relford; Robertson; Clements, 2016.

A SDMA é uma molécula estável, de baixo peso molecular (202 g/mol), originada de proteínas intracelulares que desempenham um papel fundamental no metabolismo celular básico, sendo produzidas no núcleo de todas as células (KIELSTEIN *et al.*, 2006; RELFORD; ROBERTSON; CLEMENTS, 2016).

O SDMA é amplamente excretado pelo rim, o que o torna um bom candidato à biomarcador para a função renal, pois seu tamanho e carga permitem que seja livremente excretado por filtração glomerular, enquanto que, segundo Relford, Robertson e Clements (2016), a ADMA é altamente dependente de proteínas e sofre um metabolismo extenso por enzima específica.

Schwedhelm e Boger (2011) estimaram que a excreção renal de SDMA fosse maior ou igual a 90%, por sua extensa depuração renal explicando sua correlação com outros marcadores de depuração renal e seu potencial adequado como biomarcador endógeno do rim.

IDEXX SDMA™ é um novo teste que auxilia na avaliação da função renal, pois os níveis sanguíneos de SDMA elevam-se antes que ocorra elevação da creatinina, e ao contrário desta, o SDMA não é afetado pela perda de massa corporal magra. SDMA e creatinina devem ser interpretados em conjunto, e em associação a urinálise, para uma avaliação adequada da saúde renal (IDEXX LABORATORIES, 2017).

Estudos com gatos já diagnosticados com DRC correlacionam a sensibilidade do SDMA comparado com a creatinina sérica, sendo SDMA aumentado em felinos com queda na TFG, e mostrando a dosagem de creatinina em queda com a idade avançada, diferentemente do SDMA, que persistiu em valores mais elevados (BRAFF *et al.*, 2014; NABITY *et al.*, 2015).

Um aumento persistente do SDMA acima de 14 µg/dl sugere uma redução na função renal. Estes dados foram sugeridos a partir de um levantamento realizado com 86 gatos adultos clinicamente saudáveis, com idade

entre 6 a 15 anos, compreendendo ambos os sexos, variadas raças e com peso entre 3,0 e 9,0 kg (IDEXX LABORATORIES, 2017; RELFORD; ROBERTSON; CLEMENTS, 2016).

A dosagem de SDMA por cromatografia líquida com espectrômetro de massa (LC-MS) é extremamente preciso e atualmente considerado o *Gold standard* (BROWN, 2016); o que difere no caso de humanos, no qual utiliza-se o teste de ELISA e valor de “e” em mol/L (NASCIMENTO *et al.*, 2017).

O teste IDEXX SDMA é um imunoenensaio homogêneo competitivo, de alto rendimento, que utiliza um conjugado de glucose-6-fosfato desidrogenase e anticorpo monoclonal anti-SDMA para quantificar o mesmo em soro ou plasma (RELFORD; ROBERTSON; CLEMENTS, 2016).

Segundo Schwedhelm e Boger (2011), a técnica é especialmente útil quando se desenvolve um imunoenensaio para uma pequena molécula de biomarcador, como SDMA, que é menos imunogênica.

Um aumento persistente da SDMA acima de 14 µg/dl sugere redução da função renal, se ambos, o SDMA e a creatinina, estão dentro do intervalo de referência, então, a função renal está, provavelmente, dentro da normalidade. Conforme o SDMA e/ou a creatinina se aproximam do limite superior do intervalo de referência, a presença de doença renal em estágio inicial não pode ser completamente descartada (IDEXX LABORATORIES, 2017).

Hall *et al.* (2015) constataram que em média nos felinos a precocidade de diagnóstico ocorre em torno de 15 meses, sendo esta já relatada comum em alguns locais, permitindo, assim, o monitoramento de pacientes nefropatas que possuem dosagens séricas de creatinina dentro do intervalo de referência para a espécie.

De acordo com os resultados obtidos da dosagem de SDMA e creatinina sérica, o laboratório de referência IDEXX sugere as seguintes condutas, como demonstrado na Tabela 1.

	ESTÁGIO 1 Sem azotemia	ESTÁGIO 2 Discreto	ESTÁGIO 3 Moderado	ESTÁGIO 4 Grave
Creatinine in $\mu\text{mol/L}$	< 1,6	1,6 - 2,8	2,9 - 5,0	> 5,0
SDMA in $\mu\text{g/dL}$	> 14	> 14	Aumento moderado	Aumento intenso
Considerar o subestadiamento com base na creatinina		≥ 25	≥ 45	
PU/CU Subestadiamento com base na proteína	Não proteinúrico <0,2 / Proteína limitrofe 02,-04 / Proteinúrico >0,4			
Pressão sanguínea sistólica em mmHG Subestadiamento com base na pressão sanguínea	Normotenso > 150 Hipertensão limitrofe 150-159		Hipertenso 180-179 Hipertenso grave >179	

Figura 3 – Estadiamento proposto pela IRIS, a partir do uso do SDMA.
Fonte: International Renal Interest Society, 2016.

SDMA	CREATININA	CONDUTA
Até 14 $\mu\text{g/dl}$	> 1,6	Possível doença renal, porém, deve-se avaliar o estado de desidratação e realizar uma DEU para confirmação de perda de concentração urinária, podendo assim evidenciar a disfunção renal precoce.
>14 $\mu\text{g/dl}$	< 1,6	Provável que a doença renal precoce esteja presente, se o paciente já apresentar uma perda de musculatura a creatinina pode diminuir "falsamente", podendo a densidade urinária já demonstrar alguma perda de capacidade de concentração de urina.
> 14 $\mu\text{g/dl}$	> 1,6	Função renal provavelmente prejudicada. Uma urinálise completa, com avaliação da DEU e com relação de PU/CU para avaliar a proteinúria e outras evidências de doença renal.
15-19 $\mu\text{g/dl}$	> 1,6	Realizar uma urinálise completa e procurar outra evidência de doença renal, caso negativo ainda assim retestar o paciente em 2 a 4 semanas, se persistir o aumento manejar e monitorar o paciente.

Tabela 1 – Condutas baseadas nas mensurações de creatinina sérica e do SDMA em felinos.
Fonte: IDEXX Laboratories, 2017.

Considerando que a creatinina não aumenta acima do intervalo de referência até que 75% da função renal esteja perdida, estudo realizados por Bilbrough et al. (2018) demonstraram que o SDMA aumenta quando há, em média, uma redução entre 40% e 25% na taxa de filtração glomerular, sendo esse aumento relacionado com uma lesão renal aguda ou ativa e lesão crônica de doença renal, permitindo que os veterinários intervenham mais cedo para resultados bem-sucedidos.

O Catalyst® SDMA Test é um novo sistema de imunoenensaio IDEXX projetado para medir as concentrações de SDMA em amostras de plasma ou de soro de cães e

gatos sem a necessidade de diluir a amostra. Foi projetado para resultados de testes rápidos, confiáveis e precisos nas clínicas a partir de seus analisadores bioquímicos (BILBROUGH *et al.*, 2018).

Amostras de soro coletadas de 113 gatos, incluindo animais saudáveis e pacientes já diagnosticados com DRC, todas as amostras foram analisadas uma vez usando o Catalyst SDMA Test e duas vezes com o método analítico por espectrometria de massa com cromatografia líquida (LC-MS), sendo a média dos resultados da LC-MS obtidas como método de referência e comparado com o Catalyst SDMA (BILBROUGH *et al.*, 2018).

Segundo Patch et al. (2017) este novo método mantém o mesmo intervalo de referência (0-14 µg/dl), diretrizes interpretativas e intervalo (0-100 µg/dL), como no laboratório de referência.

O novo Catalyst® SDMA, ilustrado na Figura 4, demonstra excelente correlação com o método de referência por cromatografia por espectrometria de massa, sendo também verificada a interação das principais alterações obtidas das amostras dos animais, como lipemia, hemólise e icterícia, onde estas não tiveram impacto estatisticamente significativo nas concentrações de SDMA relatadas (IDEXX LABORATORIES, 2017).



Figura 4 – Catalyst® SDMA Test, para analisadores bioquímicos IDEXX. Fonte: IDEXX Laboratories, 2017.

Discussão

O aumento do nível de SDMA reflete a função renal reduzida, de modo que este pode ser encontrado em múltiplos distúrbios quando acometem e reduzem a função renal (YERRAMILI et al., 2016).

Níveis médios de SDMA foram estimados, respectivamente, em humanos saudáveis, gatos, e cães nos valores de 9,6, 9,8 e 9,6 mg/dl, sendo considerado diferenças significativas em tamanho e massa corporal. As concentrações médias das populações praticamente idênticas sugerem ainda que o SDMA é um verdadeiro marcador de filtração não influenciado por fatores extra renais como idade, gênero e musculatura (EL-KHOURY et al., 2011).

Em estudo longitudinal retrospectivo envolvendo 21 gatos com DRC da colônia Nutrition Pet's Hill, o nível de SDMA foi mensurado em amostras congeladas de soro e comparado com a creatinina sérica, permitindo a avaliação de TFG em vários momentos durante toda a vida desses animais antes e depois do diagnóstico de DRC. O nível SDMA aumentou, para maior do que o intervalo de referência em média, 17 meses antes da creatinina sérica (esse aumento mostra uma redução de 40% na TFG). Em dois gatos, o nível de SDMA apresentou-se elevado, com apenas 25% da redução da TFG. Os resultados em série de um representante o caso é fornecido na Figura 5, mostrando um aumento de SDMA para maior do que o intervalo de referência, oito meses antes da creatinina sérica, que se manteve estável até um período de descompensação aguda (HALL et al., 2014).

Hall et al. (2015) correlacionaram a massa muscular com níveis de creatinina sérica e de SDMA. A TGF foi determinada para compreender a verdadeira função renal nesses animais e suas alterações na massa corporal, levando em conta a determinação da massa total, massa gorda e massa muscular magra. Os gatos foram divididos em dois grupos: um com gatos com menos de 12 anos e outro com gatos com mais de 15 anos de idade.

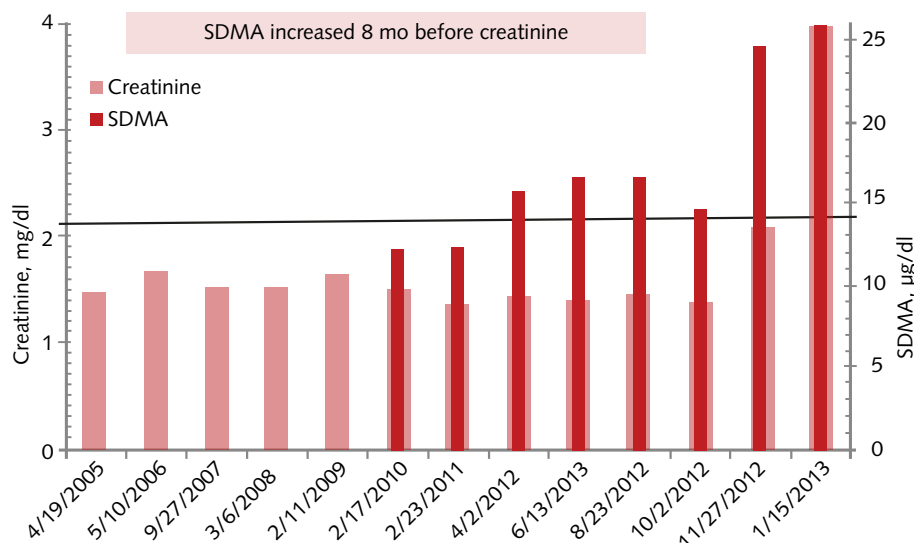


Figura 5 – Mystic, representante escolhida do estudo retrospectivo Hill's Nutrition. O nível creatinina está no eixo Y esquerdo e o SDMA está no eixo Y direito. O tempo está no eixo X. A linha preta sólida representa a extremidade superior do intervalo de referência para ambos marcadores, creatinina a 2,1 mg/dL e a extremidade superior do intervalo de referência para SDMA a 14 mg/dl. Nos gráficos de barras, a creatinina é representada pelas barras azuis e a SDMA é representada pelas barras vermelhas.

Fonte: Hall et al., 2014; Relford; Robertson; Clements, 2016.

Este estudo mostra que, à medida que os gatos envelhecem, a massa muscular magra total e a TFG diminuíram, a creatinina também apresentou decréscimo à medida que os gatos envelhecem, mesmo com a TFG diminuída, mostrando a alteração errônea pela diminuição da massa muscular magra. Em contraste, o nível SDMA aumentou, refletindo verdadeiramente a diminuição da função renal e significando que não é afetado por mudanças na massa muscular (HALL *et al.*, 2015; YERRAMILI *et al.*, 2016).

A avaliação do SDMA sérica em felinos apresentou sensibilidade de 100%, especificidade de 91% em um estudo de Hall *et al.* (2014), ao passo que a creatinina sérica apresentava sensibilidade de apenas 17%, especificidade de 100%, VPP de 100% e VPN de apenas 70%.

De acordo com o laboratório IDEXX (IDEXX LABORATORIES, 2015), os valores de SDMA não são influenciados por doenças endócrinas, cardiovasculares, inflamatórias e hepáticas, também não mostram qualquer tipo de correlação com a arginina de origem alimentar nem com a sua concentração sanguínea (GRAUER, 2016).

Porém, em estudo com 94 gatos, sendo 17 com DRC, 40 com cardiomiopatia hipertrófica (CH), 17 com diabetes melittus (DM) e 20 saudáveis, foram verificadas as medições do SDMA, na qual gatos com CH não foram significativamente diferentes dos gatos saudáveis, no entanto os gatos com DM apresentaram concentrações de SDMA significativamente menores que os controles, um achado que precisa de mais investigação e deve ser mantido em mente ao avaliar a função renal dos gatos com esta endocrinopatia (LANGHORN *et al.*, 2018).

A utilização da SDMA como critério para diagnóstico de animais nos estágios iniciais da DRC, onde normalmente os sinais clínicos estão ausentes ou são mais discretos, mostra-se promissora ao nível do diagnóstico precoce, indicando uma redução da função renal, ainda que o limite superior de concentração plasmática de creatinina de 1,6 mg/dl não seja atingido (RELFORD; ROBERTSON; CLEMENTS, 2016).

A IRIS indica que pacientes no estágio II, com condição corporal diminuída e SDMA ≥ 25 $\mu\text{g}/\text{dl}$, podem estar subestadiados, e, por isso, é recomendado iniciar o tratamento indicado para os animais no estágio seguinte, assim como acontece com os pacientes no estágio III, nas mesmas condições, mas SDMA ≥ 45 $\mu\text{g}/\text{dl}$, recomendando-se neste caso o tratamento para animais do estágio IV (INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY, 2016).

À semelhança do que acontece com a creatinina plasmática, os valores de SDMA devem ser interpretados em conjunto com outros achados clínicos e de forma individual para cada paciente (ALEXANDRE, 2018).

Considerações finais

O SDMA demonstrou-se uma nova ferramenta muito eficaz para diagnóstico precoce da DRC, no caso dos felinos, em específico, por sua maior prevalência em comparação aos cães. A antecipação do diagnóstico torna-se de extrema valia, pois as intervenções clínicas e medidas profiláticas para evitar sua progressão acabam por melhorar a qualidade de vida desses pacientes.

O SDMA também se torna vantajoso em relação à creatinina sérica, por não sofrer interferências em seus valores em casos de doenças concomitantes até então testadas, alterações de dieta e perda de massa muscular. Além de tratar-se de uma molécula que é filtrada via renal em até 90%, como comprovado nos estudos já realizados.

O novo teste agora disponível às clínicas que possuem os aparelhos de análise bioquímica da IDEXX, torna ainda mais presente sua importância para que os veterinários saibam de seus benefícios e o quão eficiente são seus resultados, e talvez num futuro breve teremos uma alteração nos perfis laboratoriais em relação à função renal, com a inclusão do SDMA. 📌

Referências

- AUGUST, J. R. **Medicina interna de felinos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- ALEXANDRE, J. F. **Dimetilarginina simétrica como biomarcador para diagnóstico precoce de doença renal crônica em gatos**. 2018. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.5/14793>. Acesso em: 20 jan. 2018.
- BILBROUTH, G. *et al.* **IDEXX Catalyst SDMA Test for in-house measurement of SDMA concentration in serum from dogs and cats**. Westbrook: Idexx Laboratories, 2018. 7 p.
- BRAFF, J. *et al.* Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. **Jornal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 28, n. 6, p. 1699-1701, 2014.
- BROWN, S. A. **Symmetric dimethylarginine (SDMA): new biomarker of renal function in cats and dogs**. [S.l.]: International Renal Interest Society, 2016. 2 p.
- CHEIDA, L. E. **Biologia integrada: ensino médio**. São Paulo: FTD, 2003. 565 p.
- DIAS, A. O. **Diagnóstico precoce de doença renal crônica em pequenos animais: revisão bibliográfica**. 2014. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

- DONGEN, A. M. V.; HEIENE, R. **Early diagnosis of CKD: how to identify Stage 1.** [S. l.]: International Renal Interest Society, 2013. Disponível em: http://www.iris-kidney.com/education/early_diagnosis.aspx. Acesso em: 10 ago. 2017.
- EL-KHOURY, J. E. *et al.* A simple and fast liquid chromatography-tandem mass spectroscopy method for the measurement of underivatized L-arginine, symmetric dimethylarginine and asymmetric dimethylarginine and establishment of reference ranges. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 402, n. 2, p. 771-779, 2011. Disponível em: <https://https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22124751>. Acesso em: 7 out. 2017.
- ELLIOTT, J.; BROWN, S. A. **Pocket guide to renal disease in the dog and cat.** Oxfordshire: Nova Professional Media Limited. 2004. 121 p.
- ELLIOTT, J.; WATSON, A. D. J. **Overview of the IRIS staging system for CKD.** [S. l.]: International Renal Interest Society, 2010. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/education/en/education06.shtml>. Acesso em: 6 maio 2018.
- FREITAS, C. F. H. **Estadiamento da doença renal crônica em felinos.** 2010. 105 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, 2010. Disponível em: <http://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/2483>. Acesso em: 3 jun. 2017.
- GALVÃO, A. L. B. *et al.* Alterações clínicas e laboratoriais de cães e gatos com doença renal crônica: revisão da literatura. **Nucleus Animalium**, Ituverava, v. 2, n. 1, p. 23-39. 2010.
- GRAUER, G. F. Early diagnosis of chronic kidney disease in dogs and cats: use of serum creatinine and symmetric dimethylarginine. **Today's Veterinary Practice**, Gainesville, v. 6, n. 2, p. 68-72, 2016.
- HALL, J. A. *et al.* Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. **Veterinary Journal**, London, v. 202, n. 3, p. 588-596, 2014.
- HALL, J. A. *et al.* Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 29, n. 3, p. 808-814, 2015.
- HALL, J. A. *et al.* Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in cats with kidney stones. **PloS One**, San Francisco, v. 12 n. 4, e0174854, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174854>. Acesso em: 3 jul. 2017.
- IDEXX LABORATORIES. **SDMA Frequently asked questions.** Westbrook, 18 maio 2017. Disponível em: <https://www.idexx.com/files/small-animalhealth/solutions/articles/sdma-faqs.pdf>. Acesso em: 12 jun. 2017.
- IDEXX LABORATORIES. **SDMA impacts how veterinarians diagnose and manage kidney disease in dogs and cats.** Westbrook, 13 out. 2015. Disponível em: http://www.idexx.co.jp/pdf/ja_jp/smallanimal/reference-laboratories/sdma-data-white-paper-pages.pdf. Acesso em: 21 maio 2019.
- INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY. **IRIS Staging of CKD (modified 2015).** [S. l.], 17 mar. 2016. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/pdf/staging-of-ckd.pdf>. Acesso em: 10 maio 2017.
- JERICÓ, M. M.; KOGIKA, M. M.; ANDRADE NETO, J. P. **Tratado de medicina interna de cães e gatos.** Rio de Janeiro: Roca, 2015. p. 2464.
- KAKIMOTO, Y.; AKAZAWA, S. Isolation and identification of N-G, N-G- and N-G, N-Gdimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 245, n. 21, p. 5751-5758, 1970. Disponível em: <http://www.jbc.org/content/245/21/5751.long>. Acesso em: 10 set. 2018.
- KIELSTEIN, J. T. *et al.* Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function: a meta analysis. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, Oxford, v. 21, n. 9, p. 2445-2451, 2006.
- KLEIN, B. K. **Cunningham tratado de fisiologia veterinária.** 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 624 p.
- LANGHORN, R. *et al.* Symmetric Dimethylarginine in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy and Diabetes Mellitus. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 32, p. 57-63. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29230874>. Acesso em: 21 maio 2019.
- MARESCAU, B. *et al.* Guanidino compounds in serum and urine of nondialyzed patients with chronic renal insufficiency. **Metabolism**, Philadelphia, v. 46, n. 9, p. 1024-1031, 1997.
- MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária.** 2. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 1344 p.
- NABITY, M. B. *et al.* Symmetric Dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a Marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 29, n. 4, p. 1036-1044, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26079532>. Acesso em: 15 out. 2018.
- NASCIMENTO, M. R. *et al.* Conceitos e aplicabilidade dos principais biomarcadores na nefrologia veterinária- revisão de literatura. **Investigação**, Franca, v. 16, n. 8, p. 37-43, 2017.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais.** 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 1512.
- PATCH, D. *et al.* High throughput immunoassay for kidney function biomarker symmetric dimethylarginine (SDMA). **Clinical Chemistry**, Washington, v. 61, n. 10, S135, 2017.
- POLETTI, J. **Avaliação laboratorial baseada em métodos para o diagnóstico precoce da doença renal crônica em felinos domésticos.** 2016. 34 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Clínica Médica de Felinos Domésticos) –

- Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- POLZIN, D. J. *et al.* Chronic kidney disease. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (ed.). **Textbook of veterinary internal medicine**. 7. ed. St. Louis: Saunders, 2010. p. 1822-1872.
- RELFORD, R.; ROBERTSON, J.; CLEMENTS, C. Symmetric dimethylarginine improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics of North America: small animal practice**, Philadelphia, v. 46, n. 6, p. 941-960, 2016.
- SANTOS, T. I. V. **Estadiamento e subestadiamento da doença renal crônica em gatos**. 2017. 102 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2017.
- SCHWEDHELM, E.; BOGER, R. H. The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. **Nature Reviews: nephrology**, London, v. 7, p. 275-285, 2011.
- THRALL, M. A. *et al.* **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.
- VALLANCE, P. *et al.* Endogenous dimethylarginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, New York, v. 20, n. 12, s60-62, 1992. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/00005344-199204002-00018>. Acesso em: 20 out. 2018.
- YERRAMILLI, M. *et al.* Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury the role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. **Veterinary Clinics of North America: Small Animals Practice**, Amsterdam, v. 46, n. 6, p. 961-993, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.011>. Acesso em: 23 out. 2017.

Descrição clínica e achados laboratoriais de cão intoxicado por veneno de sapo (*Rhinella icterica*) (Anura: Bufonidae): relato de caso

Clinical description and laboratory findings of bufotoxin canine intoxication (*Rhinella icterica*) (Anura: Bufonidae): case report

Resumo

Apesar da alta frequência de intoxicações na clínica médica de pequenos animais, acidentes com anfíbios são considerados emergências médicas devido ao elevado potencial tóxico de seu veneno, o qual tende a direcionar o curso clínico do paciente intoxicado para eventos fisiopatológicos, principalmente cardiovasculares e neurológicos. Este estudo tem por finalidade descrever as principais alterações clínicas e laboratoriais observadas em um cão intoxicado por veneno de sapo identificado como sendo *Rhinella icterica* (Anura: Bufonidae), mediante identificação do anfíbio por imagens obtidas pelos tutores. A instituição precoce das estratégias terapêuticas imediatas (estabilização clínica) e tardias (terapia intensiva), assim como o estadiamento de lesões em outros órgãos e sistemas pelos exames complementares realizados de maneira simultânea, caracterizaram-se como essenciais para a melhora no prognóstico do animal.

Abstract

Despite of the high frequency of intoxications in the small animal practice, amphibian accidents are considered medical emergencies due to the high toxic potential of their venom, which tends to direct the clinical course of the intoxicated patient for cardiovascular and neurological pathophysiological events. The present study aims to describe the clinical and laboratory alterations observed in a dog poisoned by frog venom identified as *Rhinella icterica* (Anura: Bufonidae), through the diagnostic confirmation made by the identification of the amphibian on the images obtained by the tutors. The early institution of immediate (clinical stabilization) and late (intensive therapy) therapeutic strategies, as well as the staging of injuries in other organs and systems by complementary tests performed simultaneously, were essential for the improvement in the prognosis this case.

Recebido em 03 de agosto de 2018 e aprovado em 13 de fevereiro de 2019.

Fabio Navarro Baltazar¹
Cecília de Faria Brito Augusto²
Carla Carminato²
Paula Catarina de Oliveira Faria³
Carla Alice Berl⁴

Avenida Giovanni Gronchi, 3001 – Morumbi
São Paulo, São Paulo/SP, Brasil
CEP: 05659-010
✉ fabionavarro@petcare.com.br



Palavras-chave

Bufo marinus. Bufotoxinas. Bufodienolídeos.
Bufoteninas.

Keywords

Bufo marinus. Bufotoxins. Bufodienolides.
Bufotenins.

As intoxicações representam capítulo importante na clínica médica de cães e gatos, podendo ocorrer por substâncias das mais diversas naturezas, incluindo venenos de anfíbios. Neste contexto, ganham destaque os acidentes com sapos do gênero *Bufo*, o qual inclui aproximadamente 283 espécies distribuídas pelo mundo (MACIEL, 2008). Este gênero vem sofrendo revisões taxonômicas do ponto de vista filogenético nos últimos anos, de maneira que os clados de *Bufo* sul-americanos podem, atualmente, ser considerados como *Rhinella* e *Rhaebo* (FROST *et al.*, 2006). Tais anfíbios foram introduzidos em diferentes regiões do planeta com o intuito de facilitar o controle de pragas relacionadas, principalmente, à indústria do açúcar, assim como ocorreu na Austrália entre 1935 e 1936, quando o gênero *Bufo marinus* foi introduzido para controlar os besouros *Dermolepida alboheratum* e *Lepidiota frenchu* (COGGER, 1992). Na Europa, norte da África e parte ocidental do norte da Ásia, a espécie *Bufo bufo* apresenta-se amplamente distribuída, conhecida também como sapo comum (HERNÁNDEZ-REBOLLO *et al.*, 2015). No Brasil, 72 espécies do gênero *Rhinella* podem ser encontradas, sendo que entre 2001 e 2008 foram descritas quatro novas espécies do grupo *Rhinella marina*, em regiões como o Nordeste, Rio Grande do Sul e Brasil Central (STEVAUX, 2002; MANEYRO; ARRIETA;

¹ Hospital Veterinário Pet Care, Departamento de Clínica Médica.

² Hospital Veterinário Pet Care, Unidade de Terapia Intensiva.

³ Hospital Veterinário Pet Care, Departamento de Diagnóstico por Imagem.

⁴ Hospital Veterinário Pet Care, Diretoria Clínica.

SÁ, 2004; MACIEL *et al.*, 2007). O gênero *Rhaebo* envolve apenas nove espécies, encontradas apenas na região equatorial (Honduras, Equador, Venezuela, Guianas, Peru, Bolívia, Brasil e Colômbia) (PRAMUK *et al.*, 2008).

Os anfíbios apresentam em sua composição cutânea glândulas responsáveis pela secreção de substâncias vitais para a respiração, equilíbrio hídrico e defesa natural contra micro-organismos e predadores, tendo tais estruturas sofrido alterações durante o processo evolutivo destes animais, de acordo com as necessidades das espécies em cada habitat (TOLEDO; JARED, 1995). Tais glândulas podem ser divididas em mucosas e granulosas, sendo as últimas diretamente responsáveis pela produção de veneno, localizadas nos sapos na região posterior aos olhos e conhecidas como macroglândulas parotóides (JARED; ANTONIAZZI, 2009). A secreção ali produzida inclui aminas biogênicas, esteroides, alcaloides e peptídeos, podendo ser eliminada sob mecanismo defensivo do anfíbio por meio de compressão direta ou sob a forma de jatos direcionados (JARED *et al.*, 2014). As aminas biogênicas envolvem moléculas agonistas do sistema nervoso autônomo simpático (epinefrina e norepinefrina), que atuam sobre os receptores α -1 adrenérgicos (ocasionando vasoconstrição periférica), β -1 adrenérgicos (inotropismo positivo e taquicardia), e β -2 adrenérgicos (broncoconstrição e vasodilatação muscular), além de indolalquilaminas (serotonina e 5-hidroxitriptofano, responsáveis por efeitos alucinógenos e vasoconstritores), bufoteninas, dihidrobufoteninas e bufotionina, que atuam sobre o sistema nervoso central potencializando efeitos alucinógenos e ocasionando tremores, convulsões, depressão, hipertermia, entre outros sinais clínicos (CUNHA-FILHO *et al.*, 2010). Os esteroides alcaloides, por sua vez, são representados pelos bufodienolídeos (bufogeninas) e bufotoxinas, e desempenham ação semelhante à dos glicosídeos cardíacos (digitálicos), ocasionando aumento da concentração intracelular de sódio nas células miocárdicas por meio do bloqueio da bomba de sódio-potássio (ou Na-K-ATPase), fato que resulta, secundariamente, na elevação do cálcio intracelular e, subsequentemente, em arritmias ventriculares e fibrilação (EUBIG, 2001). A ação simultânea destas moléculas se traduz por manifestações clínicas cardiovasculares e neurológicas diversas.

Os acidentes com estes anfíbios ocorrem, na maioria dos casos, por meio da absorção da secreção cutânea pela mucosa oral do cão, imediatamente após a predação, sendo que a intensidade dos sinais e sintomas são diretamente proporcionais à toxicidade do veneno e da quantidade absorvida (BARBOSA *et al.*, 2009). Logo, o conhecimento acerca da espécie de anfíbio envolvida no acidente pode prever o curso clínico da intoxicação, fato que traz à tona a relevância das informações trazidas ao médico-veterinário no momento da admissão hospitalar. Entretanto, a maioria dos casos de

intoxicação por sapos não possuem sua etiologia confirmada pelo profissional, permanecendo apenas sob suspeita mediante as informações trazidas pelos tutores, como pela presença destes anfíbios no ambiente peri ou intradomiciliar. Neste contexto, o presente artigo tem por objetivo descrever as principais alterações clínicas e laboratoriais relacionadas à intoxicação de um cão por veneno de sapo, incluindo sua confirmação pela análise do exemplar de anfíbio envolvido.

Descrição do caso

Um cão da raça lhasa apso, com três anos de idade, foi admitido em março de 2018 no ambulatório do Hospital Veterinário Pet Care (São Paulo, SP, Brasil) com histórico de sialorreia iniciada após diversas tentativas de predação de um sapo, tendo este fato sido testemunhado por seus tutores cerca de 60 minutos antes do atendimento. Os tutores, residentes do município de Itapeverica da Serra (SP, Brasil), realizaram lavagem da cavidade oral do animal ainda em ambiente domiciliar, quando houve diminuição deste sintoma por aproximadamente 30 minutos, porém, sequencialmente, houve recidiva da salivação, e 30 minutos depois, episódio convulsivo tônico-clônico com duração estimada em três minutos, tendo o animal sido conduzido ao hospital neste momento (durante o transporte convulsionou novamente). Ao exame físico realizado imediatamente após a admissão hospitalar, foram observados congestão de mucosas oral e conjuntival bilateral, tempo de preenchimento capilar menor que um segundo, diminuição considerável da atividade mental marcada por estupor (decúbito lateral direito permanente), acentuada sialorreia e taquipneia, nistagmo horizontal, temperatura 40,2 °C, glicemia 202 mg/dl, lactato 5,2 mmol/dl, pressão arterial sistólica 114 mmHg, e auscultação inconclusiva devido à intensa propagação de ruídos respiratórios superiores. A estabilização clínica, iniciada após a obtenção do histórico com os tutores, apreciação das imagens fotográficas do anfíbio trazidas pelos mesmos (Figura 1) e exame físico simultâneo, foi direcionada para o diagnóstico de intoxicação por veneno de sapo. Foram realizados, sequencialmente, aplicação intravenosa de diazepam (0,5 mg/Kg), acesso venoso periférico (veia cefálica) e fluidoterapia com cristalóide (solução fisiológica a 0,9%) sob taxa de infusão de 5 mL/Kg/h, além de oxigenioterapia via sonda nasal e lavagem da cavidade oral durante 20 minutos com água sob pressão (“flushing” no sentido lateral à cavidade oral). Desde o início do manejo terapêutico o paciente não apresentou alterações no traçado eletrocardiográfico, e nos 30 minutos posteriores houve importante melhora do estado geral, incluindo parâmetros, recuperação do estado mental e resolução da sialorreia, momento no qual foram solicitados hemograma (Tabela 1) e bioquímica sérica (Tabela 2). O animal permaneceu sob terapia intensiva durante as

24 horas posteriores, fluidoterapia sob a mesma taxa de infusão, suporte antiemético (1 mg/Kg S.C. de citrato de maropitant a cada 24 horas) e gastrointestinal (2 mg/Kg S.C. de cloridrato de ranitidina a cada 12 horas e 30 mg/Kg de sucralfato V.O. a cada 8 horas), antibioticoterapia (5 mg/Kg S.C. de enrofloxacino a cada 12 horas) e diurécoterapia (2 mg/Kg de furosemida I.V. a cada 12 horas). No período de terapia intensiva, duas horas após a estabilização clínica, o paciente foi submetido a exame radiográfico de tórax (Figura 2), o qual revelou aumento da radiopacidade pulmonar, de padrão tendendo a alveolar, junto ao terço médio e caudal de hemitórax esquerdo. Apesar de ter apresentado dois episódios de hemoquesia nas 24 horas posteriores, a boa evolução clínica permitiu sua liberação ao ambiente domiciliar com prescrições do antibiótico e suporte gastrointestinal acima referidos.

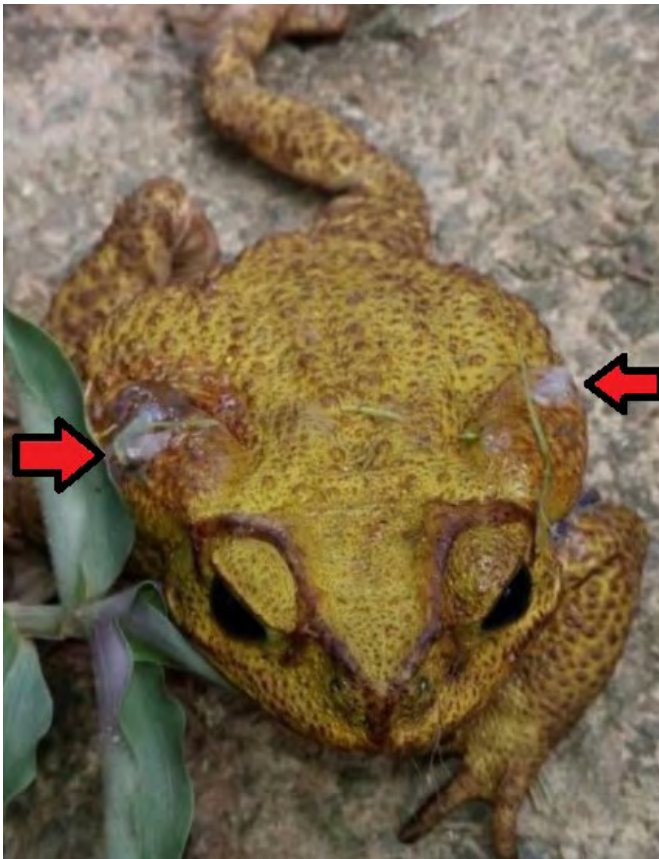


Figura 1 – Exemplar de *Rhinella icterica* sob visualização dorsofrontal, responsável pela intoxicação do cão; nota-se (setas) o vestígio de veneno ainda sobre as glândulas parotóides. **Fonte:** Arquivo pessoal.

Tabela 1 – Exame hematológico do cão intoxicado pelo veneno de *Rhinella icterica*.

ÍNDICES HEMATOLÓGICOS	VALORES ABSOLUTOS	VALORES DE REFERÊNCIA
Eritrócitos (milhões/mm ³)	8,53	5,5 a 8,5
Hemoglobina (g/dl)	19,4	12 a 18
Hematócrito (%)	57,2	37 a 55
VCM (u ³)	67,06	60 a 77
HCM (pg)	22,7	19,5 a 24,5
CHCM (g/dl)	33,9	30 a 36
Índice de reticulócitos	0,7	-
Leucócitos (mil/mm ³)	13,53	6 a 17
Segmentados (/mm ³)	10.418,1	3600 a 13000
Eosinófilos (/mm ³)	270,6	120 A 1700
Linfócitos típicos (/mm ³)	2164,8	720 A 5100
Monócitos (/mm ³)	676,5	60 A 1400
Contagem plaquetária (mil/mm ³)	381	200 a 500
Proteína total (g/dl)	6	5,5 A 8,0

Tabela 2 – Análise bioquímica sérica do cão intoxicado pelo veneno de *Rhinella icterica*.

PARÂMETRO	VALORES ABSOLUTOS	VALORES DE REFERÊNCIA
Cloretos (mEq/L)	121	108 a 128
Cálcio total (mg/dl)	7,6	8,0 a 12,0
Colesterol (mg/dl)	148,90	116 a 300
Creatinina (mg/dl)	1,3	0,8 a 1,4
Fosfatase alcalina (U.I./L)	40,4	10,0 a 96,0
Gama-glutamil transferase (U.I./L)	9,8	1,2 a 6,4
Glicose (mg/dl)	179,70	60,0 a 118,0
Potássio (mEq/L)	6,1	4,1 a 5,4
Sódio (mEq/L)	149	143,0 a 168,0
AST (U.I./L)	143,10	10,0 a 88,0
ALT (U.I./L)	134,1	7,0 a 92,0
Triglicérides (mg/dl)	71,50	15 a 150
Ureia (mg/dl)	70,4	15,0 a 40,0
Fósforo (mg/dl)	3,10	2,6 a 6,8

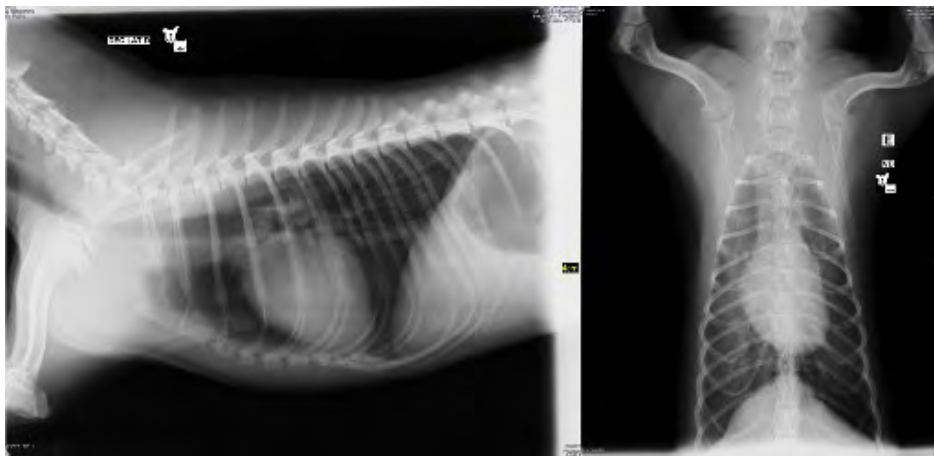


Figura 2 – Exame radiográfico torácico, em projeções látero-lateral e médio-ventral, do cão intoxicado por veneno de sapo; observa-se, principalmente na projeção ventrodorsal, aumento da radiopacidade pulmonar de padrão tendendo à alveolar, junto ao terço médio e caudal do hemitórax direito. Fonte: Arquivo Pessoal

Discussão

A análise das imagens fotográficas do anfíbio, fornecidas pelos tutores durante a admissão hospitalar, permitiu a sua identificação em um macho da espécie *Rhinella icterica*, consolidando, assim, o diagnóstico de intoxicação por veneno de sapo. O município de Itapeverica da Serra, local de residência do cão, situa-se na região Sudoeste do estado de São Paulo, onde se encontra fragmento de Floresta Atlântica Brasileira, um dos habitats típicos deste anfíbio, pertencente ao grupo *Rhinella marina* (PRAMUK, 2006). Os membros deste grupo são marcados, morfológicamente, por sapos grandes e com glândulas parotóides largas, peculiarmente protruídas na espécie em debate (PRAMUK, 2006).

Em 2017, Regis-Alves *et al.* compararam as principais alterações nas glândulas parotóides de *Rhinella icterica* quando comprimidas manualmente ou naturalmente atacadas por cães, tendo sugerido que pequenas forças aplicadas sobre as mesmas (menos de 1 Kg/cm²) já são capazes de estimular os jatos de veneno, comparativamente à força do trauma por mordedura canina (aproximadamente 14 a 20 Kg/cm²), justificando a facilidade de intoxicação mediante um mínimo contato com estes anfíbios. Ainda, tais situações podem ser agravadas pelo fato destas glândulas se localizarem na região anterior do corpo dos sapos, geralmente a primeira a ser atacada pelos cães.

As manifestações clínicas apresentadas pelo paciente aqui descrito corroboram a literatura vigente no que diz respeito à ação das moléculas secretadas pelas glândulas granulosas (epinefrina, norepinefrina, serotonina, 5-hidroxitriptofano, bufoteninas, dihidrobufoteninas e bufotionina), tendo resultado principalmente em sinais clínicos cardiovasculares e neurológicos. Os principais achados bioquímicos, por sua vez, revelaram elevação glicêmica (possivelmente justificada pelo aumento da taxa metabólica induzida pela circulação de catecolaminas), hipercalcemia (acúmulo de potássio no

meio extracelular devido ao bloqueio da bomba de sódio-potássio, semelhantemente aos digitálicos), hipocalcemia (acúmulo de cálcio no interior das células pela mesma ação digitálico-like), elevação sérica de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato-aminotransferase (AST – efeito citotóxico hepático da bufotoxina) e discreto aumento da ureia sérica (elevação da atividade hepática como ação direta do processo inflamatório relacionado à citotoxicidade). Alguns destes achados já foram relatados pela comunidade científica, a exemplo da variação eletrolítica aqui observada, descrita previamente por Peterson e Roberts (2013). Ainda, de acordo com os achados ultrassonográficos e anatomopatológicos hepáticos descritos por Sampaio *et al.* (2015), acredita-se na possibilidade de hepatite aguda como resultado da ação direta da bufotoxina resultante da intoxicação. Por fim, o padrão pulmonar alveolar observado em hemitórax direito, no exame radiográfico torácico do animal em debate, pode estar relacionado ao decúbito prolongado, uma vez que o paciente permaneceu a maior parte do tempo em decúbito lateral direito, comportamento este já observado antes mesmo de sua chegada ao hospital, segundo descrição dos tutores.

Conclusão

Mediante o exposto acima, conclui-se a importância do reconhecimento precoce dos sinais clínicos relacionados à intoxicação por veneno de sapo e das valiosas informações sobre o animal venenoso obtidas junto aos tutores, no que se refere à anamnese, para que haja o estabelecimento precoce do manejo terapêutico e, subsequentemente, o bom prognóstico do paciente.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Natan Medeiros Maciel, do Departamento de Ecologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, pelo auxílio na identificação do exemplar de anfíbio aqui descrito. 📧

Referências

- BARBOSA, C. M. *et al.* Toad poisoning in three dogs: case reports. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, Botucatu, v.15, n. 4, p. 789-798, 2009.
- COGGER, H. G. **Reptiles and Amphibians of Australia**. 5. ed. Sydney: Reedbooks, 1992. 752p.
- CUNHA-FILHO, G. A. *et al.* Cytotoxic profile of natural and some modified bufadienolides from toad *Rhinella schneideri* parotoid gland secretion. **Toxicon**, Glasgow, v. 56, p. 339-348, 2010.
- EUBIG, P. A. *Bufo* species toxicosis: big toad, big problem. **Veterinary Medicine**, Lisboa, v. 96, p. 594-599, 2001.
- FROST, D. R. *et al.* The amphibian tree of life. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 297, p. 1-370, 2006.
- HERNÁNDEZ-REBOLLO, E. *et al.* Toad poisoning in dogs from SW Spain: too many cases in a few days! **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 110, n. 593/594, p. 116-119, 2015.
- JARED, C.; ANTONIAZZI, M. M. Anfíbios: biologia e venenos. *In*: CARDOSO, J. L. C. *et al.* (org.). **Animais peçonhentos do Brasil**. 2. ed. São Paulo: Editora Sarvier, 2009. p. 197-207.
- JARED, S. G. S. *et al.* Functional assessment of toad parotoid madroglands: a study based on poison replacement after mechanical compression. **Toxicon**, Glasgow, v. 87, p. 92-103, 2014.
- MACIEL, N. M. *et al.* A large new species of *Rhinella* (Anura: Bufonidae) from Cerrado of Brazil. **Zootaxa**, Auckland, v. 1627, p. 23-39, 2007.
- MACIEL, N. M. **Biogeografia do grupo *Rhinella Marina* (Linnaeus, 1758) (Anura: Bufonidae)**. 2008. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2008.
- MANEYRO, R.; ARRIETA, D.; SÁ, R. O. A new toad (Anura: Bufonidae) from Uruguay. **Journal of Herpetology**, Arkansas, v. 38, n. 2, p. 161-165, 2004.
- PETERSON, M. E.; ROBERTS, B. K. Toads. *In*: PETERSON, M. E.; TALCOTT, P. A. (org.). **Small animal toxicology**. 3. ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2013. p. 833-841.
- PRAMUK, J. B. Phylogeny of South American *Bufo* (Anura: Bufonidae) inferred from combined evidence. **Zoological Journal of the Linnean Society**, London, v. 146, p. 407-452, 2006.
- PRAMUK, J. B. *et al.* Around the world in 10 million years: biogeography of the nearly cosmopolitan true toads (Anura: Bufonidae). **Global Ecology and Biogeography**, Oxford, v. 17, n. 01, p. 72-83, 2008.
- REGIS-ALVES, E. *et al.* Structural cutaneous adaptations for defense in toad (*Rhinella icterica*) parotoid macroglands. **Toxicon**, Glasgow, v. 137, p. 128-134, 2017.
- SAMPAIO, L. C. L. *et al.* Laboratory, clinical and pathological aspects of intoxication by bufotoxin in a canine: case report. **Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences**, Guwahati, v. 2, n. 5, p. 345-346, 2015.
- STEVAUX, M. N. **Análise Filogenética e Biogeográfica do grupo marinus do gênero *Bufo* (Anura: Bufonidae)**. 2002. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2002.
- TOLEDO, R. C.; JARED, C. Granular gland and amphibian venoms. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, Amsterdam, v. 111, n. 1, p. 1-29, 1995.

Efeito da gama-orizanol e L-carnitina sob parâmetros corporais, de performance e laboratoriais em equinos quarto-de-milha praticantes de três tambores

Gamma-orizanol and L-carnitine effect under body, performance and laboratory parameters in barrel racing competitors American quarter horses

Resumo

Os animais da raça quarto de milha são conhecidos por serem usados em diversas práticas e atividades, devido à sua alta velocidade. A constante busca pela melhora no ganho de massa muscular e recuperação em equinos, principalmente atletas, impulsiona as pesquisas para suplementos sem efeitos colaterais. O objetivo deste trabalho foi avaliar parâmetros clínicos e laboratoriais em animais dessa raça, suplementados com gama-orizanol e L-carnitina antes e após a execução da prova de três tambores. Esses equinos puros de origem recebiam 200 mililitros (ml) do suplemento Energy Horse® como suplementação alimentar misturados à ração para os estabulados, e via oral para os animais de piquete. Executaram o percurso de uma prova de tambor em pista de tamanho oficial em 3 momentos do experimento: dia 0, dia 30 e dia 60 após o tratamento. Os animais foram clinicamente examinados antes e após os exercícios (coloração de mucosas ocular e oral; frequência cardíaca; frequência respiratória; e motilidade intestinal), além da pesagem e coleta de sangue para dosagem de colesterol total, proteína total, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transpeptidase (GGT), fosfatase alcalina (FA), creatinoquinase (CK) e glicose.

Os dados foram avaliados empregando-se o teste de análise de variância (ANOVA), seguido de comparações múltiplas pelo teste de Tukey, segundo o programa estatístico PRISM, (Graph Prism for Windows, version 6.01, GraphPad, EUA). O nível de significância adotado para todos os testes empregados foi de 5% ($p < 0,05$). Nossos resultados demonstraram que houve uma diferença significativa no aumento de peso dos animais tratados, menor frequência cardíaca e respiratória, além de importante diminuição do tempo de execução de prova dos animais atletas tratados em relação aos do grupo controle, especialmente 60 dias após o uso do suplemento e naqueles condicionados em baixa. Portanto, o uso desse suplemento teve um impacto positivo no desempenho desses animais atletas que receberam a suplementação, em comparação aos animais não tratados, sem ocasionar qualquer prejuízo à saúde dos mesmos. E, uma vez que houve uma forte correlação negativa ($r = -0,89$) entre o ganho de peso corporal e tempo de execução da prova, pode-se afirmar que esse aumento do peso dos animais dado pela suplementação alimentar Energy Horse®, especialmente nos animais estabulados, está diretamente relacionado ao melhor desempenho no tempo da prova de três tambores por equinos da raça quarto de milha.

Recebido em 02 de abril de 2018 e aprovado em 29 de janeiro de 2019.

Abstract

The American quarter horses are known by their uses in various activities, due to their high resistance and speed. The constant search for improvement in muscle mass gain and recovery in horses, mainly athletes, drives research for supplements without side effects. The objective of the present study was to evaluate clinical and laboratory parameters in these animals supplemented with gamma-oryzanol and L-carnitine, before and after the execution of the barrel racing. These pure horses would receive 200 milliliters (ml) from the Energy Horse® supplement as a feed supply for animals in stable and oral feed for picket animals. The course of a race on an official track was performed in three moments of the experiment: day 0, day 30 and day 60 after treatment. Animals were clinically examined before and after exercise, in addition to heart rate, total part, total protein, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transpeptidase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), creatine kinase (CK

and glucose. Data were analyzed using the analysis of variance test (ANOVA), followed by multiple comparisons by the Tukey test, according to the statistical program PRISM (Graph Prism for Windows, version 6.01, GraphPad, USA). The level of significance adopted for all tests was 5% ($p < 0.05$). The results demonstrated to have a significant difference in the weight gain of the treated animals, a lower cardiac and respiratory rate, and a significant reduction in the execution time of a race with these animals in relation to the control group, especially 60 days after the use of the supplement with conditioners in bay. Therefore, the use of this supplement had a positive impact in their performance, comparing to those untreated animals, without any harm to their health. And since it had a strong negative influence ($r = -0.89$) between body weight gain and race time, it can be stated that the weight of the animals loaded with Energy Horse® energy supplementation, especially in animals in stable, is currently related to a better performance in barrel racing run time by American quarter horses.



Palavras-chave

Quarto de milha. Gama-oryzanol. L-carnitina. Suplementos.

Keywords

American quarter horses. Gamma-oryzanol. L-carnitine. Supplements.

Introdução

O Brasil possui o maior rebanho de equinos da América Latina e o terceiro maior do mundo. O detentor do título de estado com o maior rebanho de equinos é São Paulo, com cerca de 600 mil animais, utilizados nas mais diferentes atividades. Esse mercado movimentava um total de 7,3 bilhões de reais, envolvendo somente a produção desses cavalos (BRASIL, 2016). As necessidades nutricionais variam de acordo com a demanda da atividade realizada. Os lipídios merecem destaque como fonte alternativa de energia para aqueles animais que necessitam de alta demanda energética para a execução das atividades (MORGADO; GALZERANO, 2006).

O desempenho do animal atleta está associado ao sistema musculoesquelético, nervoso, cardiovascular e respiratório. As avaliações dos exames bioquímicos e do hemograma são de fundamental importância para a compreensão das alterações fisiológicas nesses animais (CONCEIÇÃO *et al.*, 2001).

¹ Associação Cultural e Educacional de Garça, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Garça.

² Instituição Chaddad de Ensino, Faculdade Sudoeste Paulista (FSP), Avaré.

A prova dos três tambores é de velocidade, na qual o competidor necessita de um bom desempenho baseado na agilidade, performance do animal, e tem como destaque a utilização da raça quarto de milha (DONOFRE *et al.*, 2014).

Segundo Evans (2007), a maneira mais simples de avaliar o desempenho em provas de velocidade é através da determinação do tempo que o animal leva para percorrer uma determinada distância, sendo a velocidade a variável-chave para essa avaliação, deste modo o tempo obtido pelos animais em provas deve ser associado aos demais determinantes comparativos.

Com o intuito de ganho de massa muscular e melhora no desenvolvimento esportivo, os praticantes de fisiculturismo fazem uso do gama-Orizanol e isso vem aumentando de maneira significativa na suplementação nutricional em equinos, se intensificando depois de 2013, quando o produto foi retirado da lista de substâncias consideradas como “*dopping*” pela Federação Equestre Internacional (FEI). Descoberto no Japão em 1954 como uma substância contida no óleo de arroz, essa suplementação vem sendo amplamente estudada pelas suas propriedades que trazem benefícios à saúde, como a redução do colesterol plasmático, inibição da agregação plaquetária, aumento dos níveis de ácidos biliares na excreção fecal e, devido à redução na absorção do colesterol, tem papel importante no combate à arteriosclerose precoce. Também possui propriedades antioxidativas e a isso se deve seu uso na indústria farmacêutica e cosmética (GONZAGA, 2013).

Por ser uma substância com poucos efeitos colaterais importantes relatados, o gama-orizanol vem sendo utilizado por médicos-veterinários para melhora no ganho de massa muscular e recuperação em equinos, principalmente atletas. Porém, a utilização de óleos na alimentação de equinos e digestibilidade das fibras ainda é muito controversa. Por isso, novos estudos mais aprofundados fazem-se necessários (GARCIA *et al.*, 2013).

Outra substância importante na suplementação de atletas humanos e equinos é a L-carnitina. Derivada da lisina, a carnitina é um composto solúvel em água, sendo requerida em transporte de ácidos graxos de cadeia longa para dentro da membrana mitocondrial, onde ocorre o processo de beta oxidação. Tem função fundamental na geração de energia para as células, pois facilita a oxidação da glicose e dos ácidos graxos para a produção de adenosina trifosfato. Isso melhora o desempenho do organismo, pois potencializa a utilização de lipídios para obtenção de energia, poupando as proteínas e possibilitando que as mesmas sejam utilizadas no processo de produção do tecido muscular (TONINI *et al.*, 2011).

O uso de óleos na dieta de equinos aumentou o número de pesquisas para entender as implicações nos parâmetros hematológico e bioquímicos desses animais, e muitos estudos aplicados a humanos mostram um efeito benéfico na utilização de gama-orizanol e L-carnitina como suplementos alimentares. No entanto, o exato mecanismo ainda é pouco compreendido.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da suplementação com gama-orizanol e L-carnitina em equinos da raça quarto de milha praticantes da prova dos três tambores condicionados em baia ou piquete.

Materiais e métodos

Foram avaliados 20 equinos com idade entre 2,5 a 15 anos da raça quarto de milha, clinicamente sadios (sete fêmeas e 13 machos, sendo seis garanhões), pertencentes ao Haras KRM, situado na cidade de Botucatu/SP. Todos os animais eram praticantes da modalidade de tambor. Foram divididos em grupos de animais com baias individuais e piquete, ambos submetidos aos mesmos níveis de atividade física, que consistia em treinamentos de 2 a 3 vezes na semana, durante os meses de março a junho de 2016, nos quais os animais de baia recebiam feno e ração de 12% de proteína, enquanto os animais de piquete só se alimentavam no pasto. Então, desses 10 animais de cada grupo, metade recebia 200 mililitros (ml) do suplemento Energy Horse® (Gama-Oryzanol 1,37%, Ácido Graxos Livres 4,89% em ácidos Oleico, Índice de Iodo 100,50, Índice de Peróxido 1,91 meq/kg KOH, Matéria Insaponificável 3,90%, Índice de Saponificação 192,00 mg KOH/g, L-Carnitina 5.000,0000, Vitamina E 500,0000 UI/kg) como suplementação alimentar, misturados à ração para os estabulados e via oral para os animais de piquete; a outra metade não recebia tratamento. Executaram o percurso de uma prova de tambor em pista de tamanho oficial ($\pm 90 \times 40$ metros) em 3 momentos do experimento (dia 0, dia 30 e dia 60). Os animais foram clinicamente examinados antes e após os exercícios (coloração de mucosas ocular e oral; frequência cardíaca; frequência respiratória; e motilidade intestinal). Foi realizada a pesagem dos animais nos três momentos, e coleta de sangue para dosagem de colesterol total, proteína total, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamil transpeptidase (GGT), fosfatase alcalina (FA), creatinoquinase (CK) em analisador bioquímico automatizado, e glicose, utilizando um glicosímetro portátil em seguida da coleta de sangue por punção venosa.

Os dados foram avaliados empregando-se o teste de análise de variância (ANOVA), seguido de comparações múltiplas pelo teste de Tukey, segundo o programa estatístico PRISM, (Graph Prism for Windows, version 6.01,

GraphPad, EUA). O nível de significância adotado para todos os testes empregados foi de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

Os resultados demonstraram que houve uma diferença significativa no aumento de peso dos animais tratados, menor frequência cardíaca e respiratória, além de uma importante diminuição do tempo de execução de prova dos animais atletas tratados, em relação aos do grupo controle, especialmente 60 dias após o uso do suplemento, e naqueles condicionados em baia em relação aos do grupo do piquete.

A Figura 1 representa o ganho de peso dos grupos quando tratados e não-tratados e acondicionados em diferentes locais e revela que os animais condicionados em baia, mesmo sem nenhum tratamento, ganharam, em média, 20 kg de peso corporal após 60 dias de observação, enquanto os animais do piquete ganharam 13 kg nesse mesmo período. No entanto, os animais que receberam a suplementação alimentar tiveram um aumento de peso significativamente maior em relação aos não suplementados, especialmente o grupo acondicionado em baia, cujo ganho de peso foi de 63 kg após 60 dias de observação, e os animais de piquete obtiveram um aumento de 20 kg. Nossos resultados, então, apontam que a suplementação alimentar com gama-orizanol e L-carnitina aumenta significativamente o peso dos animais. O grupo da baia aumentou 14,3% do seu peso corporal após 60 dias de suplementação, enquanto o grupo do piquete aumentou 10,4% do peso nesse mesmo período.

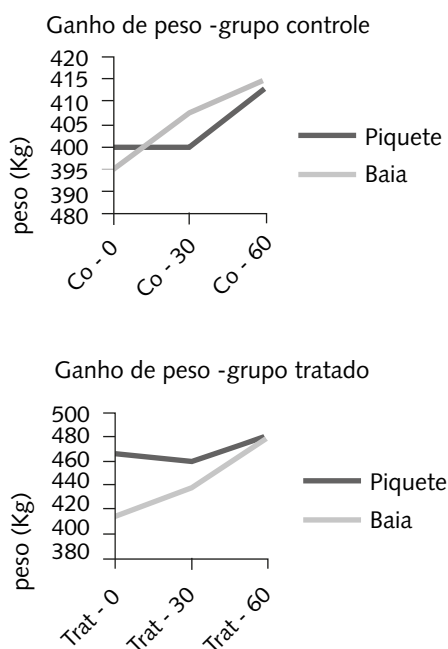


Figura 1 – Ganho de peso dos animais não tratados com suplementação alimentar (Co) e animais tratados (Trat) acondicionados em baia (B) ou piquete (P) nos momentos 0, 30 e 60. Fonte: Elaboração própria.

O tempo de execução de provas realizado pelos animais do grupo Tratados foi significativamente inferior ao dos animais não tratados (18,27s vs 20,52s), respectivamente, no período de avaliação de 60 dias após o início da pesquisa). O grupo de animais suplementados e fechados em estábulos teve uma redução significativa do tempo de prova em comparação ao grupo dos animais do piquete nos três momentos de avaliação da pesquisa, enfatizando a importância do local onde os animais vivem (Figura 2). Após 60 dias de consumo do suplemento alimentar, os cavalos estabulados realizaram a prova em 18,08s, em média, enquanto os animais soltos em piquete executaram em 19,15s.

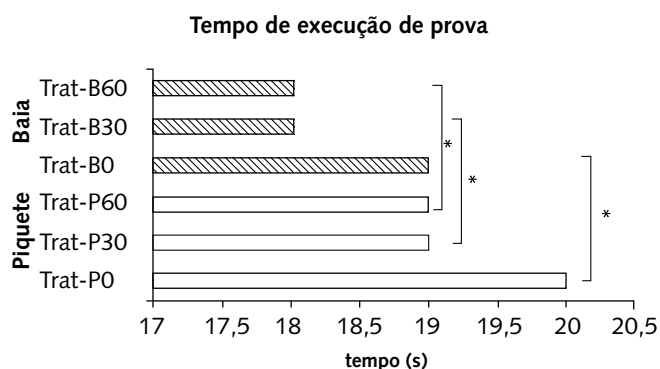


Figura 2 – Tempo de execução da prova de três tambores realizada pelos animais tratados estabulados e no piquete. * $p < 0,05$ (B60 vs P60; B30 vs P30; B0 vs P0).

Fonte: Elaboração própria.

Foi encontrada uma forte correlação negativa (-0,89) entre dois importantes parâmetros – ganho de peso corporal e tempo de execução da prova, em animais encochirados e em piquete –, demonstrando que o aumento do peso dos animais, dado pela suplementação alimentar Energy Horse® (Vita Horse), está diretamente relacionado ao melhor desempenho no tempo da prova de três tambores por equinos da raça quarto de milha.

Além da busca pelo melhor desempenho atlético com a suplementação alimentar, este estudo também avaliou possíveis sequelas gastrointestinais, como distúrbios hepáticos, biliares e danos musculares nos animais tratados e armazenados em baias ou soltos, em comparação aos grupos igualmente armazenados e não suplementados (Tabela 1).

A taxa de proteínas totais séricas encontradas nos animais dos diferentes grupos, bem como as concentrações séricas de glicose, aumentaram gradativamente conforme o tempo de análise dos momentos, no entanto, esse aumento ocorreu de maneira igualitária nos grupos controle e tratado, apontando que a suplementação alimentar não foi diferencial nesses parâmetros nos animais acondicionados em baia ou piquete.

Tabela 1 – Valor médio dos parâmetros laboratoriais avaliados nos animais dos grupos: controle (C) e tratado (T) nos diferentes momentos (0, 30 e 60) mantidos em baia ou piquete.

	GRUPOS	C-0	C-30	C-60	T-0	T-30	T-60
COLESTEROL	PIQUETE	86	133	72	89	128	92
	BAIA	100	156	101	102	144	112
PROTEÍNAS TOTAIS	PIQUETE	3,98	5,80	8,37	4,11	5,91	8,80
	BAIA	4,16	6,20	9,22	4,54	6,78	9,75
GLICOSE	PIQUETE	59,43	80,29	85,67*	64	73,9	91,21*
	BAIA	61,68	79,47	84,60*	61,50	77,81	90,8*
GGT	PIQUETE	6,30	7,23	7,29	6,25	6,89	4,61*
	BAIA	6,19	7,19	6,94	6,26	7,79	4,08*
FA	PIQUETE	398,43	365,71	423,30	404,22	396,50	319,26*
	BAIA	401,23	384,77	401,55	410,8	400,8	300,4*
CK	PIQUETE	277,77	358,21*	371,24*	308,45	412,6*	409,87*
	BAIA	274,86	344,56*	377,29*	305,20	406,55*	411,32*
AST	PIQUETE	294,59	284,36	280,6	288,96	197,20	277,06
	BAIA	284,66	277,80	278,41	274,10	172,72	270,50
ALT	PIQUETE	10,12	9,79	11,36	10,21	10,65	12,08
	BAIA	10,43	9,17	11,20	10,43	10,59	11,98

Fonte: Elaboração própria.

Legenda: Resultados expressos como mediana \pm desvio padrão de 20 animais, por teste Kruskal-Wallis; *p < 0,05 vs T-0.

No momento D60 dos animais tratados, em ambos os manejos, há um discreto aumento na concentração de glicose, apesar de não significativo. A glicose é um nutriente absorvido pelo organismo no trato gastrointestinal. Ela é transportada pelo sistema circulatório até o fígado, sendo modificada em glicogênio. No fígado encontra-se a maior reserva de glicose em forma de glicogênio. A segunda maior reserva encontra-se na musculatura esquelética, onde o glicogênio é transformado em fonte de energia ou é armazenado para ser utilizado futuramente. A energia para a contração muscular no início da atividade física é proveniente da associação do ATP com a CK, denominado Sistema Fosfagênico. Isso é de grande importância em provas de tambor, cuja duração é curta. No decorrer da atividade física, as células utilizam mais glicose, e com o aumento da intensidade do exercício e diminuição no aporte de oxigênio há formação de ácido láctico (SECANI; LÉGA, 2009). Portanto, um maior aporte no fornecimento de glicose pode melhorar o desempenho desses animais atletas. Em um recente estudo foi demonstrado, pela primeira vez, que a administração por via oral de L-carnitina a uma dose alta não teve influência sobre a sensibilidade à insulina ou de glicose periférica em cavalos saudáveis (KRANENBURG *et al.*, 2014). Além disso, tem sido demonstrado que em longo prazo a suplementação oral de L-carnitina não afetou a insulina e a sensibilidade em pacientes diabéticos humanos (COELHO *et al.*, 2005). Em estudo semelhante, Oliveira *et al.* (2010) identificaram que o óleo de arroz não foi um fator diferencial para a disponibilidade de glicose, uma vez que houve aumento de sua taxa também nos animais não-suplementados.

Diferente de diversos autores da literatura citados por Oliveira *et al.* (2016) – que tiveram como resultados, após a suplementação de óleos vegetais na dieta de equinos, um aumento das concentrações séricas de colesterol –, nossos resultados não constataram alterações significativas nos níveis séricos de colesterol após a suplementação alimentar quando comparados aos animais do grupo controle nos diferentes momentos e regime de criação. Em tecidos animais, o colesterol está presente em forma específica de lipídeos. Pode ser absorvido e sintetizado se a dieta for composta por produtos de origem animal e sua síntese acontece principalmente no fígado. Portanto, uma alimentação com gorduras altamente saturadas no homem aumenta a concentração de colesterol em 15 a 25%. Esse aumento tem como consequência a maior oferta de acetil-CoA às células hepáticas, para formação do colesterol. Porém, dietas com gorduras altamente insaturadas diminuem, em grau leve a moderado, a concentração sanguínea de colesterol (GOBESSO *et al.*, 2011).

Já em relação às enzimas GGT e FA, houve importante e significativa redução da concentração sérica nos animais tratados, em comparação aos animais pertencentes ao grupo controle pontualmente no dia 60. A GGT é uma enzima de membrana associada a numerosos tecidos, como fígado, rins, pâncreas e intestino. A maior quantidade de GGT celular está nas células tubulares renais e no epitélio dos ductos biliares. Sua atividade é relativamente alta no fígado de bovinos, equinos, ovinos e caprinos, com menor atividade nos caninos e felinos. Porém, a colestase provoca aumento na atividade sérica desta enzima, em todas as

espécies, com melhor utilidade diagnóstica que a FA, em equinos e ruminantes, em razão do amplo intervalo de referência da FA nessas espécies; mesmo que a GGT esteja presente em muitos tecidos, elevações na sua atividade sérica são observadas primariamente em desordens hepáticas (FRANCISCATO *et al.*, 2006).

Segundo Gobesso *et al.* (2011), a FA, que é uma glicoproteína identificada na membrana das células de vários tecidos e em altos níveis no fígado, teve valores séricos significativamente elevados logo após a suplementação com óleo de arroz. Já no grupo suplementado com óleo de soja, houve diminuição significativa da concentração sérica de FA. Portanto, nossos resultados apontam que a suplementação alimentar realizada não desencadeia distúrbios hepáticos e biliares, uma vez que as enzimas GGT e FA, envolvidas diretamente nesse processo, encontram-se dentro dos valores de referência de maneira significativa após 60 dias de consumo.

A dosagem da enzima CK, um importante marcador de lesão muscular, mostra que há um aumento significativo na liberação dessa enzima na corrente sanguínea de animais atletas que receberam tratamento, em relação aos animais não tratados. Apesar dos níveis de enzima AST terem uma significativa redução no momento D30 dos animais tratados comparados aos do grupo controle, esse perfil foi revertido no momento D60 com uma elevação das taxas enzimáticas, sem diferenças estatísticas quando comparado no mesmo período. A enzima CK é considerada um indicador altamente sensível e específico de lesão muscular, já que os principais tecidos fontes dessa enzima são as fibras musculares (FRANCISCATO *et al.*, 2006). Interessantemente, nossos resultados mostram que há um aumento significativo de CK em animais tratados no momento D60. Essa elevação nos níveis séricos de CK encontrada nesse trabalho, diverge dos resultados de Ribeiro *et al.* (2004), que realizaram um estudo com equinos utilizados em provas de resistência e não encontraram diferenças significativas entre os valores de CK antes e após o exercício. Os valores normais de CK podem se diversificar de acordo com a atividade física realizada, idade e sexo (FRANCISCATO *et al.*, 2006).

É sabido que em todas as espécies domésticas a atividade da AST é alta no fígado, portanto, na lesão hepática aguda ou crônica, a atividade sérica de AST está elevada. No entanto, equinos também podem apresentar um aumento nos valores de AST em consequência da miopatia. Embora a CK seja mais específica para a necrose muscular do que a AST, destaca-se que a definição dessas em equinos representa interessante potencialidade no diagnóstico, e auxilia no prognóstico, devido aos

diferentes períodos de meia-vida de suas atividades no soro (FRANCISCATO *et al.*, 2006).

Desta forma, estas enzimas são destaque na clínica médica dos equinos atletas, havendo assim, a necessidade do seu monitoramento antes e após o exercício (SALES *et al.*, 2013), uma vez que o exercício induz mudanças reversíveis na ultraestrutura do músculo esquelético dos cavalos, como a elevação da permeabilidade do sarcolema e das proteínas musculares, como a mioglobina, CK e a AST, que são liberadas na circulação (THOMASSIAN *et al.*, 2007). Nossos resultados revelaram que há um aumento significativo da enzima CK com o decorrer do tempo em todos os grupos e, no entanto, não podemos atribuir essa elevação ao uso de suplemento alimentar, uma vez que esse mesmo perfil elevatório ocorre em animais não suplementados, indicando que os níveis de enzimas aumentadas podem ser em decorrência da atividade atlética dos animais, apenas. Estudos recentes apontam que a CK nos animais suplementados com óleo de soja apresentou-se, no início, mais elevada do que os animais suplementados com óleo de arroz, porém ao decorrer do tempo os valores dos dois grupos chegaram ao mesmo resultado, demonstrando que não houve efeito significativo da suplementação nos dois grupos (GOBESSO *et al.*, 2011).

A análise enzimática da ALT não demonstrou alterações significativas dos distintos grupos nos momentos observados. Houve uma discreta elevação da taxa dessa enzima no momento D60, porém isso ocorre nos dois grupos de maneira igualitária. ALT é uma enzima de extravasamento, que está livre no citoplasma. A atividade de ALT no músculo é menor do que no fígado, porém como a massa muscular é maior, o músculo constitui uma fonte significativa de extravasamento. ALT é encontrada abundantemente no citosol de hepatócitos, sendo sua atividade cerca de 3.000 vezes maior do que a atividade sérica. Assim, em caso de injúria ou lesão hepatocelular a liberação de ALT das células hepáticas lesionadas aumentam a mensuração de ALT no soro. Embora seja usualmente específica ao fígado, também é encontrada nos rins a em escala menor nos músculos esqueléticos e cardíacos (NOLETO, 2012). Como essa enzima não apresentou alterações significativamente diferentes entre os grupos estudados no nosso trabalho, consideramos que não houve lesões musculares ou hepáticas nos animais suplementados.

De acordo com as avaliações clínicas realizadas nos animais, não foram observadas diferenças na motilidade intestinal dos grupos controle e tratado, sendo importante enfatizar o fato de que a suplementação dada aos animais não teve impacto negativo para o processo gastrointestinal. A coloração da mucosa ocular e oral também não apresentou alteração significativa em relação aos animais

aconicionados em baias e soltos no piquete, nem em relação à suplementação dada via oral ou misturada à ração.

Uma vez que os animais suplementados e estabulados demonstraram maior ganho de peso e melhor desempenho nas provas de três tambores, alguns parâmetros encontraram-se aumentados, como a disponibilidade de glicose, importante para o consumo energético durante a execução das provas; CK e AST, que, apesar de apontarem danos musculares, também encontram-se aumentadas em animais controle, indicando que podem não ser influenciadas pelo suplemento alimentar e sim pelos exercícios físicos realizados. Além disso, houve supressão significativa das enzimas GGT e FA, enfatizando que o uso do suplemento alimentar não desencadeia distúrbios hepáticos e biliares.

Conclusão

Portanto, os resultados deste trabalho demonstraram que o uso dos suplementos gama-orizanol e L-carnitina na alimentação tiveram um impacto altamente positivo no desempenho dos animais atletas da raça quarto de milha em relação aos animais sem a suplementação, especialmente após o período de 60 dias de uso nos animais estabulados. No entanto, mais estudos são necessários para detalhar os mecanismos envolvidos, para que essa alta resistência e força sejam alcançadas e, assim, aumentar a segurança na utilização desses suplementos sem que ocorram sequelas nos animais. ☺

Referências

- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Espécies**: equídeos. Brasília, DF, 2016. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/equideos>. Acesso em: 8 out. 2016.
- COELHO, C. F. *et al.* Aplicações clínicas da suplementação de L-carnitina, **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 5, p. 651-659, 2005.
- CONCEIÇÃO, M. *et al.* Hemograma e bioquímica sérica de equinos da raça quarto de milha antes e após o exercício. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v. 7, p. 87-92, 2001.
- DONOFRE, A. C. *et al.* Equilíbrio de cavalos da raça Quarto de Milha participantes da modalidade de três tambores por meio de proporções corporais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 2, p. 327-332, 2014.
- EVANS, D. L. Physiology of equine performance and associated tests of function. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 39, p. 373-383, 2007.
- FRANCISCATO, C. *et al.* Atividade sérica das enzimas AST, CK e GGT em cavalos Crioulos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 41, n. 10, p. 1561-1565, 2006.
- GARCIA, H. A. C. *et al.* Parâmetros plasmáticos e digestibilidade aparente em equinos recebendo concentrado com óleo de arroz. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 37, n. 5, p. 435-442, 2013.
- GOBESSO, A. A. O. *et al.* Digestibilidade aparente e concentrações plasmáticas de triglicérides e colesterol em equinos alimentados com fontes de óleo vegetal. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 1, p. 254-263, 2011.
- GONZAGA, I. V. F. **Gama-orizanol para equinos**. 2013. 85p. Tese (Doutorado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.
- KRANENBURG, L. C. *et al.* The effect of long-term oral L-carnitine administration on insulin sensitivity, glucose disposal, plasma concentrations of leptin and acylcarnitines, and urinary acylcarnitine excretion in warmblood horses. **Veterinary Quarterly**, Londres, v. 34, n. 2, p. 85-91, 2014.
- MORGADO, E.; GALZERANO, L. Utilização de óleos em dietas para equinos. **Revista Eletrônica de Veterinária REDVET**, [S. l.], v. 7, n. b10, p. 1-14, 2006.
- NOLETO, P. G. **Perfil bioquímico sérico de equinos submetidos a prova de esforço físico**. 2012. 55p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.
- OLIVEIRA, R. N. *et al.* Avaliação hematológica e bioquímica de equinos suplementados com óleo de arroz semirrefinado, rico em gamaorizanol. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1043-1047, 2010.
- OLIVEIRA, T. M. *et al.* Adaptação metabólica de equinos suplementados com óleos vegetais em testes de longa duração. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 68, n. 2, p. 265-270, 2016.
- RIBEIRO, C. R. *et al.* Avaliação de constituintes séricos em equinos e muare submetidos à prova de resistência de 76 km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1081-1086, 2004.
- SALES, J. V. F. *et al.* Expressão do Mg+2, CK, AST e LDH em equinos finalistas de provas de enduro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 1, p. 105-110, 2013.
- SECANI, A.; LÉGA, E. Fisiologia do exercício em equinos. **Nucleus Animalium**, Ituverava, v. 1, n. 2, p. 53-66, 2009.
- THOMASSIAN, A. *et al.* Atividades séricas de aspartato aminotransferase, creatina quinase e lactato desidrogenase de equinos submetidos ao teste padrão de exercício progressivo em esteira. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 183-190, 2007.
- TONINI, W. C. T. *et al.* Níveis de carnitina na ração no desempenho corporal de tricogâsterléri. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 6, p. 1526-1532, 2011.

Sarcoma de tecidos moles em cães: a ressecção cirúrgica cura?

Soft tissue sarcomas in dogs: does surgical resection heal?

Resumo

Os sarcomas de tecidos moles (STM) são um grupo de diferentes tipos de tumores de origem mesenquimal; descritos como massas pseudo-encapsuladas com margens mal definidas que apresentam índices altos de recidiva local em comparação ao baixo a moderado potencial metastático. Ocorrem tanto em seres humanos quanto em animais; compreendem aproximadamente 15% de todos os tumores de pele e de subcutâneo em cães. Devido ao seu comportamento invasivo, a remoção cirúrgica é o tratamento indicado para os cães acometidos por tais tumores, incluindo-se também a radioterapia após ressecção incompleta, pois o papel da quimioterapia ainda é pouco conhecido.

Abstract

Soft tissue sarcomas (STS), a heterogeneous group of different tumors of mesenchymal origin, are described as pseudo-encapsulated masses with poor defined margins that present high rates of local recurrence compared to the low to moderate metastatic potential. They can occur both in humans and animals, and in dogs they comprise approximately 15% of all skin and subcutaneous tumors. Due to its invasive behavior, surgery is the main treatment applied for these tumors in dogs, and it can be combined to radiotherapy after the incomplete resection because the role of chemotherapy is still very poorly understood in this subject.

Recebido em 25 de maio de 2018 e aprovado em 11 de fevereiro de 2019.

Patrícia Ferreira de Castro¹
Andressa Gianotti Campos¹
Julia Maria Matera²

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87
São Paulo/SP, Brasil
CEP: 05508-270
✉ pfcastro@usp.br



Palavras-chave

Neoplasia mesenquimal. Oncologia. Tumor.
Cirurgia oncológica. Canina.

Keywords

Mesenchymal neoplasia. Oncology. Tumor.
Oncologic surgery. Canine.

Nos últimos anos a procura pelo atendimento na área da oncologia veterinária tem apresentado um aumento expressivo e, por consequência, uma demanda maior por parte da classe veterinária em conhecer os resultados obtidos com os métodos terapêuticos empregados. Dentro deste contexto surgem questões, como se para os sarcomas de tecidos moles em cães a ressecção ampla ou a radical (amputação) é o tratamento mais indicado, e se deve ou não ser associada à outra terapia antineoplásica. Este artigo apresenta uma revisão do assunto.

Revisão da literatura

Sarcoma de tecidos moles em cães

Os sarcomas de tecidos moles (STM) são um grupo de diferentes tipos de tumores de origem mesenquimal com características histológicas e comportamento biológico semelhantes (DERNELL *et al.*, 1998; DENNIS *et al.*, 2011; EHRHART, 2005). Ocorrem tanto em seres humanos quanto em animais (EHRHART, 2005) e compreendem de 9 a 15% (DENNIS *et al.*, 2011; EHRHART, 2005; MACEWEN; POWERS; MACY, 2001) de todos os tumores de pele e de subcutâneo observados em cães, nos quais tendem a se apresentar como massas solitárias (Figuras 1 e 2) em animais de idade média a avançada, sem predileção por sexo ou raça (LIPTAK; FORREST, 2007; HOHENHAUS *et al.*, 2016).

¹ Médica-veterinária do Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais/HOVET e Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária, Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia, São Paulo/SP, Brasil.

² Docente da Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Cirurgia, São Paulo/SP, Brasil.



Figura 1 – STM localizado em membro torácico direito em cadela, SRD, 11 anos de idade. **Fonte:** Paciente atendido no Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais, do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET-FMVZ/USP).



Figura 2 – STM localizado em membro pélvico direito em cadela, sem raça definida (SRD), 10 anos de idade. **Fonte:** Paciente atendido no Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais (HOVET-FMVZ/USP).

Os sarcomas de tecidos moles podem surgir de muitos tecidos conjuntivos não ósseos, com aparência histológica distinta, classificada em diferentes graus (Tabela I) e recebendo o nome do tecido conjuntivo a partir do qual se presume ter sido sua origem (EHRHART, 2005).

Tabela 1 – Escala padronizada por Kuntz et al. (1997) para determinação do grau tumoral dos STM.

PONTUAÇÃO	GRAU DE DIFERENCIAÇÃO	MITOSES (Nº DE FIGURAS/10 HPF)	NECROSE
1	Assemelham-se a tecido mesenquimal adulto normal	0 – 9	nenhum
2	Tipo histológico específico	10 – 19	< 50% do tecido examinado é necrótico
3	Indiferenciado	> 20	> 50% do tecido examinado é necrótico

Grau 1 = pontuação cumulativa ≤ 4 para as 3 categorias;
 Grau 2 = pontuação cumulativa de 5 a 6 para as 3 categorias;
 Grau 3 = pontuação cumulativa ≥ 7 para as 3 categorias.

Fonte: Kuntz et al. (1997).

Nem todos os tumores não ósseos com o sufixo “sarcoma” pertencem ao grupo dos STM (EHRHART, 2005), que comumente incluem: hemangiopericitoma (recentemente reclassificado como tumor de parede perivascular), fibrossarcoma e tumores de bainha de nervo periférico. Hemangiossarcoma e sarcoma histiocítico, por exemplo, são excluídos do grupo por apresentarem comportamento biológico mais agressivo que os demais tumores e por sua célula de origem ser hematopoiética (HOHENHAUS *et al.*, 2016).

Quanto ao comportamento biológico, podem surgir em qualquer localização anatômica do corpo, sendo a pele e o subcutâneo os sítios mais acometidos; tendem a se apresentar com uma pseudocápsula macia a firme, com margens histologicamente mal definidas ou infiltrados ao longo do plano facial, ou seja, são localmente invasivos; podem metastatizar pela via hematogênica, sendo incomum a metástase para linfonodos regionais (LIPTAK; FORREST, 2007); e a taxa metastática depende do grau tumoral – varia de 15% (KUNTZ *et al.*, 1997) a 20% (SELTING, 2010) para o grau I e II e, de 41% (KUNTZ *et al.*, 1997) a 50% (SELTING, 2010) para o grau III.

O desenvolvimento de STM associado à vacinação, materiais estranhos ou injeções é frequentemente relatada em gatos e humanos. Em cães, há relatos de casos isolados da ocorrência de STM relacionados a lesões prévias, infecções parasitárias (*Spirocerca lupi*), implantes e trauma, porém na maioria dos casos sua etiologia é desconhecida (BRAY, 2016).

Indicadores prognósticos

Estudos com STM em cães ao longo dos últimos 20 anos têm sugerido que o grau do tumor e as margens de ressecção estreitas têm significância prognóstica (DERNELL *et al.*, 1998; EHRHART, 2005). Autores que examinaram o grau de ressecção concluíram que uma exérese ampla diminui a probabilidade de recorrência local (BANKS *et al.*, 2004; DENNIS *et al.*, 2011; KUNTZ *et al.*, 1997; MCSPORRAN, 2009; STEFANELLO *et al.*, 2011) e que o grau do tumor tem bom valor prognóstico, ou seja, o aumento da classificação histológica prevê a recorrência do tumor após excisão com margens cirúrgicas estreitas (MCSPORRAN, 2009; STEFANELLO *et al.*, 2011).

Kuntz *et al.* (1997) estudaram variáveis prognósticas para STM em tronco e extremidades de cães tratados com ressecção tumoral ampla com margem ou cirurgia radical (amputação), e encontraram como indicador prognóstico para recidiva local a avaliação das margens cirúrgicas, e para desenvolvimento de metástases e tempo de sobrevivência o grau do tumor, mais especificamente as variáveis: taxa de mitose tumoral para metástase; taxa de mitose; e porcentagem de necrose para sobrevivência.

McSporran (2009) avaliou o grau tumoral de STM em cães excisados com margens histológicas ≤ 1 mm, ou que não incluíram tecido fora da pseudocapsula, e encontrou a porcentagem de recorrência local durante um seguimento mínimo de 24 meses de 7% para grau I, 34% para grau II e 75% para tumores de grau III.

McKee *et al.* (2004), ao estudarem STM primários de tronco ou de extremidade em humanos, concluíram que sarcomas de extremidades ressecados com margens microscopicamente positivas, bem como aqueles ressecados com margens negativas menores que 10 mm, correm o risco de recorrência local, independentemente de outros fatores.

Embora alguns subtipos de STM possam ser comumente associados a tumores de baixo grau (por exemplo, tumores de bainha de nervo periférico maligno) e outros associados a tumores de alto grau (por exemplo, rabdomiossarcomas), o subtipo não é considerado como fator prognóstico em cães e/ou seres humanos (COINDRE *et al.*, 2001; KUNTZ *et al.*, 1997; SELTING *et al.*, 2005).

Tratamento

Por serem localmente invasivos e apresentarem baixo potencial metastático, o controle local do tumor é o ponto mais importante do tratamento dos STM em cães (LIPTAK; FORREST, 2007), e a cirurgia oncológica é o principal recurso utilizado para seu tratamento (MACEWEN; POWERS; MACY, 2001; THRALL; GILLETTE, 1995).

Um dos princípios fundamentais da oncologia cirúrgica é a completa excisão em massa. Para os STM em

cães, a ressecção com margens de três cm laterais e um plano fascial profundo (Figura 3) tem sido tradicionalmente recomendada (DERNELL *et al.*, 1998; EHRHART, 2005), apesar da margem ideal para um resultado cirúrgico seguro ainda ser desconhecida e constante foco de debate em medicina humana e veterinária (DICKINSON *et al.*, 2006; ENGELLAU *et al.*, 2007; MCKEE *et al.*, 2004; MCSPORRAN, 2009; STEFANELLO *et al.*, 2008; STOJADINOVIC *et al.*, 2002).

No entanto, remoção com margens extensas não é garantia, por si só, de cura para todos os pacientes. Enquanto margens amplas podem ser alcançadas quando tumores surgem em partes do corpo como o tronco, por exemplo, onde a reconstrução é possível, mais de 50% dos STM surgem no esqueleto apendicular (BRAY *et al.*, 2014; CHASE *et al.*, 2009; KUNTZ *et al.*, 1997), onde ressecções amplas aumentam o risco de que nervos, vasos, músculos ou estruturas tendíneas importantes se envolvam na ressecção, e por consequência, margens profundas adequadas acabam por ser menos atingíveis (BRAY, 2017).

Para casos em que houve ressecção com margens estreitas ou incompletas, recomenda-se a ampliação da cicatriz cirúrgica ou a associação de radioterapia para reduzir a probabilidade de recorrência e melhorar a sobrevivência; para se conseguir a completa ressecção do STM em extremidades a amputação pode ser necessária (HOHENHAUS *et al.*, 2016). A radioterapia associada à cirurgia parece resultar em adequado controle de recidiva local, e pode ser considerada como uma alternativa à cirurgia quando a exérese ampla com margens não é possível (KUNTZ *et al.*, 1997).

O emprego da radioterapia em cães com STM incompletamente ressecados baseia-se, em parte, em seu uso na medicina. Uma análise dos dados de 39 estudos que incluíram mais de 3.500 pacientes humanos mostrou que a radioterapia melhorou o controle local após a cirurgia, no entanto, vários tipos diferentes de radioterapia e protocolos de tratamento foram utilizados, situação semelhante ao que ocorre em pacientes veterinários (STRANDER; TURESSON; CAVALLIN-STÅHL, 2003).

Em humanos, para casos de sarcomas de extremidades, ressecados com margens microscopicamente positivas ou estreitas (< 1 cm), o tratamento adicional deve ser considerado, o que torna estes pacientes os principais candidatos a novas terapias destinadas a melhorar o controle local (MCKEE *et al.*, 2004).

O papel da quimioterapia no tratamento de cães com STM ainda não está bem definido (MACEWEN; POWERS; MACY, 2001; SELTING, 2010); parece apresentar maior benefício para melhorar o controle local que o sistêmico (SELTING, 2010). Situações nas quais recomenda-se a quimioterapia incluem: cães com tumores não ressecáveis,

tipos histológicos de grau III (SELTING, 2010) e doença metastática (MACEWEN; POWERS; MACY, 2001).

Estudos de meta-análise em humanos mostraram que protocolos quimioterápicos únicos ou múltiplos não aumentaram significativamente o tempo de sobrevida, quando comparados à intervenção cirúrgica sozinha, porém a quimioterapia sistêmica pós-operatória aumentou de forma significativa o intervalo livre de doença,

independentemente do grau histológico. A doxorrubicina e ifosfamida foram os quimioterápicos com maior eficácia individual no tratamento dos STM, sendo que as taxas de resposta foram menores que 30% (KOMDEUR *et al.*, 2002; SARCOMA META-ANALYSIS COLLABORATION, 1997). Em cães, a combinação destes dois agentes não parece ser mais eficaz que o uso da doxorrubicina isolada (LIPTAK; FORREST, 2007).

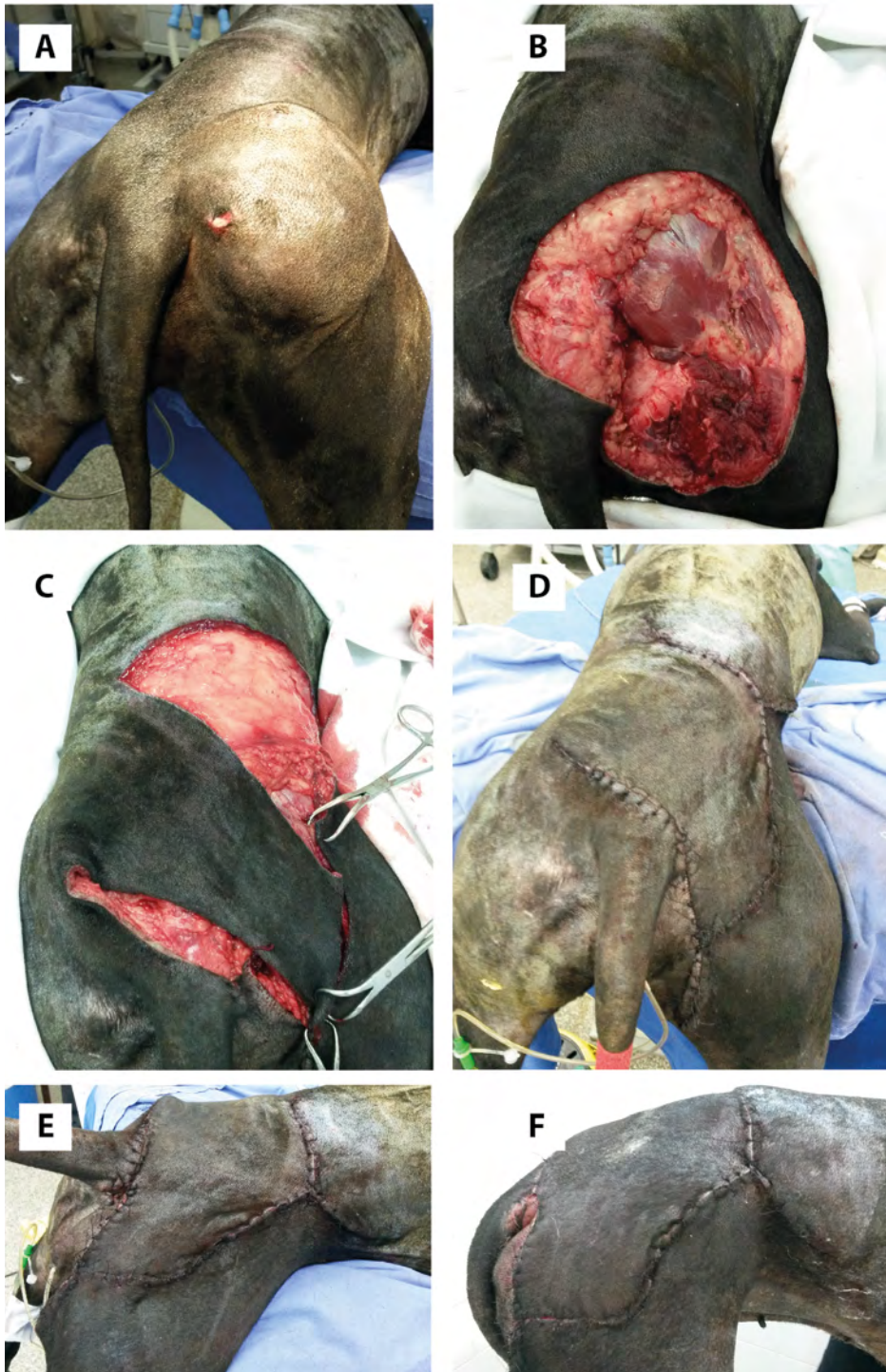


Figura 3 – Sequência de imagens da exérese (A e B) de STM localizado em membro pélvico direito, confecção de retalho cutâneo (C, D e E) e ferida cirúrgica aos três dias de pós-operatório (F) em cadela, SRD, nove anos de idade.

Fonte: Paciente atendido no Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais (HOVET-FMVZ/USP).

Conclusão

Em cães, o tratamento de escolha para STM cutâneos e subcutâneos ressecáveis não metastáticos é o cirúrgico, que visa a exérese do tumor primário, pseudocápsula e uma grande margem de tecido normal. O grau histológico do tumor e a avaliação das margens cirúrgicas guiam a decisão sobre a adoção de terapia complementar.

Nos cães, a radioterapia combinada ao tratamento cirúrgico é excelente para o controle em longo prazo deste tipo de tumor ressecado, com margens estreitas ou comprometidas. A quimioterapia adjuvante e/ou neoadjuvante pode ser associada ao tratamento cirúrgico, no entanto ainda não existem protocolos estabelecidos com base em estudos clinicamente bem delineados ou de meta-análise. ☺

Referências

- BANKS, T. *et al.* Soft tissue sarcomas in dogs: a study assessing surgical margin, tumour grade and clinical outcome. **Australian Veterinary Practitioner**, Hurstville, v. 34, n. 4, p. 142-147, 2004. Disponível em: <https://bit.ly/2YLu59k>. Acesso em: 3 maio 2015.
- BRAY, J. P. *et al.* Canine soft tissue sarcoma managed in first opinion practice: outcome in 350 cases. **Veterinary Surgery**, Malden, v. 43, n. 7, p. 774-782, 2014.
- BRAY, J. P. Soft tissue sarcoma in the dog – part 1: a current review. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 57, n. 10, p. 510-519, 2016. Disponível em: <https://bit.ly/2M9c9UP>. Acesso em: 5 fev 2018.
- BRAY, J. P. Soft tissue sarcoma in the dog – part 2: surgical margins, controversies and a comparative review. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 58, n. 2, p. 63-72, 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jsap.12629>. Acesso em: 5 fev. 2018.
- CHASE, D. *et al.* Outcome following removal of canine spindle cell tumours in first opinion practice: 104 cases. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 50, n. 11, p. 568-574, 2009. Disponível em: <https://bit.ly/2Qmfik>. Acesso em: 6 out. 2016.
- COINDRE, J. M. *et al.* Predictive value of grade for metastasis development in the main histologic types of adult soft tissue sarcomas: a study of 1240 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. **Cancer**, New York, v. 91, n. 10, p. 1914-1926, 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11346874>. Acesso em: 26 maio 2015
- DENNIS, M. M. *et al.* Prognostic factors for cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas in dogs. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 48, n. 1, p. 73-84, 2011.
- DERNELL, W. S. *et al.* Principles of treatment for soft tissue sarcoma. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 13, n. 1, p. 59-64, 1998.
- DICKINSON, I. C. *et al.* Surgical margin and its influence on survival in soft tissue sarcoma. **ANZ Journal of Surgery**, Carlton, v. 76, n. 3, p. 104-109, 2006.
- EHRHART, N. Soft-tissue sarcomas in dogs: a review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 41, n. 4, p. 241-246, 2005. Disponível em: <https://bit.ly/30JC3Sc>. Acesso em: 3 maio 2015.
- ENGELLAU, J. *et al.* Identification of low-risk tumours in histological high-grade soft tissue sarcomas. **European Journal of Cancer**, Oxford, v. 43, n. 13, p. 1927-1934, 2007.
- HOHENHAUS, A. E. *et al.* Canine cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcoma: an evidence-based review of case management. **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 52, n. 2, p. 77-89, 2016. Disponível em: <https://bit.ly/2HQPC9F>. Acesso em: 9 jan. 2017.
- KOMDEUR, R. *et al.* Metastasis in soft tissue sarcomas: prognostic criteria and treatment perspectives. **Cancer and Metastasis Reviews**, Dordrecht, v. 21, n. 2, p. 167-183, 2002.
- KUNTZ, C. A. *et al.* Prognostic factors for surgical treatment of soft-tissue sarcomas in dogs: 75 cases (1986-1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Lakewood, v. 211, n. 9, p. 1147-1151, 1997.
- LIPTAK, J. M.; FORREST, L. J. Soft tissue sarcomas. *In*: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. (ed.). **Small animal clinical oncology**. 4. ed. Philadelphia: WB Saunders, 2007. p. 425-454.
- MACEWEN, E. G.; POWERS, B. E.; MACY, D. Soft tissue sarcomas. *In*: WITHROW, S. J.; MACEWEN, E. G. (ed.). **Small animal clinical oncology**. 3. ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p. 283-304.
- MCKEE, M. D. *et al.* The prognostic significance of margin width for extremity and trunk sarcoma. **Journal of Surgical Oncology**, New York, v. 85, n. 2, p. 68-76, 2004. Disponível em: <https://bit.ly/2M9bVwX>. Acesso em: 4 maio 2015.
- MCSPORRAN, K. D. Histologic grade predicts recurrence for marginally excised canine subcutaneous soft tissue sarcomas. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 46, n. 5, p. 928-933, 2009.
- SARCOMA META-ANALYSIS COLLABORATION. Adjuvant chemotherapy for localised resectable soft-tissue sarcoma of adults: meta-analysis of individual data. **Lancet**, London, v. 350, n. 9092, p. 1647-1654, 1997.
- SELTING, K. A. *et al.* Outcome of dogs with high-grade soft tissue sarcomas treated with and without adjuvant doxorubicin chemotherapy: 39 cases (1996-2004). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Lakewood, v. 227, n. 9, p. 1442-1448, 2005.
- SELTING, K. A. Soft-tissue sarcomas. *In*: HENRY, C. J.; HIGGINBOTHAM, M. L. (ed.). **Cancer management in small animal practice**. Missouri: Saunders, 2010.

STEFANELLO, D. *et al.* Marginal excision of low-grade spindle cell sarcoma of canine extremities: 35 dogs (1996-2006). **Veterinary Surgery**, Malden, v. 37, n. 5, p. 461-465, 2008.

STEFANELLO, D. *et al.* Canine cutaneous perivascular wall tumors at first presentation: clinical behavior and prognostic factors in 55 cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Malden, v. 25, n. 6, p. 1398-1405, 2011. Disponível em: <https://bit.ly/2VQmPHs>. Acesso em: 21 ago. 2016.

STOJADINOVIC, A. *et al.* Analysis of the prognostic significance of microscopic margins in 2,084 localized primary adult soft tissue

sarcomas. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 235, n. 3, p. 424-434, 2002.

STRANDER, H.; TURESSON, I.; CAVALLIN-STÅHL, E. A. Systematic overview of radiation therapy effects in soft tissue sarcomas. **Acta Oncologica**, London, v. 42, n. 5-6, p. 516-531, 2003. Disponível em: <https://bit.ly/30Lf8Gj>. Acesso em: 17 jan. 2018.

THRALL, D. E.; GILLETTE, E. L. Soft-tissue sarcomas. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**, Philadelphia, v. 10, n. 3, p. 173-179, 1995. Disponível em: <https://bit.ly/2WnpCfw>. Acesso em: 17 maio 2015.

Exodontia em ovino santa inês: relato de caso

Tooth extraction in santa inês sheep: a case report

Resumo

A saúde e o desempenho dos pequenos ruminantes estão diretamente ligados à qualidade de sua dentição. Em diversas regiões do mundo as enfermidades odontológicas são responsáveis por grandes perdas econômicas, decorrentes das dificuldades na preensão, mastigação dos alimentos e na ruminação. Este trabalho relata um caso de exodontia de primeiro molar em uma ovelha que apresentava emagrecimento progressivo, permitindo a conclusão de que quanto antes for realizado o diagnóstico, melhor será o prognóstico do paciente.

Abstract

Health and performance of small ruminants are directly linked to the quality of their dentition. Dental diseases are responsible for great economic losses in several regions in the world, due to difficulties in the grasping, chewing of food and rumination. The aim of this study was to report a case of first molar extraction in a sheep with progressive weight loss showing that the sooner the diagnosis is firm, the better the patient's prognosis will be.

Recebido em 28 de novembro de 2018 e aprovado em 13 de fevereiro de 2019.

Joyce Cristina Ripi Fioruci¹
Luana Venâncio Garcia¹
Mariana de Andrade Ferreira¹
Caio José Xavier Abimussi²
Allison Maldonado³

Rodovia BR 153, km 338
Ourinhos /SP, Brasil
CEP: 19909-100
✉ joycefioruci@gmail.com



Palavras-chave

Perdas econômicas. Exodontia. Produção.
Ovinos.

Keywords

Economic losses. Tooth extraction. Production.
Sheep.

Ovinos e outros ruminantes possuem duas dentições sucessivas (difiodontes), com a dentição decídua composta por 20 dentes e a dentição permanente com 32. No lugar dos incisivos e caninos maxilares, os ruminantes possuem uma almofada dental, composta por tecido conjuntivo denso de colágeno, coberto por queratina (CUTRESS *et al.*, 1972; WEINREB; SHARAV, 1964). Nos ruminantes, cada grupo dentário assume papel independente. Os incisivos apresentam grande importância para a prensão dos alimentos e os dentes molares e pré-molares possuem papel primordial no processo mastigatório (PUGH, 2004). As doenças nos dentes e no periodonto afetam severamente o estado geral de saúde do animal (GREENE, 2001; PUGH, 2004). Em ruminantes, o diagnóstico de afecções orais é dificultado pelo não conhecimento de que tais doenças representam um problema sanitário de rebanhos; pelo pouco hábito dos profissionais da área; pelo fato dos criadores examinarem a cavidade oral dos animais; e pela falta de sintomatologia específica (WEINREB; SHARAV, 1964). O desgaste excessivo dos incisivos é comum em ovinos da Nova Zelândia e Austrália. Em algumas regiões, os dentes estão desgastados até o nível da gengiva antes dos três a quatro anos de idade (CHRISTIANSEN; KISSLING, 1986; KANE, 1984; ORR). Devido ao comprometimento da prensão dos alimentos, da mastigação e da ingestão de água, o animal fica

¹ Discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio).

² Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio).

³ Departamento de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (Unifio).

vulnerável a infecções secundárias devido à dor e sensibilidade dentária ocasionadas pelo desgaste excessivo ou perda dental (SHERMAN, 1983).

Na Escócia, 70% dos pequenos ruminantes eram descartados precocemente, mesmo antes do final da vida reprodutiva, por apresentarem problemas na dentição, gerando prejuízo financeiro de 30% a 40%, pelo baixo escore corporal dos animais afetados (HERRTAGE; SAUNDERS; TERLECKI, 1974).

Este trabalho relata um caso de exodontia em um ovino santa inês de cinco anos de idade, descrevendo os aspectos clínicos, anestésicos e o tratamento cirúrgico do caso.

Relato de caso

No dia 4 de outubro de 2018, foi encaminhada para o setor de cirurgia de grandes animais do Hospital Veterinário Roque Quagliato do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos, uma ovelha da raça santa inês de cinco anos de idade, lactante, pesando 35 kg, criada em

regime intensivo, alimentada com feno, concentrado e sal mineral *ad libitum*.

Ao exame clínico o animal apresentava-se alerta, mucosa ocular levemente hipocorada e seu escore corporal analisado de acordo com a escala proposta por Jefferies (1961), que apresenta valores de 0 a 5, foi considerado como 1. O animal apresentava emagrecimento progressivo e toda vez que se alimentava, parte do conteúdo caía de sua boca. Na inspeção da cavidade oral foi constatado que seus dentes apresentavam grandes falhas de oclusão, sendo esta imparcialidade palpada no exame físico pelo lado externo da face rostral.

No exame radiográfico foi verificada a presença de erupção dentária exacerbada do 1º molar da maxila esquerda e diastema entre 4º pré-molar e 1º molar da mandíbula esquerda (Figura 1). Devido a este diastema entre os dentes da mandíbula, o 1º molar estava crescendo exacerbadamente por causa da impossibilidade de ocorrer seu desgaste natural, sendo sugerido sua remoção cirúrgica.



Figura 1 – Posicionamento látero-lateral de radiografia da arcada dentária.
Fonte: Joyce C. R. Fioruci.

No manejo pré-operatório, o animal foi submetido a jejum sólido e hídrico por 24 e 12 horas, respectivamente. Previamente ao procedimento cirúrgico, a boca foi higienizada com 500 ml de uma solução composta por clorexidine alcoólico 5%. Ato contínuo, foi administrado como medicação pré-anestésica 0,05 mg/kg de xilazina, 2% pela via intramuscular. Decorridos 15 minutos, um cateter 18G foi introduzido e fixado na veia cefálica esquerda, por onde foi administrado propofol na dose de 2,5 mg/kg associado com cetamina na dose de 1 mg/kg.

Uma sonda orotraqueal, tamanho 10, foi introduzida pela cavidade oral até seu devido posicionamento na região da laringe e a acoplada a um circuito anestésico com reinalação de gases. Desta forma, o animal foi mantido sob

anestesia inalatória com isoflurano, respeitando os estágios e planos de anestesia propostos por Guedel (Estágio III/Plano 2). Como anestesia local, foi realizado o bloqueio do nervo infraorbitário esquerdo com bupivacaína 0,5% sem vasoconstritor, na dose de 1 mg/kg, utilizando uma agulha 25x0,7.

No centro cirúrgico o abre-boca foi colocado no animal e a desmotomia dos ligamentos periodontais foi realizada com o emprego do boticão juntamente com a alavanca periapical, para a penetração entre dente e alvéolo, e assim foi concluída a extração do dente. Também foi necessária a utilização da grossa odontológica para corrigir muitos problemas de oclusão na dentição. Durante a cirurgia foram encontradas bolsas periodontais instaladas em alguns dentes repletas de restos de alimento (Figura 2).

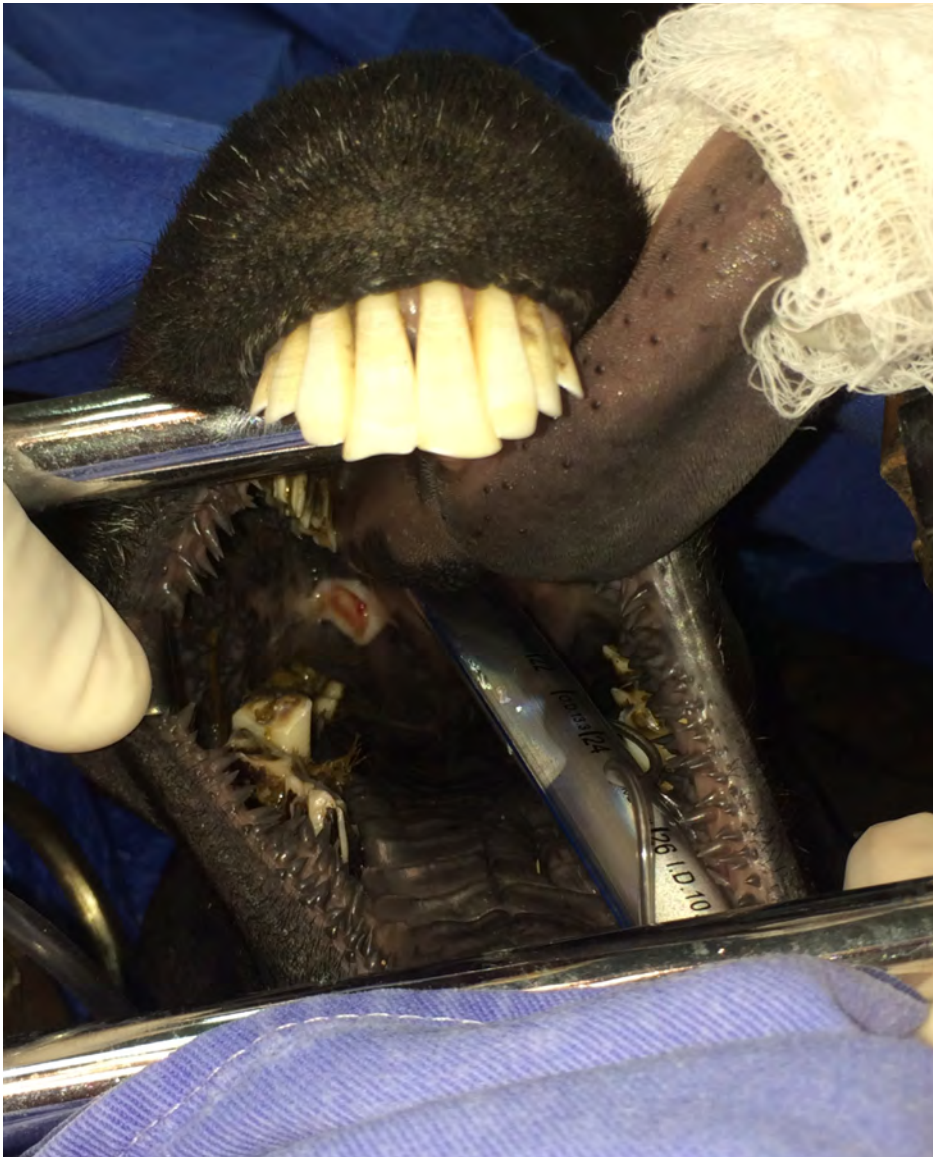


Figura 2 – Presença de restos de alimento em bolsas periodontais.
Fonte: Joyce C. R. Fioruci.

Após a exodontia (Figura 3) a boca foi lavada com solução de 50 ml de clorexidina alcoólico a 5%. No local do dente extraído foi aplicado resina metilmetacrilato. No pós-operatório foi administrado flunixin meglumine intramuscular na dose de 1,1 mg/kg, uma vez ao dia (SID),

durante três dias; penicilina 6000000 UI na dose de 51.428 UI/kg intramuscular, SID, durante cinco dias e gentamicina na dose de 2,5 mg/kg intramuscular, duas vezes ao dia (BID), durante três dias. Além disso, foi mantida a limpeza oral diária com a solução de clorexidina alcoólico a 5%.



Figura 3 – Fotografia do 4º pré-molar após a extração.
Fonte: Joyce C. R. Fioruci.

Discussão

O animal apresentou boa recuperação da cirurgia e em poucas horas já estava se alimentando e não aparentava dificuldades na mastigação. O atrito dentário anormal ocorre mais comumente em ovelhas do que em cabras. O pequeno ruminante adulto pode apresentar mais problemas relacionados à idade do que com doença dentária em si (PUGH, 2002).

A maior incidência de atrito dentário em ovinos ocorre em ovelhas de mais de quatro anos. A perda de dentes pode resultar em uma redução de dois anos na produtividade. Gnad et al. (2000) referem que a maioria das ovelhas e cabras pode acomodar a perda de um incisivo, mas a perda molar é mais grave, porque são dentes necessários para mastigação dos volumosos. Os sinais da existência de atrito dentário anormal incluem perda de peso, desgaste dentário, perda ou ausência de dentes. Os incisivos alongados podem resultar em mastigação incompleta ou dolorosa, trauma na almofada dentária ou tecidos moles, ou aparência anormal da região da face rostral (HUBER, 2004).

Com alta prevalência e por longos períodos presentes nos sistemas de produção de ovinos, os relatos registravam a baixa produtividade dos rebanhos, geralmente decorrentes do fato das fêmeas em reprodução parirem cordeiros menores e fracos, e ao abate precoce dos animais, que não expressavam plenamente seu potencial genético (WEST; SPENCE, 2000). Além de uma condição dolorosa, a afecção reduz a eficiência de pastejo do animal, contribuindo para má nutrição, perda de peso e problemas sistêmicos de saúde (ANDERSON; BULGIN, 1984; BAKER; BRITT, 1990).

Considerações finais

Concluiu-se que a cirurgia, neste caso, foi essencial para promover o conforto ao animal, para que assim pudesse voltar a se alimentar. Ressalta-se que ainda há necessidade de maior atenção para as enfermidades odontológicas nos pequenos ruminantes, visto que de acordo, estas enfermidades são responsáveis por grandes perdas econômicas em países como Nova Zelândia, Reino Unido e Austrália, pois interferem diretamente na produtividade do animal, uma vez que prejudica a sua mastigação e a ruminação, ocasionando emagrecimento, além de cordeiros nascidos mais leves, e descarte do animal antes mesmo do final de sua vida reprodutiva. ☺

Referências

ANDERSON, B. C.; BULGIN, M. S. Starvation associated with dental disease in range ewes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 184, p. 737-738, 1984.

BAKER, J. R.; BRITT, D. P. Dental calculus and periodontal disease in sheep. **Veterinary Record**, London, v. 108, p. 331-333, 1990.

CUTRESS, T. W. et al. Periodontal disease in sheep. II. The composition of sera from sheep with periodontitis. **Journal of Periodontology**, Chicago, v. 43, p. 668-676, 1972.

GNAD, D. P. et al. Diagnosing weight loss in sheep: a practical approach. **Compendium: continuing education for veterinarians**, Yardley, v. 22, n. 1, p. 16-23, 2000.

GREENE, S. K. Equine dental advances. **Veterinary Clinics North America Equine Practice**, Philadelphia, v. 17, n. 2, p. 319-333, 2001.

HERRTAGE, M. E.; SAUNDERS, R. W.; TERLECKI, S. Physical examination of cull ewes at point of slaughter. **Veterinary Record**, London, v. 95, n. 12, p. 257-260, 1974.

HUBER, M. J. Dental surgery in small ruminants. of THE NORTH AMERICAN VETERINARY CONFERENCE, 131., 1994, San Francisco. **Proceedings** [...]. Orlando: Journal of the American Veterinary Medical Association, 1994. p. 779-783.

JEFFERIES, B. C. Body condition scoring and its use in management. **Tasmanian Journal Agricultural**, Hobart, v. 32, p. 19-21, 1961.

KANE, D. M. The results of a Wairarapa survey of ovine incisor/tooth anomalies with particular respect to wear. In: SEMINAR OF THE SOCIETY OF SHEEP AND BEEF CATTLE VETERINARIANS OF THE NEW ZEALAND VETERINARY ASSOCIATION, 14., 1984, Bulls. **Proceedings** [...]. Wellington: New Zealand Veterinary Association, 1984. p. 29-32.

ORR, M. B.; CHRISTIANSEN, K. H.; KISSLING, R. C. A survey of excessively worn incisors and periodontal disease in sheep in Dunedin city, Silverpeaks, Bruce and Clutha counties. **New Zealand Veterinary Journal**, Abingdon, v. 34, p. 111-115, 1986.

PUGH, D. G. **Sheep goat medicine**. Philadelphia: WB Saunders, 2002. 468 p.

PUGH, D. G. **Clínica de ovinos e caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. 513 p.

SHERMAN, D. M. Unexplained weight loss in sheep and goats. a guide to differential diagnosis, therapy, and management. veterinary. **Clinics North America: large animal practice**, Philadelphia, v. 5, n. 3, p. 571-590, 1983.

WEINREB, M. M.; SHARAV, Y. Tooth development in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 25, p. 891-908, 1964.

WEST, D. M.; SPENCE, J. A. Diseases of the oral cavity. In: MARTIN, W. B.; AIKEN, I. D. (ed.). **Diseases of sheep**. 3. ed. London: Blackwell Science, 2000. p. 125-131.





**I SIMPÓSIO INTERNACIONAL
DE MEDICINA LEGAL VETERINÁRIA**

I SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MEDICINA LEGAL VETERINÁRIA

19 a 21 de maio de 2017

Casa da Arte da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp - Campus Botucatu, Botucatu, SP, Brasil

01. STANDARD OPERATIONAL PROCEDURE: CRIME SCENE EVALUATION RELATED TO ANIMAL CRUELTY IN RIO DE JANEIRO, BRAZIL

Procedimento operacional padrão: avaliação da cena do crime relacionada à crueldade animal no Rio de Janeiro, Brasil

VIEIRA, W. S.;¹ DOSSANTOS, A.;¹ MACHADO, M. V. O.;¹ OLIVEIRA, A. S.;¹ FONSECA, L. M.;¹ REGO, A. B. B.;¹ HERMIDA T. A.;¹ SARAIVA T. M.;¹ GONÇALVES, T. B.¹

¹Technical Police Department. Civil Police of Rio de Janeiro State (PCERJ).

E-mail: walddublin@hotmail.com

Introduction: The Brazilian legislation on crimes against fauna defines as a crime: “to commit acts of abuse, mistreatment, injury or mutilation of wild, domestic or domesticated, native or exotic animals” (BRASIL, 1998). In recent years, the number of crimes against fauna has gained great notoriety, and due to the high demand for this type of exam, it is crucial to improve the experts’ reports on such offenses. Therefore, the State has the responsibility of correctly identifying and preserving evidences related to animal abuse (YOSHIDA, 2013). A satisfactory collection of vestiges is indispensable, since “findings are pieces of a puzzle that together tell a story” (MERCK, 2007). Currently in the state of Rio de Janeiro most of the examinations of crime scenes involving animals are carried out by forensic experts who are not veterinarians, due to the reduced number of these professionals in Scientific Police. In this regard, a standard operating procedure is essential for performing crime scene investigations involving animals because well collected evidence and proper crime scene analyses are fundamental for helping crime solution. Criminal expertise involves technical-scientific knowledge, intended to clarify traces and interpret facts in the face of criminal or suspicious events (TREMORI; SOUZA, 2013). Thus, this work aims to implement a Standard Operating Procedure (SOP) used as an instrument to produce evidences, which will guide

law enforcement. **Methodology:** This proposed SOP is an instrument of descriptive methodology, step by step actions to be carried out by professionals in crime scenes regarding animal abuse or smuggling, and aims to reduce the necessary time for the expert to examine, by standardizing the forensic work on animals, providing objectivity in the search for evidence to promote data reproducibility. For the creation of the SOP, data collection was carried out in crime scene investigations related to animal cruelty from September 2014 to January 2017 by Forensic Experts of the Civil Police of Rio de Janeiro State, Brazil. Based on these data, there was a huge variability of cases involving domestic and wild animals related to smuggling, abuse and mistreatment, encompassing different and complex scenarios. Important points regarding the expert procedures were discussed through questions elaborated by experts, such as, which signs must be search? Are there differences between evidences to each species? What really is relevant to register by photos in this crime scenes? How to proceed in case of finding computers obeying to legislation? Therefore, the SOP was elaborated contemplating the parts of crime scene analysis. The SOP also provides relevant information, such as situations in which acts of mistreatment, abuse and trafficking of animals are characterized according to what is in the legislation. Table 1 shows the main data of crime scene analysis by experts used to create the SOP:

Table 1 – Main data of crime scene analysis

Local	Private property/ Pet shop/ Forest reserve/ Street market
Species	Identification of species
Type of confinement	Yard/ Flat super population/ Cage/ Free from captivity
Food and water	Available/ Unavailable
Local hygiene	Satisfactory/ Unsatisfactory
Injuries/parasites	Yes/No
Animal exploration type	Pet animal/Sale/Animal fighting/ Loading work/ Illegal hunting
Mistreatment	Yes/No
Animal trafficking	Yes/no

Results: The use of the guidelines prescribed in the standard operating procedure has made possible a

crime scene evaluation with greater agility and richness in details, the same has already been done by others forensic experts from places in the countryside of Rio de Janeiro. Recently, in a site examination carried out in a diligence by DPMA (Environmental Protection Police Station) at the Rio de Janeiro Zoo, a highly complex area of expertise that involved verifying stockpiling of food provided to the animals, as well as the conformity of the enclosures according to Ibama (BRASIL, 2015), the use of SOP has become essential and valuable, since it covers the observations necessary to verify the environmental and behavioral conditions related to the confinement of animals in the Zoo of the city of Rio de Janeiro, allowing a detailed and standardized analysis of this crime scene. **Discussion:** The use of a standard operational procedure in analyses involving crimes against fauna and animal abuse by the Forensic Expert in crime scenes provides a consistent, organized and standardized orientation, without compromising the examination and necropsy of the animals to be carried out within the precepts of the Legal Veterinary Medicine, by a Veterinary Medical Expert, who is the most qualified professional for this activity (MAIORKA; MARLET, 2012). With this proposal, we intend to promote valorous and indispensable instruments for proper chain of custody, aiming at increasing their effectiveness on investigating crimes against animals.

References

- BRASIL. Instrução Normativa IBAMA nº 7, de 30 de abril de 2015. Institui e normatiza as categorias de uso e manejo da fauna silvestre em cativeiro, e define, no âmbito do Ibama, os procedimentos autorizativos para as categorias estabelecidas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, nº 84, 6 maio 2015.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, nº 31, 13 fev. 1998.
- MAIORKA, P. C.; MARLET, E. F. O ensino de Medicina Veterinária Legal no Brasil. **Revista CFMV**, Brasília, DF, v. 18, n. 55, p. 7-11, 2012. Disponível em: <http://certidao.cfmv.gov.br/revistas/edicao55.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2015.
- MERCK, M. D. **Veterinary forensics: animal cruelty investigations**. Hoboken: Wiley, 2007.
- TREMORI; T. M.; SOUZA, N.S. The examination of the corpus delicti in veterinary expertise. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 11, n. 3, p. 30-35, 2013.
- YOSHIDA, A. S. **Importância do perito oficial médico veterinário no levantamento de provas nos crimes de maus-tratos aos animais**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.





**CONSENSOS EM
LEPTOSPIROSE II**

CONSENSOS EM LEPTOSPIROSE II

Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Instituto Biomédico Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro
6 a 9 de novembro de 2018

O II Consensos Brasileiros em Leptospirose Animal (I Consensos Latino-americanos em Leptospirose Anima) foi realizado no Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense, em Niterói – RJ, entre os dias 6 e 9 de Novembro de 2018.

Nesta edição, o evento trouxe discussões e resoluções para importantes questões que cercam os estudos em leptospirose animal, incluindo atualizações sobre o panorama da leptospirose animal no Brasil e na América Latina, além de desafios enfrentados para padronização dos métodos de diagnóstico e controle das leptospiroses. O programa científico incluiu seções de palestras e mesas redondas. Houve também um espaço reservado para a exposição de pôsteres, e os melhores resumos enviados foram premiados. Procuramos focar nas similaridades e particularidades com os demais países da América Latina, com vistas a formação de um grupo latino-americano de pesquisas em Leptospirose Animal.

Assim, mais de 100 pesquisadores representando vários grupos de pesquisa de seis diferentes países estiveram presentes, apresentando suas realizações, compartilhando experiências, iniciando e desenvolvendo colaboração com outros pesquisadores do Brasil e do mundo e debatendo temas importantes em nossa área. O público alvo deste evento contou com pesquisadores e estudantes de pós-graduação que já trabalhavam com Leptospirose Animal em todas as suas esferas.

01. ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA SPP. EM BUBALINOS (*BUBALUS BUBALIS*) ABATIDOS EM ABATEDOUROS FRIGORÍFICOS SOB INSPEÇÃO MUNICIPAL

Anti-*Leptospira* spp. antibodies in bubalina (*Bubalus bubalis*) slaughtered in slaughterhouses under municipal inspection

PORTO, R. D. B.;¹ CAVALCANTE, N. L.;¹ CHAVES, F. A.;¹ BESERRA, P. A.;¹ DE JESUS, A. K. P.;¹ PIANCÓ, L. A.;¹ SOARES, E. S.;¹ PEREIRA, H. M.;¹ BEZERRA, N. P. C.;¹ BEZERRA, D.C.;¹ SANTOS, H. P.¹

¹Laboratório de Diagnóstico em Doenças Infecciosas (LDDI), Departamento de Patologia, Universidade Estadual do Maranhão (Uema), São Luís/MA, Brasil.
E-mail: rdbpveterinaria@yahoo.com.br

Introdução: A leptospirose é uma zoonose que acomete animais domésticos, silvestres e o homem, representando um importante problema econômico e de saúde pública, sendo a sua transmissão facilitada pelo contato com água contaminada por bactérias do gênero *Leptospira*. **Objetivo:** Relatar a ocorrência de *Leptospira* spp. em bubalinos (*Bubalus bubalis*) abatidos em abatedouros frigoríficos sob inspeção municipal.

Métodos: As amostras foram definidas por conveniência em razão da disponibilidade de bubalinos abatidos no período do estudo. Assim, foram amostrados 155 animais, 86 fêmeas e 69 machos, com idade acima de 36 meses e provenientes dos municípios de Viana e Arari, estado do Maranhão. As amostras séricas foram submetidas à técnica de soroprecipitação microscópica (SAM) para detectar anticorpos específicos, utilizando um painel 31 variantes sorológicas, das quais 22 são patogênicas (Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cinoptery, Gryppotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani, Tarassovi e Sentot) e duas saprófitas (Andamana e Patoc). Foram consideradas reagentes as amostras com aglutinação igual ou superior a 100 e, para conhecimento dos títulos finais em relação ao controle, foram realizadas diluições de escala geométrica na razão dois (1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600).

Resultados: Dos 155 bubalinos examinados, 66,5% (103/155) foram reagentes para um ou mais sorovares de *Leptospira* spp., com títulos variáveis entre 100 a 800. Dos 31 sorovares incluídos na coleção de antígenos, houve reações com 30, contudo, os predominantes foram: Butembo (22,6%), Sentot (21,9%), Gryppotyphosa (20,6%), Hardjoprajitno (20%), Wolffi (21%), Djasiman (18,7%), Shermani (18%), Pamona (18,1%), Patoc (16%) e Copenhageni (11%). **Conclusão:** Com base nos resultados deste estudo, é possível inferir que a *Leptospira* spp. encontra-se presente, em altos percentuais de ocorrência, nos bubalinos abatidos em abatedouros frigoríficos sob inspeção municipal. **CEUA:** 042/2018.

Financiamento: Fapema.

02. ANTI-*LEPTOSPIRA* SP. ANTIBODIES IN CATS FROM THE SEMIARID OF THE PARAÍBA STATE

Anticorpos anti-*Leptospira* sp. em gatos do semiárido do Estado da Paraíba

BRASIL, A. W. L.;¹ PARENTONI, R. N.;¹ FEITOSA, T. F. F.;¹ VILELA, V. L. R.;¹ ALVES, C. J. A.;¹ VASCONCELLOS, S. A.;² AZEVEDO S. S.¹

¹Graduate Program in Veterinary Medicine, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos/PB, Brazil.

²Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP, Brazil
E-mail: sergio.azevedo@ufcg.edu.br

Introduction: Leptospirosis is an important zoonosis spread worldwide. The persistence of the agent in the environment and the high potential of infection are guaranteed, among other factors, by the multiplicity of host species able to harbor and eliminate it. On the other hand, the role of cats in the epidemiology of infection has received little attention. **Objective:** The aim of this survey was to determine the frequency of anti-*Leptospira* sp. antibodies and the associated risk factors in stray and domiciled cats in the county of Patos, semiarid region of the Paraíba state. **Methods:** Blood samples from 129 cats (61 domiciled and 68 stray) were collected during the period of July to August 2011. For the anti-*Leptospira* sp. antibody search, the microscopic agglutination test (MAT) was performed using 24 serovars as antigens. **Results:** Of the 129 cats examined, seven (5.43%) were seropositive to serogroup Pomona, with titers ranging from 200 to 3,200. Of the stray and domiciled cats, three (4.41%) and four (6.56%) were seropositive, respectively. Relating to risk factor analysis the variables and respective categories associated with the higher seropositivity were age/> 48 months ($p = 0.001$), environment where the animal stays/grass ($p = 0.009$) and presence of rodents/yes ($p = 0.020$). **Conclusion:** The presence of seropositive cats for leptospirosis and high titers of antibodies in the municipality of Patos-PB are indicative that the agent may be circulating in the feline population and with possible elimination of the agent in the environment, which may have negative implications for public health. **CEUA:** This survey was approved and performed under the guidelines of Ethics Committee for Animal Protocol Use of Federal University of Campina Grande (Protocol No. 27.2012).

03. APPLICATION OF EGG ALBUMIN AS A SUBSTITUTE OF BOVINE SERUM ALBUMIN (BSA) IN THE CULTIVATION OF *LEPTOSPIRA INTERROGANS* SEROVARS CANICOLA AND POMONA

Aplicação de albumina de ovo como substituto de albumina do soro bovino (asb) no cultivo de *Leptospira interrogans* sorovar Canicola e Pomona

GUEDES, I. B.;¹ SOUZA, G. O.;¹ CASTRO, J. F. P.;¹ SOUZA-FILHO, A. F.;¹ HEINEMANN, M.B.¹

¹Laboratory of Bacterial Zoonoses, Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health (VPS), School of Veterinary Medicine and Zootechny (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP, Brazil

E-mail: marcosbryan@usp.br

Introduction: The main function of Bovine Serum Albumin (BSA) in culture media for *Leptospira* is protection against the toxic products of the degradation of the long chain fatty acids present in the medium; however, the BSA has a high cost compared to other sources of albumin, such as egg albumin, which is the main protein present in poultry eggs, especially chickens from commercial farms. **Objective:** Use of egg albumin to replace Bovine Serum Albumin (BSA) in the enrichment of the EMJH medium for the culture of *Leptospira interrogans* serovars Canicola and Pomona. **Methods:** It was elaborated an enrichment containing egg albumin, Tween 80 and a mixture of minerals and vitamins essential for the growth of *Leptospira*, which was added to the medium of EMJH in the proportion of 10%. The Canicola and Pomona serovars of *Leptospira interrogans* were chosen for the growth test in the medium, and weekly seeding were performed to verify the viability of the bacteria and microscopic evaluation of the cells. Another medium of EMJH added with DIFCO commercial enrichment based on BSA was used as a control. **Results:** Both serovars had satisfactory growth in EMJH medium enriched with egg albumin, with no difference in relation to medium turbidity, morphology and cell motility even after four consecutive seedings. **Conclusion:** The serovars Canicola and Pomona of *Leptospira interrogans* were cultivated satisfactorily in the EMJH medium enriched with egg albumin. **CEUA:** Not applicable. Funding: CNPq (MBH fellowship), Capes (Finance code 001).

04. ASYMPTOMATIC LEPTOSPIRAL INFECTION IS ASSOCIATED WITH CANINE CHRONIC KIDNEY DISEASE

Infecção leptospiral assintomática é associada à doença renal canina crônica

SANT'ANNA, R.;¹ VIEIRA, A. S.;¹ OLIVEIRA J.;² LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Biomedical Institute, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

²Department of Pathology and Clinics, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: wlilenbaum@id.uff.br

Introduction: There are scarce studies associating asymptomatic leptospiral infection with chronic kidney disease (CKD) in dogs, recent research has suggested that in human being asymptomatic renal colonization is a neglected risk for CKD, especially in endemic areas. **Objective:** Investigate whether the occurrence of CKD may possibly be associated with asymptomatic leptospiral infection in dogs in endemic regions. **Methods:** It was studied 64 dogs, divided into group A and B. Group A (N 16) adult dogs with confirmed diagnosis of CKD and Group B (N 48) healthy dogs control group. The study was conducted on an endemic area for leptospirosis (São Gonçalo/RJ, Brazil). Serology (MAT) and urine PCR were performed in dogs of group A and B. Dogs with CKD were diagnosed based on ultrasonography, hematological (BCC), biochemical and urinalysis tests. For each dog DRC (group A), three healthy dogs of the same age, sex and neighborhood were studied (Group B) and submitted to the same exams. Blood and urine were collected by three collections divided into monthly collections for three months. **Results:** In the serology group A, the dogs that presented exposure, were defined by titles ≥ 100 (12/16, 75%). In group B, 25% were exposed (12/48) and presented titers of 100. For both groups, the reactions observed were directed against serogroups Icterohaemorrhagiae (58.4%) and Canicola (41.6%). In group A, 12/16 animals (75%) were positive, whereas in group B, 10/48 animals (20.8%) presented a positive result, a significant difference ($p = 0.0002$, RR 3.3). As for amplicon sequencing, all five amplicons that were sequenced were confirmed as *Leptospira* sp. All animals in Group

A presented their hematology tests and ultrasound altered, confirming the diagnosis of chronic kidney disease. **Conclusion:** Our results demonstrate that asymptomatic leptospiral infection is associated with canine chronic kidney disease and that differential diagnosis is important for dogs from endemic areas presenting CKD. The early detection of shedders, besides the obvious impact on public health may also help to improve the animal health and avoid the development of CKD. **Ethics Committee approval number:** 709/2015. **Funding:** This study was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj).

05. AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DE INFECÇÃO POR LEPTOSPIRA SPP. EM SUÍNOS ABATIDOS PARA CONSUMO

Evaluation of diagnostic methods of infection by *Leptospira* spp. in pigs slaughtered for consumption

GONÇALVES, L. M. F.;¹ MACHADO, F. C. F.;² MINEIRO A. L. B. B.;² CAMPOS, A. P.;³ SILVA, E. R. D. F. S;⁴ COSTA, F. A. L.⁵

¹Departamento de Medicina Veterinária, Campus Professora Cinobelina Elvas, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

²Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

³Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

⁴Doutoranda pelo PPGCCA da Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

⁵Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

E-mai: assiralm@gmail.com

Introdução: As leptospiroses são zoonoses de importância global, causadas por leptospiras patogênicas que acometem os animais domésticos, silvestres e o homem.

Objetivo: Avaliar três técnicas para diagnóstico de *Leptospira* spp. em suínos abatidos para consumo.

Metodologia: 139 suínos abatidos nas cidades de Teresina-PI e Timon-MA foram utilizados. Obteve-se o soro para realização da soroaglutinação microscópica (SAM). Fragmentos de rim foram fixados em formol tamponado para imunoistoquímica e em meio RPMI com glicerol a 10% para realizar a PCR. **Resultados:** Pela SAM, oito animais foram positivos. A técnica de

imunoistoquímica detectou marcação positiva para antígeno de *Leptospira* spp. em 60 animais. A técnica de PCR revelou sete animais positivos. O diagnóstico de leptospirose é complexo, pois, dos três métodos utilizados, apenas a IMH detectou antígeno onde a sorologia também detectou infecção, mas a recíproca não é verdadeira, e a sorologia e IMH detectaram infecção onde a PCR não detectou. A comparação dos três testes utilizados para o diagnóstico de infecção por leptospirosas revelou que a imunoistoquímica apresentou sensibilidade de 53,6% e 53,1% comparada à sorologia e PCR, respectivamente, e especificidade de 100%. **Conclusão:** Os resultados mostraram que a imunoistoquímica constitui um diagnóstico específico e sensível e pode ser usada para complementar o diagnóstico de leptospirose quando for possível a colheita de amostras de tecido.

06. BASIC MICROBIOLOGY OF LEPTOSPIRA SPP.: A TOOL FOR IMPROVING STUDIES ON LEPTOSPIROSIS

Microbiologia básica de *Leptospira* spp.: uma ferramenta para melhorar estudos sobre leptospirose

BARBOSA, L. N.;¹ GRASSMANN, A. A.;¹ ALBA, V. S.;¹ ROSA, G. A.;¹ ROSA, E. E. B.;¹ MCBRIDE, A. J. A.¹

¹Laboratory for Research on Infectious Diseases, Technological Development Center, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas/RS, Brazil.

E-mail: alanmcb@gmail.com

Introduction: Leptospirosis is a zoonosis with a high incidence worldwide, caused by spirochetes belonging to the genus *Leptospira*. The maintenance of the strains and the *in vitro* growth of the microorganism remain time-consuming and difficult to be performed. Demonstrating the need to optimize laboratory culture techniques, towards improving studies in leptospirosis.

Objective: The objective of this work was to evaluate different conditions for the *in vitro* growth of *Leptospira* spp. and the corresponding virulence in an animal model for acute leptospirosis. **Methods:** *L. interrogans* strains L1-130 and RCA and *L. kirschneri* strain UFPel-61H were cultured under different conditions *in vitro* using commercial EMJH culture medium (Difco) and homemade EMJH supplemented with rabbit serum (EMJH++) using different temperatures (28 °C and 37 °C), flasks and inocula (10⁰ to 10⁴) to evaluate the growth

dynamics of the bacteria. Leptospirae at different stages of bacterial growth were used to evaluate their impact on virulence in the hamster model for acute infection.

Results: All of the *in vitro* conditions were viable for leptospiral growth, with the exception of the Difco culture medium at 37 °C. The highest bacterial densities (10⁹ leptospirae/ml) and the best doubling times were obtained with the Difco medium at 28 °C, especially when associated with orbital agitation. The EMJH++ medium was the most efficient with a low initial inoculum (1 leptospire), especially for *L. interrogans* strains. The *in vivo* experiments demonstrated that growth in Difco medium at 28 °C was more suitable for maintaining the stability and virulence of leptospirae across the different bacterial growth stages. **Conclusion:** In conclusion, *in vitro* growth conditions influenced leptospiral virulence, demonstrating the importance of understanding the dynamics of *in vitro* growth of the microorganism. The standardization of leptospirae culture techniques will improve the reproducibility of experiments involving pathogenic leptospirae. **CEEA UFPel:** 4337-2015. **Funding:** Capes, CNPq.

07. BOVINE LEPTOSPIROSIS: MOST PREVALENT SEROGROUPS IN THE MUNICIPALITY OF NOVO REPARTIMENTO - PARÁ

Leptospirose bovina: sorogrupos mais predominantes no município de Novo Repartimento, Pará

GUEDES, I.B.;¹ ARAÚJO, S. A. A.;² SOUZA, G. O.;¹ CASTRO, J. F. P.;¹ SOUZA-FILHO, A. F.;¹ HEINEMANN, M. B.¹

¹Laboratory of Bacterial Zoonoses, Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health (VPS), School of Veterinary Medicine and Zootechny (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP, Brazil.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Cametá/PA, Brazil.

E-mail: marcosbryan@usp.br

Introduction: In cattle, leptospirosis is particularly manifested by reproductive disorders, leading to losses in the production of these animals. Once the disease is present in a herd, control becomes difficult, especially by the adaptation of the bacterium to the animal species and can become a reservoir and/or maintenance host, such as serovars of the Sejroe serogroup for cattle. **Objective:**

Identify the serogroup(s) most prevalent(s) in bovine females in the municipality of Novo Repartimento/PA, using the microscopic agglutination test (MAT).

Methods: Blood samples were collected from 208 bovine females, raised in the municipality of Novo Repartimento/Pará, during slaughter in a slaughterhouse in the Baixo Tocantins/PA region. After the blood serum was obtained, the samples were submitted to microscopic agglutination test (MAT) using 24 serovars of *Leptospira* spp. that represents 18 serogroups. **Results:** From the total of 208 samples, 97 (46.63%) were reagents, titers ranged from 100 to 3.200 for 11 of the 18 serogroup tested. Sejroe was the most prevalent, with frequency of 65.00%; followed by Shermani (10.30%); Canicola (6.18%); Tarassovi (4.12%); Grippotyphosa, Australis and Pomona (3.09%); Autumnalis (2.04%); Celledoni, Icterohaemorrhagiae and Javanica, were the least prevalent, with a frequency of 1.03% each one of them.

Conclusion: Bovine leptospirosis is present in the municipality of Novo Repartimento/PA, with Serogroup Sejroe as the most prevalent. **CEUA:** CEUA/FMVZ/USP N° 5893100816. **Funding:** CNPq (MBH fellowship), Capes (Finance code 001).

08. CERVICO-VAGINAL MUCUS PCR AS AN ALTERNATIVE TOOL TO DETECT UTERINE LEPTOSPIRAL INFECTION

RCP do muco cervico-vaginal como ferramenta alternativa para a detecção de infecção leptospiral uterina

PIRES, B. C.;¹ LIBONATI, H.;¹ PINTO, P. S.;¹ FIGUEIREDO, L.;¹ CORREIA, L.;¹ BRASIL, T.;¹ LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: cabralbruno@id.uff.br

Introduction: Bovine leptospirosis is characterized by reproductive failure, mainly embryonic death and abortion, leading to economic losses. Nevertheless, the majority of the studies focus on the kidneys, and little is known about genital infection. **Objective:** Investigate the uterine leptospiral infection among slaughtered non-pregnant cows and if its correlation with the infection of cervico-vaginal mucus and urine from the same cows. **Methods:** Samples of cervico-vaginal mucus (CVM), uterine fragments (UF) and urine (n = 34) were

collected from non-pregnant cows at a slaughterhouse. A *LipL32* PCR was performed in all samples in order to detect positivity for pathogenic *Leptospira* in these samples. A correlation between positivity for CVM-UF and the positivity for CVM-urine was assessed by chi-squared analysis and logistic regression. **Results:** It was verified that, among the eight PCRpos CVMs, six were also positive on uterine fragment and one was urine positive. Thus, CVM-UF positivity occurred in 14.3% of the samples, while CVM-urine positivity occurred in 2.3%, a significant difference (p < 0.05). Logistic regression indicated that positivity in the uterus is a risk factor for positivity in CVM (OR = 3.4), while positivity in urine is not. **Conclusion:** Although not as sensitive as performing PCR on uterine fragments, CVM may be recommended as a relatively easy to perform, reliable sample that can facilitate the diagnosis of genital leptospirosis by PCR. **CEUA:** Number 863 (CEUA/UFF). **Funding:** CNPq, Faperj.

09. CHRONIC EXPERIMENTAL GENITAL LEPTOSPIROSIS WITH AUTOCHTHONOUS LEPTOSPIRA SANTAROSAI STRAINS OF SEROGROUP SEJROE

Leptospirose genital experimental crônica com estirpes autóctones de *Leptospira santarosai* do sorogrupo Sejroe

ROCHA, B. R.;¹ BALARO, M. F. A.;¹ PEREIRA, P. V.;¹ MARTINS, G.;¹ LILENBAUM, W.¹

¹Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: wlilenbaum@id.uff.br

Introduction: Leptospirosis in livestock is usually a chronic infection that leads to reproductive problems. Few studies succeeded on reproducing the chronic genital infection on experimental conditions. **Objective:** To assess the chronic experimental genital leptospirosis with *Leptospira santarosai* strains of serogroup Sejroe.

Methods: Six Santa Inês lamb ewes were inoculated with 1×10^8 leptospores, with three different strains of the serogroup Sejroe: FV237 (Group A), FV52 (Group B) and U81(Group C). Blood samples were collected daily for 28 days, and urine and vaginal fluid were collected at D0, D7, D16 and D22. Laparotomy was performed at D30, D60 and D90. On those days, all samples were collected, in addition to uterus fragment, uterine fluid and follicular aspirate samples. Study was conducted

during 90 days at Unidade de Pesquisa Experimental em Caprinos e Ovinos (UniPECO-UFF). A PCR targeting the *lipL32* gene was performed. Microscopic Agglutination Test was performed using an antigen panel represented by 28 reference strains. Sera displaying at least 50% agglutinating activity at a 1:100 dilution were considered positive. **Results:** All animals showed titers from D7 to D22, and animals inoculated with FV52 and FV237 presented higher titers (≥ 400). All of them, except for one (Group C), were positive on urinary PCR. Four of the six animals presented positivity at least once in vaginal fluid samples. One ewe (Group A) was positive in PCR of uterine wash, and all animals were negative in PCR of follicular aspirate. Regarding to the uterus fragment samples, Group A showed more positive results in PCR. In this group all animals were positive, and one ewe was positive from D30 to D90. Group B presented one positive reaction and Group C none. **Conclusion:** It was confirmed the presence of strains of serogroup Sejroe in genital tract, indicating a chronic infection in this site. **Ethics committee approval number:** 814/2016. **Funding:** This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

10. DESENVOLVIMENTO DE UM ELISA INDIRETO UTILIZANDO PEPTÍDEOS PARA DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE BOVINA

Development of an indirect elisa using peptide for diagnosis of bovine leptospirosis

SANTOS, J. P.;¹ PEREIRA, F. S.;¹ FERREIRA-JÚNIOR, A.;² LIMA, A. M. C.¹

¹Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brasil.

²Laboratório de Sorologia, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia/GO, Brasil.

E-mail: jandra.santos@yahoo.com.br

Introdução: A leptospirose é uma importante zoonose de ocorrência mundial, que pode reduzir os indicadores da performance da reprodução em bovinos. O teste de aglutinação microscópica (MAT) é considerado padrão-ouro, entretanto, apresenta baixa sensibilidade.

Objetivo: Analisar a eficiência de três peptídeos sintéticos (preditos *in silico* e denominados peptídeo (p)

127, p128 e p129), oriundos de uma proteína hipotética da membrana externa de *L. interrogans*, aplicados em uma plataforma ELISA para a detecção de anticorpos IgG bovinos anti-*Leptospira interrogans*. **Métodos:** A padronização do teste ELISA indireto foi iniciada pela determinação das concentrações ótimas de antígenos, bloqueio, anticorpos primários e anticorpos secundários por meio da metodologia de *checkerboard*. Os três peptídeos foram testados nas concentrações ($\mu\text{g/ml}$) 10, 5, 2,5 e 1,25. O bloqueio foi realizado com albumina sérica bovina (BSA) a 5%. Os anticorpos primários (soros sanguíneos de bovinos, nunca vacinados, negativos ou positivos no MAT) foram testados nas diluições 1:400, 1:800 e 1:1600 em triplicata. O anticorpo secundário (IgG de cabra anti-IgG bovino/HRP) foi testado nas diluições 1:5000; 1:10000 e 1:20000. A revelação foi realizada com tetrametilbenzidina (TMB) e H_2O_2 30%. O bloqueio da reação foi realizado com H_2SO_4 2N. A leitura foi efetuada em 450 nm. O ponto de corte foi calculado pela média das densidades óticas (DO) dos soros negativos acrescida de três desvios padrões. **Resultados:** As condições ótimas da reação foram: peptídeos 5 $\mu\text{g/ml}$; anticorpos primários diluição 1:400 e anticorpo secundário diluição 1:20.000, combinação que melhor diferenciou, respectivamente, as amostras positivas e negativas no MAT. **Conclusão:** Os resultados sugerem que os três peptídeos sintéticos podem ser promissores para a detecção de anticorpos IgG anti-*Leptospira* em soros de bovinos naturalmente infectados. **CEUA:** 006/2017 (Uniube). **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig).

11. PROJETO-PESQUISA MOLECULAR E CULTIVO DE LEPTOSPIRA SPP. NA URINA DE BOVINOS ABATIDOS EM FRIGORÍFICO: RESULTADOS PARCIAIS.

Molecular project-research and cultivation of *Leptospira* spp. in urine of bovines slaughtered in slaughterhouse: partial results.

MANZINI, S.;¹ DUTRA, M.;¹ SÁNCHEZ, G. P.;¹ SANTOS, W. J.;¹ GUIRALDI, L. M.;¹ AIRES, I. N.;¹ RIBEIRO, E.;¹ LUCHEIS, S. B.¹

¹Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA/SAA), Polo Centro-Oeste, Bauru/SP, Brasil.

E-mail: pacheco.sanchez.gabriela@gmail.com

Introdução: A leptospirose é uma zoonose cujos agentes infecciosos são espécies patogênicas do

gênero *Leptospira* spp. Em animais de produção, como os bovinos, a leptospirose determina falhas reprodutivas representadas por: abortamentos e infertilidade, que ocasionam prejuízos econômicos nas fazendas e também põem em risco à saúde dos funcionários.

Objetivo: Investigar a presença de *Leptospira* spp. em bovinos de um frigorífico localizado no Centro-Oeste paulista, a partir de amostras de urina por meio de PCR e cultivo bacteriológico; e comparar a eficiência de tais técnicas para o estabelecimento do diagnóstico da leptospirose bovina. **Métodos:** Foram coletadas 100 amostras de sangue e urina de bovinos no momento do abate, procedentes de diferentes propriedades do estado de São Paulo. O volume de sangue colhido por animal foi de 10 mL em tubos contendo EDTA, os quais foram armazenados em freezer a -20°C até o momento da realização das provas moleculares. As amostras de urina em volumes de 5 mL foram obtidas por punção direta da bexiga, com a utilização de seringas estéreis e acondicionadas em papel alumínio para abrigo da luz, e transportadas em caixas de isopor até o laboratório. As amostras foram cultivadas no mesmo dia, sob condições estéreis, em capela de fluxo laminar, inoculando-se 1 mL diretamente em meio Fletcher e 1 mL em meio EMJH. Os cultivos foram incubados em estufa a $28-30^{\circ}\text{C}$ por 16 semanas, com leituras quinzenais em microscopia de campo escuro. **Resultados:** Os resultados preliminares demonstraram crescimento de microrganismos em forma de espiroquetas somente no meio Fletcher em 13 amostras, porém não houve crescimento em meio EMJH; contudo, após a conclusão do período de leitura em microscopia, todas as amostras serão submetidas à técnica de PCR para confirmação. **Conclusões preliminares:** Os resultados preliminares, disponíveis até o momento, revelaram que o meio de Fletcher está sendo mais favorável ao crescimento de microrganismos sugestivos de leptospiros que o meio EMJH, porém ainda não foi realizada a comparação dos resultados de todas as técnicas diagnósticas previstas. **CEUA:** Protocolo CEUA 0063/2017. **Financiamento:** Fapesp.

12. EFFECTIVENESS OF ANTIMICROBIAL COCKTAILS IN PRIMARY ISOLATION OF LEPTOSPIRA FROM BOVINE CLINICAL SAMPLES

Eficácia de coquetéis antimicrobianos no isolamento primário de *Leptospira* de amostras clínicas bovinas

PEREIRA, P. V.;¹ BRASIL, T.;¹ LOUREIRO, A. P.;¹ CORREIA, L.;¹ PIRES, B. C.;¹ FIGUEIREDO, L.;¹ MARTINS, G.;¹ LILENBAUM W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: wlilenbaum@id.uff.br

Introduction: Isolation of leptospires from clinical samples is a challenge since presence of other microorganisms impairs leptospiral growth. Such contaminating bacteria deplete nutrients and produce metabolites that lead to inhibition of leptospires development. **Objective:** Evaluate the effectiveness of antimicrobial cocktails most frequent used in primary isolation of *Leptospira* from bovine clinical samples. **Methods:** Four cows under reproductive age were random selected from the Fazenda Escola of Universidade Federal Fluminense (UFF). The animals were divided into group A (spontaneous micturition) and group B (urethral catheter). Cervix-vaginal mucus (CVM) samples were also collected from all animals using cytology brush. All samples were seeded into 12 different culture media intended for leptospires isolation – EMJH, T80/40LH and Fletcher, with or without antimicrobial cocktails STAFF, A5 and CHID; which were kept in 30°C for 10 consecutive days. **Results:** There was no difference in contamination growth between urine sample collected by spontaneous micturition or urethral catheter. However, tubes that were seeded with urine (group A and B) presented high contamination level in all media, comparing with those seeded with CVM, which presented lower rates. A5 cocktail did not inhibit microorganism growth when added to any of the culture media. In contrast, CHID cocktail had a superior performance in controlling those contaminants growth, even when compared to STAFF cocktail. **Conclusion:** CVM samples have less microbial load compared to urine samples, resulting in lower contamination of leptospires culture media. Addition of CHID cocktail to EMJH, T80/40LH and Fletcher showed to be the most effective on controlling contaminating microorganism growth for urine and CVM samples. **Ethics committee approval number:** 1025/2017. **Funding:** This study was financed in part by Capes – Finance Code 001 and Faperj.

13. EFFECTS OF A STRATEGIC APPROACH *IN SITU* ON THE CONTROL OF LEPTOSPIROSIS IN A NATURALLY INFECTED DAIRY HERD

Efeitos de uma abordagem estratégica *in situ* sobre o controle da leptospirose em um rebanho leiteiro naturalmente infectado

SILVA, D. M.;¹ CIUFFA, A. Z.;¹ LIMA, A. M. C.;¹ GOMES, D. O.;¹ ALVES, V. B. A.;¹ REZENDE, L. M.;¹ MOREIRA, R. Q.¹

¹Laboratory of Infectious and Contagious Diseases (Ladoc), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brazil.

E-mail: dayanevet@yahoo.com.br

Introduction: Bovine leptospirosis has a great economic impact, mainly in chronic form, when it is asymptomatic but causes reproductive failures.

Objective: Verify the reflexes of adopting a preventive and strategic treatment *in situ*, in the serologic profile, and in the reproductive indexes of a dairy herd, naturally infected with *Leptospira* spp., and with reproductive disorders background. **Methodology:** The preventive and strategic treatment approach was based on the division of the herd in specific groups, according to the serologic status for leptospirosis, and the background of reproductive disorders (abortions, repeat breeding, and increase in the parturition intervals). Since the lactating animals were housed in climate controlled barns (compost bedding pack barn), it was used a sanitary barrier for maintaining the physical separation between groups. The non-lactating groups were housed in separated pens. The animals reactive to the MAT were treated with streptomycin, and vaccinated afterwards. The non-reactive animals were only vaccinated; and the non-reactive animals with a background of reproductive disorders, also received antibiotic treatment and vaccination. **Results:** The antibody titers ranged from 100 to 800. Nine months after the adoption of the preventive and strategic treatment, the highest titers were 100. It was noticed that the repeat breeding decreased. Before the control measures application, it was observed 20 cases of repeat breeding, but after 12 cases were observed, but this reduction didn't present a statistical significance ($p > 0,05$). It was also noticed a decrease in the abortions. Before the strategic conduct, 19 abortion cases were detected, and after the experiment, only seven cases were observed. This reduction is statistically significant ($p < 0,05$).

Conclusion: The control measures applied were able to promote a decrease of antibody titers against *Leptospira* sp. and in the reproductive failures investigated. **CEUA:** n. 035/17. **Funding:** Fapemig, UFU.

14. EVALUATION OF LEPTOSPIRAL FLAGELLINS AS ADJUVANTS FOR THE DEVELOPMENT OF A SUBUNIT VACCINE AGAINST LEPTOSPIROSIS

Avaliação das Flagelinas Leptospirais como adjuvantes para o desenvolvimento de uma vacina subunitária contra a leptospirose

MONARIS, D.;¹ SOUZA, G. O.;² VASCONCELLOS, S. A.;² FERREIRA, L. C. S.;³ ABREU, P. A. E.¹

¹Laboratory of Bacteriology I, Instituto Butantan, São Paulo/SP, Brazil.

²Laboratory of Bacterial Zoonoses, São Paulo/SP, Brazil.

³Institute of Biomedical Sciences, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP, Brazil.

E-mail: denizemonaris@gmail.com / denize.monaris@butantan.gov.br

Introduction: Leptospirosis is a zoonosis of global importance caused by pathogenic leptospires that colonize the renal tubules of wild and domestic animals. Commercial bacterines are being used, but they can promote protection only against the serovar included in the preparation and they I can induce a short-term immunity. The LigAC is able to induce immunoprotection against leptospirosis. However, immunization with LigAC did not confer sterilizing immunity. Flagellins have been considered a promising adjuvant for vaccine development. Leptospires have two periplasmic flagella that are formed by two classes of proteins (FlaA and FlaB); only FlaB proteins show homology with important regions that elicit TLR5-dependent responses.

Objectives: Evaluate the ability to induce the TLR5 activity and the adjuvant activity of five *L. interrogans* serovar Copenhageni flagellins (FlaB₁, FlaB₂, FlaB₃, FlaB₄ and FlaB₅) in the protective immunity of LigAC against lethal challenge in hamsters. **Methods:** The recombinant 6xHis-tagged flagellins expressed in *E. coli* were purified by affinity chromatography. Hamsters were immunized subcutaneously with purified flagellins with LigAC as well as in combination with alum or a cocktail of five flagellins. **Results:** Experimental data showed that all flagellins activated both the TLR-5 receptor and the secretion of cytokines in stimulated macrophages,

similarly. In challenge assays, the majority of hamsters immunized with the flagellins and LigAC survived the lethal challenge. However, they were not protected against kidney colonization. Control animals vaccinated with PBS died with symptoms of leptospirosis and hamsters immunized with commercial vaccine survived after challenge. ELISA demonstrated that with exception of FlaB5, all flagellins were recognized by sera from infected hamsters, sera from hamsters immunized with the commercial vaccine and with recombinant flagellin pool. **Conclusions:** These results indicate that in spite of leptospiral flagellins to be immunogenic and able to activate the TLR-5, none succeeded in preventing renal colonization. **CEUA:** 2151/2011. **Funding:** Fapesp.

15. EVALUATION OF PRESENCE OF A PUTATIVE MULTIDRUG EFFLUX PUMP GENE (*NORM*) IN *LEPTOSPIRA* SPP. STRAINS FROM BOVINE ORIGIN

Avaliação da presença de um gene de multidrogas putativo de bomba de efluxo (*norM*) em estirpes de *Leptospira* spp. de origem bovina

MALLIAGROS, L. V.;¹ CORREIA, L.;¹ PIRES, B. C.;¹ BRASIL, T.;¹ CARVALHO-COSTA, F. A.;² JAEGER, L. H.;¹ LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

²Laboratory of Epidemiology and Molecular Systematics, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC-Fiocruz), Rio de Janeiro/RJ, Brazil.

E-mail: wlilenbaum@id.uff.br

Introduction: Leptospirosis in livestock is associated with large economic losses. In order to minimize these losses, different control strategies have been applied, including antibiotic therapy. Besides, failure of antibiotic therapy may be related to reduced susceptibility and the presence of genes associated with antimicrobial resistance. **Objective:** To evaluate the presence of a putative multidrug efflux pump gene in *Leptospira* spp. strains from bovine origin with susceptibility profile previously described. **Methods:** Twenty-five strains of *Leptospira* spp. were studied. DNA was obtained using Wizard SV Genomic DNA Purification System® (Promega) and PCR was performed with GoTaq® DNA Polymerase (Promega) for putative *norM* gene encoding a multidrug efflux. The

PCR products of partial region of the gene were purified using Wizard SV Gel and PCR Clean-up System (Promega) and sequenced using Big Dye terminator v3.1 kit (Applied Biosystems) in the ABI 3730XL Genetic Analyzer (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) on the RPT01A DNA sequencing platform (Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática, IOC/FIOCRUZ) to confirm the studied target. **Results:** Twenty-four strains showed a positive result for the presence of the target gene. One strain that had a negative result belongs to a saprophytic specie (*L. meyeri*). Analysis of the nucleotide sequences demonstrated that the amplified region belongs to the gene studied. **Conclusion:** The presence of a putative multidrug efflux pump gene present in other microorganisms may also influence antimicrobial susceptibility in *Leptospira* spp. More refined studies focusing the molecular structure and function are necessary to elucidate this putative multidrug efflux pump. **CEUA:** Not applicable. **Funding:** Capes (Finance code 001), Faperj.

16. EXPRESSÃO DIFERENCIAL DA PROTEÍNA DE MEMBRANA EXTERNA OMP136 EM BIOFILME DE *LEPTOSPIRA*

Differential expression of external membrane protein omp136 in *Leptospira* biofilm

GUIMARÃES, J. M. J.;¹ RIBEIRO, P. S.;¹ FRANÇA, G. V. F.;¹ SILVA, T. M. R.;¹ RISTOW, P.¹

¹Laboratório de Bacteriologia e Saúde, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador/BA, Brasil.

E-mail: paularistow3@gmail.com.

Introdução: A leptospirose é uma zoonose negligenciada causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*. A doença afeta mais de um milhão de pessoas por ano em todo o mundo. As leptospirosas formam biofilmes caracterizados por comunidades microbianas envolvidas por uma matriz de exopolimérica. As proteínas de membrana externa (OMPs) bacterianas podem participar da adesão celular em biofilmes. **Objetivo:** Avaliar a expressão diferencial da proteína de membrana externa Omp136 em biofilmes de *Leptospira biflexa*. **Métodos:** *Leptospira biflexa* serovar Patoc (saprófita) foi cultivada em meio EMJH a 29°C por 48 h (tempo correspondente à formação do biofilme maduro). Os biofilmes foram cultivados sem agitação e células planctônicas sob agitação. Após a lise celular, foi realizado o *western blot* com os extratos proteicos totais usando anticorpos específicos anti-Omp136,

seguido de análise das membranas pelo programa ImageJ. A expressão do gene OmpL36 foi avaliada durante a formação do biofilme de *L. biflexa*, acessando os dados do transcriptoma (BioProject PRJNA288909). **Resultados:** Por *western blot*, OmpL36 teve maior expressão em biofilme quando comparado ao fenótipo planctônico. A partir da análise do transcriptoma e corroborando este resultado, foi constatado que o gene OmpL36 foi regulado positivamente no fenótipo biofilme em comparação com o planctônico no biofilme tardio de 120h (FDR 7, 00E-3; $p < 0,05$). No biofilme maduro de 48h, houve regulação positiva, porém essa não foi estatisticamente significativa (FDR 1,60E-2; $p < 0,05$). **Conclusões:** Os resultados obtidos demonstram que OmpL36 é mais expressa em biofilme que no estado planctônico, o que sugere que essa proteína desempenha um papel em biofilmes de *Leptospira*. **CEUA:** Não aplicável. **Financiamento:** Projeto universal CNPq 425526/2016-0, Fapesb, Capes.

17. EXPRESSION OF THREE VIRULENCE-RELATED GENES IN LEPTOSPIRAL STRAINS OF SEROGROUP SEJROE AFTER WEEKLY SUBCULTURES

Expressão de três genes relacionados à virulência em estirpes leptospirais do sorogrupo Sejroe após subculturas semanais

CORREIA, L.;¹ MALLIAGROS, L. V.;¹ BRASIL, T.;¹ PIRES, B. C.;¹ JAEGER, L. H.;¹ CARVALHO-COSTA, F. A.;² LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

²Laboratory of Epidemiology and Molecular Systematics, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC-Fiocruz), Rio de Janeiro/RJ, Brazil.

E-mail: lucascorreia@id.uff.br

Introduction: Bovine leptospirosis is characterized mainly by reproductive problems associated with infections by strains of serogroup Sejroe. Pathogenic strains belonging to same serogroup could present differences in pathogenicity, suggesting existence of unknown molecular mechanisms involved in virulence. Furthermore, it is known that subculture of strains can lead to attenuation of virulence by changes in protein coding genes. **Objective:** Compare the occurrence and expression of three virulence-related genes in leptospiral strains of serogroup Sejroe that were virulent or not in hamster model (*Mesocricetus auratus*)

after recovery of strain post infection (first moment) and after twenty weekly subcultures in EMJH media (second moment). **Methods:** Four strains of serogroup Sejroe belonging to *Leptospira santarosai* specie was studied: three of them were virulent. DNA was obtained using Wizard SV Genomic DNA Purification System® (Promega) and RNA using Trizol Reagent (Invitrogen). PCR was performed with GoTaq® DNA Polymerase (Promega) and RT-PCR using OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN): for two genes for surface protein (*ligA* and *lipL32*) and one for motile-associated flagella (*fliY*). **Results:** All virulent and non-virulent strains studied showed the target genes in DNA. Regarding expression of the virulence-related genes in RNA, the *lipL32* and *ligA* targets obtained positive results in all strains tested in the two moments of this study. For *fliY*, all strains tested did not express at the first moment. While in the second moment, two virulent strains were positive for the expression of this gene. **Conclusion:** The *lipL32* and *ligA* targets studied may not be related to differences in virulence in strains of serogroup Sejroe. The result of the *fliY* gene in strains of the serogroup Sejroe was unexpected and could be related to differences in infection by strains of this serogroup. It is necessary to compare strains of serogroup Sejroe with to other serogroups. **CEUA:** 611/2015. **Funding:** Capes (Finance code 001), Faperj.

18. GENOMIC FEATURES OF LEPTOSPIRA INTERROGANS SEROVAR HARDJO STR. NORMA: POTENTIAL RECOMBINATION SITE GENOME DEPICTED BY COMPARATIVE GENOMICS

Características genômicas da *Leptospira interrogans* sorovar Hardjo str. Norma: genoma do local de recombinação potencial representado pela genômica comparativa

COSATE, M. R. V.;¹ MOREIRA, E. C.;² ORTEGA, J. M.;³ LEITE, R. C.;² HADDAD, J. P.;² MENDES, T. A. O.¹

¹Laboratory of Molecular Biology, Biochemistry Department, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa/MG, Brazil.

²Department of Preventive Veterinary Medicine, Veterinary School, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil.

³Institute for Biological Sciences, Biochemistry and Immunology Department, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil.

E-mail: raquelcosate@ymail.com

Introduction: Leptospirosis is caused by pathogenic spirochetes of the genus *Leptospira* spp. with

worldwide distribution. In livestock, *Leptospira interrogans* serogroup Sejroe serovar Hardjo remain the major cause of reproductive diseases. The publication of whole genome sequence of the first Brazilian clinical isolate classified as *Leptospira interrogans* serogroup Sejroe serovar Hardjo str. Norma enable now to evaluate genomic features and evolution of this serovar and serogroup. **Objective:** To compare the Brazilian isolate within reference strains classified in *L. interrogans* and *L. borgpetersenii* species and isolated in distinct geographic regions in world. **Methods:** It was selected a total of 10 *Leptospira* spp. strains including reference genomes from distinct serovars classified in *L. interrogans* and *L. borgpetersenii* available in public databases (NCBI). For synteny analysis it was selected reference leptospira strains and historically correlated with whole genome sequences available. It was applied MAUVE and Patric softwares associated with Blast P, Blast N, Clusta W associated with Interpro and Gene ontology analysis. **Results:** The obtained results confirmed the occurrence of potential genomic recombination in *L. interrogans* serovar Hardjo str. Norma encompass 40Kb located upstream of rfb locus. Most of the genes in this region are associated to sugar enzymes associated with carbohydrates and lipids biosynthesis and metabolism. In comparative analysis, the present results also identified identical genomic structure among *L. interrogans* and *L. borgpetersenii* serovars Hardjo, including high amino acid identities and sequence coverages. Furthermore, identification of IS₃-family protein in *L. interrogans* serovar Hardjo, str. Norma associated with rfb locus position suggests a mechanism of recombination associated with the acquisition of this new region. **Conclusion:** The results suggest a new genetic recombination site in *L. interrogans* serovar Hardjo str. Norma, which may contribute to depict taxonomy classification of *Leptospira* spp. especially to serogroup and serovar classification. **Funding:** CNPq, Fapemig.

19. HIGH FREQUENCY OF GENITAL CARRIERS OF LEPTOSPIRA SP. IN SHEEP SLAUGHTERED IN THE SEMI-ARID REGION OF NORTHEASTERN BRAZIL

Alta frequência de portadores genitais de *Leptospira* sp. em ovelhas abatidas na região semiárida do nordeste brasileiro

SILVA, A. F.¹; FARIAS, P. J. A.¹; SILVA, M. L. C. R.¹; ARAÚJO JÚNIOR, J. P.¹; MALOSSI C. D.²; ULLMANN, L. S.²; COSTA, D. F.¹; HIGINO, S. S. S.¹; AZEVEDO, S. S.¹; ALVES, C. J.¹
¹Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos/PB, Brazil.

²Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biotecnologia, Botucatu/SP, Brazil.

E-mail: clebertja@uol.com.br

Introduction: Although some leptospirosis investigations performed in sheep have indicated their genital tract colonization, further studies are necessary to clarify the whole role of genital carriers in this species.

Objective: evaluate the colonization of pathogenic leptospire in the genital and urinary tract of slaughtered sheep. **Methods:** Fifty-seven adult, female woolless sheep destined for slaughter were used. Kidney (n = 57), bladder (n = 57), ovary (n = 34), uterine tube (n = 44), and uterus (n = 33) samples were collected for molecular detection of *Leptospira* sp. DNA, and blood samples (n = 57) for serological testing. The molecular tests were performed by polymerase chain reaction (PCR), and the serological ones by microscopic agglutination test (MAT). Samples with amplifying DNA were subjected to genetic sequencing. **Results:** Leptospiral DNA was found in the tissues of 44 (77.2%) sheep, whereas only nine animals were positive on both PCR and MAT, there was slight agreement between PCR and MAT techniques (k = 0.0268; p = 0.684). In 61 (54.9%) genital tract and in five (4.4%) urinary tract samples, the leptospiral DNA was detected, with significant difference (p < 0.001). The genes of one sample from the uterine tube and another from the bladder were sequenced and demonstrated 99% similarity

to *Leptospira interrogans*. Anti-*Leptospira* antibodies were detected in 11 (19,3%) of the tested animals. **Conclusion:** The results reinforce the importance of the genital tract as an extra-renal site of colonization, suggesting the possibility of venereal transmission in sheep. **CEUA:** 58/2012. **Funding:** CNPq, Capes.

20. HIGH FREQUENCY OF SEROREACTIVITY AGAINST SEROGROUP TARASSOVI IN THE TRIÂNGULO MINEIRO REGION, MINAS GERAIS STATE, BRAZIL

Alta frequência de sororreatividade contra o sorogruppo Tarassovi na região do Triângulo Mineiro, estado de Minas Gerais, Brasil

SOARES, P. M.;¹ GOMES, D. O.;¹ SOARES, M. M.;¹ SILVA, D. M.;¹ CUCCATO, L. P.;¹ CIUFFA, A. Z.;¹ REZENDE, L. M.;¹ PAIVA, V. V.;¹ BUIATTE, A. B. G.;¹ QUEIROZ, C. L.;¹ LIMA, A. M. C.¹

¹School of Veterinary Medicine (Famev), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brazil. E-mail: pollymafra@yahoo.com.br

Introduction: Leptospirosis is an important zoonosis that affects wild and domestic animals, mainly cattle. The serogroup Sejroe is the most frequent in cattle and is associated with reproductive alterations, causing economic losses to milk and meat production. However, the occurrence of serogroup Tarassovi reactivity in cattle is not enough investigated. Until now reactivity to this serovar was mainly found in wild and domesticated swine. Thus, due to the possibility of close contact between cattle and wild animal species, serological investigations must be performed to clarify this assumption. **Objective:** To evaluate the frequency of seroreactivity in cattle against serogroup Tarassovi in the Triângulo Mineiro region of Minas Gerais State, Brazil. **Methods:** A total of 398 samples of bovine blood serum was evaluated by Microscopic Soaragglutination (MAT) technique using the screening (t₁:100 dilution) and titration (titres of 200 to 3,200) procedures against the serogroups Australis, Autumnalis, Batavie, Canicola, Ballum, Icterohaemorrhagiae, Cynopteri, Djasiman, Sejroe, Grippotyphosa, Hebdomadis, Javanica, Panama, Pomona, Shermani e Tarassovi. **Results:** Forty eight percent of evaluated samples 191/398 (48.0%) were seroreactive to serogroup Tarassovi, and 116/398(29.1%) of these animals presented titres between 200 and 3,200.

But, serogroup Sejroe remained as the most frequent (78.1% – 311/398). These results could be crossed reactions between Sejroe and Tarassovi serogroups, that could be clarified by the comparison of the titers presented by both serovars. **Conclusion:** Serological reactions against Sejroe and Tarassovi serogroup were present in cattle herds of the Triângulo Mineiro region, state of Minas Gerais, Brazil, of leptospirosis in animal species. **CEUA:** 018/16. **Funding:** Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerias (Fapemig).

21. HIGH NUMBER OF LEPTOSPIRAL CARRIERS AMONG ASYMPTOMATIC DOGS IN THE MUNICIPALITY OF SÃO GONÇALO, METROPOLITAN REGION OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL

Alto número de portadores leptospirais entre cães assintomáticos no município de São Gonçalo, região metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil

SANT'ANNA, R.;¹ VIEIRA, A. S.;¹ GRAPIGLIA, J.;¹ LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Biomedical Institute, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: wlilenbaum@id.uff.br

Introduction: The dog's role as leptospire carriers has been increasingly studied, because there is strong evidence that asymptomatic dogs can be chronic carriers and can act as a source of infection for human beings, causing a public health problem. **Objective:** To evaluate the role of asymptomatic dogs as *Leptospira carriers* in an endemic area of Brazil. **Methods:** It was studied 131 male dogs without apparent symptoms of leptospirosis or any other infectious diseases. The selected group was composed only with male dogs, because of the practicability for the catheter urine collection. The animals were carefully selected after clinical care at SOS Focinhos Veterinary Hospital, located in the municipality of São Gonçalo, metropolitan region of Rio de Janeiro, Brazil. The dogs had not been vaccinated against leptospirosis in the last 12 months. Blood and urine collected from them were submitted to the following tests a) serum, ALT (alanine aminotransferase), urea, creatinina and a CBC (complete blood count) and MAT with a panel including eight serovars representing seven serogroups; b) urine polymerase chain reactions (PCR). **Results:** A total of

42 dogs (32.1%) presented seroreactivity (titres ≥ 100) to at least one serovar. Serogroup Icterohaemorrhagiae was the most frequent, 92.7% of the seropositive samples. Leptospiral DNA was detected by PCR on 26 urine samples (19.8%). PCR results, which indicate the carrier status, were not associated to the serology ($p = 0.10$). From the 26 PCRpos samples, 12 (46%) were also seropositive, while among the 105 PCRneg, 75 (71%) were seronegative. Age was not associated to seropositivity ($p > 0.05$), but dogs older than five years of age presented 4.07 more chances (odds ratio) to be leptospiral carriers (PCR positive) than the younger ones. **Conclusion:** Serology is not a good method to identify asymptomatic leptospiral kidney-carriers because of the low positive predictive value of the serological test. It was demonstrated that urinary PCR is a strong tool recommended for the detection of leptospiral carriers among asymptomatic dogs. Despite the limitations of urinary research of leptospires, which is influenced by the intermittent urinary elimination, 20% of the dogs examined were eliminating leptospires at the time of sampling. The obtained results demonstrated the occurrence of a serious public health problem. **Ethics committee approval number:** uff, number 709. **Funding:** This study was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj).

22. HIGH PROPORTION OF CATTLE AND SHEEP SEROPOSITIVE AND RENAL CARRIERS OF LEPTOSPIRA SP. UNDER SEMIARID CONDITIONS

Alta proporção de bovinos e ovinos soropositivos e portadores renais de *Leptospira* sp. sob condições semiáridas

PIMENTA, C. L. R. M.;¹ BEZERRA, C. S.;¹ MORAIS, D. A.;¹ NOGUEIRA, D. B.;¹ SILVA, M. L. C. R.;¹ COSTA, D. F.;¹ ALVES, C. J.;¹ SANTOS, C. S. A. B.;¹ HIGINO, S. S. S.;¹ AZEVEDO, S. S.¹

¹Academic Unit of Veterinary Medicine, Center of Rural Technology and Health, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos/PB, Brazil.

E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br

Introduction: The development of cattle and sheep farming is of paramount importance for Brazilian agriculture. Leptospirosis is caused by bacteria of the genus *Leptospira* sp. and stands out as causing serious reproductive problems in ruminants. **Objective:** Serological and molecular characterizations of *Leptospira*

sp. infection in cattle and sheep under semiarid conditions.

Methods: Blood and urine samples were collected from 99 females of reproductive age (51 cattle and 48 sheep) for serological diagnosis (MAT; cut-off = 100), molecular detection and *Leptospira* sp. culturing. **Results:** Of the 99 examined animals, 38.4% (38/99) were reactive at the serological tests. Of them, 49% (25/51) were cattle and 27.1% (13/48) sheep. The serogroups detected in cattle were Sejroe (36.8%), Hebdomadis (26.3%), Australis (10.5%), Djasiman (10.5%), Balum (5.3%), Pomona (5.3%), and Cynopteri (5.3%) with titers of 100-800. In sheep, the reactive serogroups were Australis (27.3%), Balum (27.3%), Djasiman (18.1%), Tarassovi (9.1%), Icterohaemorrhagiae (9.1%), and Cynopteri (9.1%) with titers of 100-400. Leptospiral DNA was detected in nine urine samples, five cattle and four sheep. Farm 1 showed the highest serological positivity frequencies for both cattle (70.6%) and sheep (70.6%). Similarly, Farm 1 presented highest frequency of DNA detection (eight samples, 89%). In this property, it was observed the existence of consorted rearing of cattle and sheep with close coexistence between these species.

Conclusion: In semiarid conditions, transmission among animals of the same species seems to be the main form of *Leptospira* dissemination in cattle and sheep herds. However, the contribution of other domestic and wild animals cannot be discarded. The practice of consorted rearing of cattle and sheep and their close coexistence may facilitate the spread of the pathogen in rural properties.

CEUA: UFCG/20-2012. **Funding:** CNPq/Capes.

23. HISTOPATHOLOGICAL EVALUATION OF TISSUES FROM HAMSTERS (*MESOCRICETUS AURATUS*) EXPERIMENTALLY INFECTED WITH STRAINS OF LEPTOSPIRA SPP. FROM DIFFERENT SEROGROUPS

Avaliação histopatológica de tecidos de hamsters (*Mesocricetus auratus*) experimentalmente infectados com estirpes de *Leptospira* spp. de sorogrupos diferentes

PINTO, P. S.;¹ BARBOSA, C.;¹ BARBOSA, J. M. S.;² FERREIRA, A. M. R.;² LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

²Laboratory for Veterinary Pathologies, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

Introduction: Leptospirosis is an infectious disease determined by the different serogroups of *Leptospira*

spp. that affects several animal species, including humans. Studies with experimental infection are essential for understanding the transmission, colonization and pathogenesis of leptospirosis. Some studies demonstrated differences in *Leptospira* spp. infection by varying the inoculation route, the inoculum dose and the inoculated strain, but few have evaluated the particularities of infection by strains of different serogroups in the same study that was performed in the present study. **Objective:** To evaluate histopathological lesions in hamsters tissues experimentally infected with *Leptospira* spp. of different serogroups. **Methods:** Thirteen strains of leptospire were inoculated in hamsters, being eight belonging to the serogroup Icterohaemorrhagiae and five to the serogroup Sejroe. Each strain was inoculated four times in hamsters with one hamster per passage and the histopathological analyzes (Hematoxylin-eosin staining) were performed on the tissues of the fourth passage hamsters. Fifty three hamsters have been studied, in which thirteen were fourth passage hamsters and one was the negative control. **Results:** Degeneration in the cortical and medullar region with different degrees of lesion were observed more frequently in the kidneys of the animals infected with the strains of serogroup Icterohaemorrhagiae and Sejroe, being seven hamsters infected with strains of serogroup Icterohaemorrhagiae and five hamsters infected with strains of serogroup Sejroe. The presence of sinusoid congestion was statistically significant in the livers from hamsters infected with strains of serogroup Icterohaemorrhagiae ($p = 0,016$) as well as the presence of hepatocyte degeneration was statistically significant ($p = 0,012$) in hamsters infected with strains of serogroup Sejroe. In the lungs of animals infected with strains of serogroup Icterohaemorrhagiae and Sejroe all presented emphysema and atelectasis in different lesion degrees. Congestion and hemorrhages were observed only in four hamsters infected with strains of serogroup Icterohaemorrhagiae. **Conclusion:** Serogroups Icterohaemorrhagiae and Sejroe produced different lesions in the tissues of infected hamsters, with statistical significance for the presence of sinusoid congestion in the livers from hamsters infected with strains of Icterohaemorrhagiae serogroup and hepatocyte degeneration in hepatic tissues of hamsters infected with strains of Sejroe serogroup. **CEUA:** 611/2016 (CEUA-UFF). **Funding:** Capes (Finance code 001), Faperj.

24. HISTORICAL REVIEW OF EXPERIMENTAL INFECTION BY LEPTOSPIRAS IN RUMINANTS

Revisão histórica de infecção experimental por leptospiras em ruminantes

RIBEIRO, B.;¹ MARTINS, G.; LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: brunoribeirorochoa605@gmail.com

Introduction: Leptospirosis is an infectious disease caused by pathogenic spirochetes of the genus *Leptospira*. It affects domestic and wild animals and is characterized as a zoonotic disease. Leptospiral infection causes significant economic losses to livestock, mainly due to abortions, premature births, stillbirths, and weak calf syndrome. The first studies performed on this subject were focused on the observation of the pathological alterations caused by the inoculation of serovar Pomona in cows, reproducing the acute disease, with jaundice, hematuria, fever, and abortions. In other decades, other experimental infections were conducted in ruminants, describing the clinical presentation of the infection by Hardjo and other serovars, with a large variation of the clinical signs as fever, abortion, prostration, mastitis, placenta retention. **Objective:** Despite of the outcomes from experimental infections in ruminants worldwide, there is a large discrepancy regarding to the ideal dose, via, strain, model species or animal age to be used in generation of leptospirosis (different clinical presentations) in ruminants. This study aims to reduce the lacunae of the experimental infection of leptospire in ruminants, through a historical survey. **Methods:** Experiments that clearly described inoculation pathways, strain, dose concentration, clinical signs and animal age were selected. **Results:** Overall, from 29 different papers, 33 experiments were elected, clinical manifestations occurred mainly in young animals with less than one year of age and pregnant ruminants, infected with strains at high doses and through the systemic route. **Conclusion:** The experimental model of systemic and reproductive acute leptospirosis in ruminants has been well established with experiments determining that young and pregnant animals infected by systemic routes with high doses and incidental strains cause acute disease. However, studies focused on the chronicity

of the disease are requiring more research for a better understanding, mostly in reproductive area. **CEUA:** Not applicable. **Funding:** Faperj.

25. INFECÇÃO POR *LEPTOSPIRA* SP. PATOGENICA EM AMOSTRAS DE ASPIRADO FOLICULAR DE VACAS NÃO PRENHES

Infection by pathogenetic *Leptospira* sp. in samples of follicular aspiration of non-pregnant cows

FIGUEIREDO, L.;¹ PIRES, B. C.;¹ CORREIA, L.;¹ BRASIL, T.;¹ PEREIRA, P. V.;¹ LILENBAUM W.¹

¹Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brasil.

E-mail: cabralbruno@id.uff.br

Introdução: A leptospirose em vacas é uma doença de rebanhos caracterizada por desordens reprodutivas (morte embrionária, abortamentos e nascimento de bezerros fracos). As investigações já realizadas demonstraram a infecção por *Leptospira* sp. em diversas regiões do aparelho genital de vacas (especialmente útero e fluido vaginal). **Objetivo:** Identificar a infecção por *Leptospira* sp. patogênica em amostras de aspirado folicular de vacas não prenhes abatidas em matadouro estadual. **Métodos:** Amostras de aspirado folicular foram coletadas de 29 vacas não gestantes, destinadas ao abate em matadouro frigorífico sob inspeção estadual. PCR do gene LipL32 foi realizada a fim de detectar infecção do aspirado folicular por leptospirosas patogênicas. **Resultados:** No total, 13/29 (44,83%) amostras apresentaram DNA de leptospirosas na PCR, confirmando a infecção do folículo ovariano. **Conclusão:** A alta positividade da infecção por *Leptospira* sp. em amostras de aspirado folicular confirma a distribuição dessa bactéria pelo trato reprodutivo dos bovinos, além da possibilidade de infecção do oócito ainda no ovário. Essa infecção poderia levar à perda embrionária e/ou não fertilização, causando possível repetição de cio nos animais. **CEUA:** Número 863 (Ceua/UFF). **Agências de fomento:** CNPq, Faperj.

26. INFLUÊNCIA DE LEPTOSPIROSE EM ALGUMAS CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS DAS FÊMEAS BOVINAS LEITEIRAS

Influência da leptospirose em algumas características reprodutivas das fêmeas bovinas leiteiras

GIRIO, R. J. S.;¹ FALASCA, C.;¹ CINCOTTO, P. C. S.;² BARBANHO, S. M.;² TEIXEIRA D. D. B.¹

¹Centre of Research in Agricultural Sciences;

²Center for Research in Biological and Health Sciences, Universidade de Marília (Unimar), Marília/SP, Brazil.

E-mail: rgirio@unimar.br

Introduction: In bovine, leptospirosis is associated with significant economic losses due to the high rates of infertility and abortion, and reduction in the milk production with consequent depreciation of dairy herds. **Objective:** To verify the presence of antibodies against pathogenic *Leptospira* in a dairy herd located in the north region of São Paulo State, Brazil and to evaluate the influence of leptospirosis on the reproductive parameters of the herd. **Methods:** It was examined blood samples from 233 bovines (females) in the reproductive phase using the microscopic agglutination test (MAT) technique against 22 pathogenic *Leptospira* serovars. The reproductive variables were analyzed using information in the reproductive history of each female: numbers of deliveries, the calving interval between and number of services per conception both in positive and negative animals. Tukey test at 5% probability was used for results analysis. **Results:** Negative results were found in 148 females by the MAT technique. In these animals, it was observed 592 births with an average of four births per animal. The mean obtained in relation to the calving interval was 477,5 days. The average number of services per conception was 1.8. In the 85 females that presented positive results (36.4%), it was observed 353 deliveries with a mean of 4.2 per animal. The mean birth interval was 451.6 days. The average number of services per conception was 1.6. Serological reactions were obtained with four serovars: Hardjo (65.8%), Pomona (14.1%), Icterohaemorrhagiae (11.7%) and Canicola (8.2%), with titers ranging from 200 to 3,200. There was no significant difference between both groups (positive and negative) in the studied variables ($p > 0.05$). **Conclusion:** *Leptospira* is

present in bovine herds with a higher prevalence of serogroup Sejroe. Although there was no statistical difference between the groups studied, it is not possible to say that leptospirosis could impact the reproductive parameters of the studied herds. Maybe serology results could not be the best parameter for the analysis of reproductive troubles. **CEUA:** 22/2018.

27. INQUÉRITO SOROLÓGICO DE LEPTOSPIROSE EM CÃES ORIUNDOS DE FRAGMENTOS FLORESTAIS DO MUNICÍPIO DE SANTA BÁRBARA, PARÁ

Sorological survey of leptospirosis in dogs from forest fragments of the municipality of Santa Bárbara, Pará

ROCHA, K. S.;² MONTEIRO, T. R. M.;¹ PIMENTA, G. C.;¹ SILVA, A. F.;² ALBURQUEQUE, M. R.;² LIMA, D. N. S.;¹ FERREIRA, M. F. S.;¹ BARROSO, J. P. M.;¹ MOREIRA, J. V.;¹ MORAES, C. C. G.^{1,2}

¹Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública (LZSP), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal/PA, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação Saúde Animal na Amazônia (PPGSAAM), Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal/PA, Brasil.

E-mail: ccmoraes@ufpa.br

Introdução: A leptospirose é uma antropozoonose causada pelo gênero *Leptospira*, que pode acometer animais domésticos, silvestres e, acidentalmente, o homem. A proximidade homem-animal-floresta vem sendo intensificada de modo que o cão doméstico se tornou um membro familiar, entretanto, esses animais podem se comportar como importantes fontes de infecção da bactéria. **Objetivo:** inquérito sorológico da leptospirose em cães mantidos nas proximidades de fragmentos florestais do estado do Pará, Brasil. **Métodos:** Foram colhidas amostras de sangue de 56 cães (32 machos e 24 fêmeas), com idade variando de 1 a 9 anos, oriundos de habitações localizadas em assentamentos rurais do município de Santa Bárbara do Pará. As amostras foram submetidas ao teste de soro aglutinação microscópica (SAM), utilizando uma coleção de antígenos constituída por 31 sorovares de *Leptospira* spp., distribuídos em 19 sorogrupos. **Resultados:** 32 de 56 animais (57,14%) foram reagentes para um ou mais sorovares. Os sorogrupos predominantes foram Australis 39,29% (11/28), Shermani 8,57% (8/11), Hebdomadis e Semaranga 10,71%

(3/28) cada, seguido de Djasiman 7,15% (2/28) e Sejroe 3,57% (1/28). Em quatro amostras, houve coaglutinação para mais de um sorovar, sendo excluídas das análises de frequência. **Conclusão:** Os cães da zona rural tiveram contato com sorovares de leptospirosas e participam do ciclo epidemiológico da zoonose, com perfil distinto dos cães que habitam áreas urbanas das grandes metrópoles, onde as reações predominam para os sorogrupos Canicola e Icterohaemorrhagiae. **CEUA:** 021/2014 (Instituto Evandro Chagas). **Financiamento:** Capes.

28. LEPTOSPIRA GAPDH BINDS HUMAN PLASMIN(OGEN) WHICH CLEAVES HOST'S PHYSIOLOGICAL SUBSTRATES

Leptospira GAPDH liga plasmina(ogênio) humana que cliva substratos fisiológicos do hospedeiro

SOUZA, M. C. L.;¹ NEPOMUCENO, R.;¹ BARBOSA, A. S.¹

¹Laboratory of Bacteriology, Instituto Butantan, São Paulo/SP, Brazil.

E-mail: matilde.souza@butantan.gov.br

Introduction: Leptospirosis is a zoonosis caused by spirochetes of the genus *Leptospira*. Leptospirae have the ability to adhere to renal tubule cells, and to extracellular matrix components, which facilitates invasion and host colonization, also developed strategies to evade host's complement system. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) is a multifunctional housekeeping protein, and an archetypical example of a moonlighting protein. Recent evidence identifies GAPDH as a requirement for fungal, protozoal, or viral virulence. Recent published data have shown that GAPDH presents plasminogen-binding activity. **Objective:** To evaluate if leptospiral GAPDH could serve as a ligand for plasminogen, an important coagulation cascade molecule. **Methodology:** The GAPDH gene was amplified by PCR from genomic DNA of *L. interrogans* serovar Copenhageni strain 10A, and the protein was expressed in *E. coli* and purified by nickel-affinity chromatography. To assess if GAPDH-bound plasminogen could be converted into its active form plasmin by exogenously supplied uPA, immobilized GAPDH was incubated with plasminogen and after extensive washing, uPA and the chromogenic substrate D-valyl-leucyl-lysine- ρ -nitroanilide dihydrochloride were added. Degradation of physiological plasmin substrates, including fibrinogen, vitronectin, C3b and C5 was evaluated. **Results:** It was demonstrated that plasminogen bound to GAPDH

is converted to plasmin, which, in turn, is capable of degrading fibrinogen, vitronectin and C5 α -chain. In addition, the Far Western Blot data revealed that GAPDH interacts with C1q, a key molecule of the classical pathway of the complement system, and also interacts with plasma fibronectin. **Conclusion:** The obtained results suggest that GAPDH may contribute to the mechanisms of invasion, dissemination and immune evasion used by pathogenic leptospires. **CEUA:** Not applicable. **Funding:** Fapesp.

29. LEPTOSPIROSE CANINA: CASUÍSTICA NO HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIO. TERESINA/PI, BRASIL. JANEIRO DE 2017 A AGOSTO DE 2018

Canine leptospirosis: casuistry in the university veterinary hospital. Teresina, PI – Brazil. January 2017 to August 2018

DAMASCENO, T. C. M.;¹ SANTANA, M. V.;¹ NASCIMENTO, I. M. R.;² MINEIRO, A. L. B. B.³

¹Residente em Reprodução Animal. Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

²Colégio Técnico de Teresina (CTT). Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

³Departamento de Clínica e Cirurgia. Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina/PI, Brasil.

Email: tuttymedeiros@hotmail.com

Introdução: A leptospirose é uma enfermidade infecciosa de distribuição mundial, de grande importância por ser zoonótica, pois afeta seres humanos e animais. Os cães podem se infectar por diferentes sorovares. **Objetivo:** Apresentar a casuística de leptospirose canina no hospital veterinário universitário da UFPI, em Teresina, estado do Piauí, Brasil, no período compreendido entre janeiro de 2017 e agosto de 2018. **Métodos:** Foram utilizados os registros de 37 animais com suspeita de leptospirose, que apresentaram os sinais clínicos de: icterícia, inapetência, febre aguda, taquipneia, vômito, e achados laboratoriais de anemia, hiperfosfatemia, azotemia, hiperbilirrubinemia, aumento de ALT, FA e AST. O diagnóstico de leptospirose foi firmado com o emprego do teste de soroprecipitação microscópica (SAM) para detecção de anticorpos. Foram considerados reagentes os animais que, na triagem, apresentaram 50% ou mais de aglutinação na diluição de triagem de 1:100 da mistura soro/antígeno e, posteriormente, foram submetidos a titulação com diluições seriadas de razão 2.

Resultados: Reagentes para a leptospirose 17 (46%). O sorovar predominante foi o *Copenhageni*, a maioria machos. **Conclusão:** A análise dos prontuários revelou que a vacinação dos cães contra a leptospirose continua a ser pouco respeitada pelos proprietários e que há maior incidência da doença em período de chuvas.

30. LEPTOSPIROSIS IN DENGUE-NEGATIVE PATIENTS, SÃO PAULO STATE, BRAZIL

Leptospirose em pacientes negativos à dengue, Estado de São Paulo, Brasil

FORNAZARI, F.;¹ RICHINI-PEREIRA V. B.;² JOAQUIM, S. F.;¹ LANGONI H.¹

¹Department of Veterinary Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine and Zootechny (FMVZ), Universidade Estadual Paulista, Botucatu/SP, Brazil.

²Instituto Adolfo Lutz, Bauru/SP, Brazil.

E-mail: ff_vet@yahoo.com.br

Introduction: Leptospirosis is one of the most important zoonosis worldwide. In humans, it is considered a neglected disease, mainly because of their non-specific symptoms and the increased attention of public health authorities to other diseases with similar clinical presentation, especially dengue. **Objective:** The aim of this study was to detect leptospirosis among dengue-negative patients. **Methods:** A retrospective survey was performed using sera samples from 438 patients with clinical suspicion of dengue, but whose laboratory results were negative either by NS1 ELISA (n = 138) or IgM ELISA (n = 300) (both confirmatory of dengue). The samples were sent to dengue diagnosis in the Adolfo Lutz Institute (IAL), Bauru city, Brazil, between 2015 and 2016 and remained stored at -80°C. Samples were sent to IAL by health services from 35 cities near Bauru, all located in the central region of São Paulo state. Serum was submitted to real time Polymerase Chain Reaction (PCR) and the Microscopic Agglutination Test (MAT) using 100 as cut-off titer. MAT included six strains of the following serogroups: Icterohaemorrhagiae (M20 and RGA), Canicola (Hond Utrecht IV), Autumnalis (Akyiami A), Ballum (Mus 127) and Cynopteri (3522 C). **Results:** All samples were negative in PCR. Six samples were positive in MAT (1.3%), one for Cynopteri (titer 200) and five for Icterohaemorrhagiae serogroup with the following titers: 100 (n = 1), 200 (n = 2), 400 (n = 1) and 1600 (n = 1). **Conclusion:** A small proportion of dengue-negative patients had serological evidence of

Leptospira infection, indicating that leptospirosis may be misdiagnosed as dengue. The predominance of Icterohaemorrhagiae serogroup suggests that the Norway rat (*Rattus norvegicus*) was the probable animal reservoir. However, further investigations are needed to confirm this hypothesis. **CEP:** Comitê de Ética em Pesquisa of the Faculdade de Medicina de Botucatu, registro n° 5411. **Funding:** Fapesp.

31. LEPTOSPIROSIS: SEROPREVALENCIA EN POBLACIONES DE EQUINOS Y REFERENTES HUMANOS EN URUGUAY

Leptospirose: soroprevalência em equinos e em referentes humanos no Uruguai

MENY, P.;¹ RIOS, C.;² MENÉNDEZ, C.;¹ MOSCA, V.;² QUINTERO, J.;¹ IGLESIAS, T.;¹ ABELLA, M.;¹ ASHFIELD, N.;¹ FERREIRA, O.;² VERGER L.;² VARELA, G.;¹ SCHELOTTO, F.¹

¹Departament of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Universidad de la República (UdelaR), Uruguay.

²Veterinary Public Health Area, Department of Environmental Health and Veterinary Legislation, School of Veterinary, Universidad de La República (UdelaR), Uruguay.

E-mail: pmeny@higiene.edu.uy

Introducción: La leptospirosis equina se cree poco común por ser habitualmente subclínica, pero estudios recientes sugieren que es una infección extendida geográficamente, con diversos perfiles de incidencia y serovares infectantes. Por su elevado nivel poblacional y su empleo en múltiples tareas, corresponde considerar a los equinos como potencial fuente de infección humana. En Uruguay, hasta el momento, no hay registros de leptospirosis en equinos. Esta enfermedad se asocia principalmente con el reservorio bovino, pero determinados equinos comparten espacios con bovinos y con otros animales de producción en establecimientos ganaderos, y en establecimientos de cría existen abundantes roedores atraídos por el alimento y forraje. **Objetivos:** Determinar la prevalencia de infección en poblaciones nacionales de equinos, y su frecuencia en los trabajadores referentes. Determinar aquellos serogrupos más frecuentemente reactivos por MAT. **Metodología:** De abril de 2017 a agosto de 2018 se obtuvieron 258 sueros equinos de 28 establecimientos (ganaderos 79, haras 52, studs 51, Ejército 76). Se obtuvieron también 84 sueros de

trabajadores. En los equinos, se realizó MAT con este panel de serovares: Castellonis, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona, Wolffii, Hardjo, Tarassovi, Hardjobovis. En los trabajadores, se utilizó un panel más amplio. En equinos, se consideró positivo un título ≥ 100 ; en trabajadores ≥ 400 o seroconversión. Se aplicaron cuestionarios recogiendo información sobre equinos, trabajadores, condiciones de trabajo, ambientales y del entorno. **Resultados:** Se observó una seroprevalencia total de un 37,7%: Icterohaemorrhagiae (26,8%), Sejroe (15,2%), Ballum (5,4%) y otros serogrupos (4,3%). Los mayores valores se observaron en equinos del ejército (47,8%), pero no hubo diferencias significativas en seroprevalencia por tipo de establecimiento. Sólo se observó reactividad en dos trabajadores de establecimientos ganaderos, con títulos ≤ 200 , sin sintomatología asociada. **Conclusión:** Se prevé avanzar en diagnósticos de enfermedad, en aislamiento de cepas infectantes, e inclusión en los paneles MAT de cepas circulantes en Uruguay para mejorar su sensibilidad. **Financiamiento:** Programa VUSP 2017, CSIC, UdelaR.

32. LOCALIZATION OF LEPTOSPIRA INTERROGANS SURFACE PROTEINS BY IMMUNOFLUORESCENCE

Localização de proteínas superficiais de *Leptospira interrogans* por imunofluorescência

TIMM, G. N. R.;¹ SOUZA, J. D.;¹ GRASSMANN, A. A.;¹ MCBRIDE, A. J. A.¹

¹Laboratory for Research on Infectious Diseases, Technological Development Center, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas/RS, Brazil.

E-mail: gabi.timm@hotmail.com

Introduction: Leptospirosis is a neglected zoonosis with a worldwide distribution caused by pathogenic spirochetes belonging to the *Leptospira* genus. Vaccines are the most efficient prophylactic measure for infectious diseases. However, the current vaccine against leptospirosis has numerous disadvantages, such as short-term protection and serovar-related specificity, and, in Brazil, it is only available for animals. Thus, there is a need to develop a new vaccine that can overcome these problems and that can be used in humans. Hence, the discovery of new proteins that are exposed on the bacterial surface, which are promising antigens for a new vaccine, could overcome the shortcomings of bacterin vaccines. **Objective:** The objective was to adapt an immunofluorescence

technique for determining the cellular localization of proteins to *Leptospira* spp. **Methods:** Four recombinant proteins, previously predicted by reverse and structural vaccinology as surface proteins, as well as three flagellar proteins, were produced. From these, it was produced polyclonal antibodies, which were used in the localization of leptospiral proteins. Leptospire were subjected to immunofluorescence analysis with methanol, immunofluorescence in agarose beads and surface immunofluorescence. **Results:** The immunofluorescence in agarose beads confirmed the localization of LigB, LipL32 and LcpA as surface exposed proteins; and the surface immunofluorescence erroneously identified the location of FcpA, a bacterial flagellar component, as a surface protein. **Conclusion:** The approach based on the encapsulation of leptospire in agarose microdroplets, although needing further improvement, provided promising results for determining the cellular localization of proteins in *L. interrogans*. **CEEA/UFPEL:** n° 4336-2015. **Funding:** Capes, CNPq.

33. MARSUPIALS AS MAINTENANCE HOSTS OF PATHOGENIC LEPTOSPIRES IN PARANAÍBA RIVER'S VALLEY, GOIÁS AND MINAS GERAIS STATES, BRAZIL

Marsupiais como hospedeiros de manutenção de leptospiras patogênicas no Vale do Rio Paranaíba, estados de Goiás e Minas Gerais, Brasil

MOREIA, R. Q.;^{1,2} RAMOS, V. N.;³ VIEIRA, R. F.;¹ MANGUEIRA, R. A. F.;⁴ PIRES, B. C.;⁵ LIBONATI, H.;⁵ LILENBAUM, W.;⁵ LIMA, A. M. C.²

¹Veterinary Medicine Course, Instituto Master de Ensino Presidente Antônio Carlos (Imepac) Araguari/MG, Brazil.

²Laboratory of Infectious and Contagious Diseases, School of Veterinary Medicine (Famev), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Brazil.

³Laboratory of ixodology, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Brazil.

⁴Department of Physical Sciences, School of Agriculture Luiz de Queiros (Esalq), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP, Brazil.

⁵Laboratory of Veterinary Bacteriology, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: annalimauf@yahoo.com.br

Introduction: Small non-flying mammals hold the largest number of species within the Mammalia class in Brazil. Mainly rodents and marsupials, important

reservoirs hosts of pathogenic serovars of leptospire, represent this group of animals. **Objective:** The aim of this study was to identify the frequency of wild marsupial carriers of pathogenic leptospiras in three different areas of the Paranaíba river's valley, Brazil.

Methods: Two campaigns were carried out to capture marsupials, one at the end of the rainy season and another at the end of the drought. Eight traps of the Tomahawk, and 116 traps of the Sherman types were used, baited with banana slices covered with peanut flour. PCR assays were performed to detect the lipL32 gene in renal tissue of marsupials captured in three distinct areas along the Paranaíba river's valley: Low Paranaíba (Ipiaçu/MG, 18.7770833S; 49.8978889W); Middle Paranaíba (Goianira/GO, 18,1630556S; 48,1354722W); and High Paranaíba (Guimarânia/MG, 18.8101944S, 46.6755278W). It was applied the non-parametric chi-square association test to verify the significance of the association of the factors studied. The procedures performed were authorized by CEUA-UFU under protocol number 151/16. **Results:** Thirty-nine specimens belonging to the Marsupialia order were captured, and of these, 14 (35.89%) presented the lipL32 gene in their renal tissues at the PCR. The Middle Paranaíba area had a higher frequency of renal carriers (9/14) than Alto Paranaíba (3/17) and Lower Paranaíba (2/8), with $p = 0.0086$. **Conclusion:** Marsupials presented as pathogenic leptospire maintainers in the Paranaíba river's valley. The Middle Paranaíba's area was characterized as the one of greater challenge to the marsupials by pathogenic leptospire. **CEUA:** 151/16 **Funding:** Fapemig, mostly in own resources.

34. MOLECULAR COMPARISON OF FOUR VIRULENCE-RELATED GENES IN LEPTOSPIRAL STRAINS OF ICTEROHAEMORRHAGIAE SEROGROUP

Comparação molecular de quatro genes relacionados à virulência nas estirpes leptospirais do sorogrupo Icterohaemorrhagiae

CORREIA, L.;¹ MALLIAGROS, L. V.;¹ PIRES, B. C.;¹ BRASIL, T.;¹ JAEGER, L. H.;¹ CARVALHO-COSTA, F. A.;² LILENBAUM, W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

²Laboratory of Epidemiology and Molecular Systematics, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC-Fiocruz), Rio de Janeiro/RJ, Brazil.
E-mail: lucascorreia@id.uff.br

Introduction: Pathogenesis of leptospirosis is related to agent characteristics as well the ability to escape immune system of the host. However, the leptospires biology and virulence factors are not enough characterized and the factors for the pathogenesis and that trigger the development of the disease are still unclear. **Objective:** Compare the occurrence and expression of four virulence-related genes in leptospiral strains of serogroup Icterohaemorrhagiae that were virulent or not in hamster model (*Mesocricetus auratus*). **Methods:** Eight strains of serogroup Icterohaemorrhagiae belonging to two species were studied: four of *L. interrogans* (virulent) and four of *L. kirschneri* (not virulent). DNA was obtained using Wizard SV Genomic DNA Purification System® (Promega) and RNA using Trizol Reagent (Invitrogen). PCR was performed with GoTaq® DNA Polymerase (Promega) and RT-PCR using OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN): for two genes for surface protein (*ligA* and *lipL32*), one for motile-associated flagella (*fliY*) and one for adhesin (*lenA*). The PCR products of partial region of the genes were purified using Wizard SV Gel and PCR Clean-up System (Promega) and sequenced using Big Dye terminator v3.1 kit (Applied Biosystems) in the ABI 3730XL Genetic Analyzer (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) on the RPT01A DNA sequencing platform (Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática, IOC/FIOCRUZ). **Results:** All virulent and non-virulent strains studied showed the target genes in DNA. Regarding expression of the virulence-related genes in RNA, all presented positive result for these with exception of a non-virulent strain for the *fliY* gene. In nucleotide sequence analyzes, no polymorphisms were observed which may be related by differences in strain virulence. **Conclusion:** The targets studied may not be related to differences in virulence in strains of serogroup Icterohaemorrhagiae, making it necessary evaluate a larger set of different targets for a better understanding of the leptospiral virulence mechanisms. **CEUA:** 611/2015. **Funding:** Capes (Finance code 001), Faperj.

35. *NECTOMYS SQUAMIPES* AS MAINTENANCE HOSTS OF PATHOGENIC LEPTOSPIRES IN PARANAÍBA'S RIVER VALLEY, GOIÁS AND MINAS GERAIS STATES, BRAZIL

Nectomys squamipes como hospedeiros de manutenção de leptospirosas patogênicas no Vale do Rio Paranaíba, estados Goiás e Minas Gerais, Brasil

MOREIA, R. Q.;^{1,2} RAMOS, V. N.;³ VIEIRA, R. F.;¹ PIRES, B. C.;⁴ LIBONATI, H.;⁴ LILENBAUM, W.;⁴ LIMA, A. M. C.²

¹Veterinary Medicine Course, Instituto Master de Ensino Presidente Antônio Carlos (Imepac) Araguari/MG, Brazil.

²Laboratory of Infectious and Contagious Diseases (Famev), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brazil.

³Laboratory of Ixodology, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, Brazil.

⁴Laboratory of Veterinary Bacteriology, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: annalimaufu@yahoo.com.br

Introduction: Leptospirosis is a disease that occurs more frequently in regions of tropical climate, which favor the survival of the bacteria in the environment. *Nectomys squamipes* is a wild rodent of semiaquatic behavior, which favors its contact with leptospires. **Objective:** The aim of this study was to identify the renal carrier status of three specimens of *Nectomys squamipes* captured in the Paranaíba's river valley, Brazil. **Methods:** MAT test was performed for 21 serovars of standard strains, and four strains of isolates of small and wild synanthropic mammals in Brazil. PCR assays were also performed for the detection of the *lipL32* gene in *Nectomys squamipes* renal tissue, captured in two areas along the Paranaíba's river valley (Goianira/GO, 18,1630556S; 48,135,472W and Guimarães/MG, 18,8101944S; 46,6755278W). **Results:** Three specimens of *Nectomys squamipes* were captured in riverside forest environment, and all presented the *lipL32* gene in their renal tissues against a PCR, but none reacted to MAT. **Conclusion:** *Nectomys squamipes* is an important maintainer of circulating pathogenic leptospires in the studied environment, being configured as prominent agents in the epidemiology of leptospirosis in the Paranaíba's river valley, Goiás and Minas Gerais states, since they promote an interface between the aquatic and terrestrial environments. **CEUA:** 151/16. **Funding:** Fapemig, mostly in own resources.

36. OCCURRENCE OF ANTI-LEPTOSPIRA ANTIBODIES IN DOGS IN THE SOUTHWESTERN REGION OF THE STATE OF SÃO PAULO

A ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* em cães na região sudeste do estado de São Paulo

GOMES, N.;¹ SOUZA-FILHO, A.F.;² GONÇALES, A. P.;¹ PINTO, C. M.;¹ ONOFRIO, V.C.;¹ SOUZA, G.O.;² GUEDES, I. B.;² ABREU, J. A. P.;² CORTEZ, A.;¹ HEINEMANN M. B.²

¹Universidade Santo Amaro (Unisa), São Paulo/SP, Brazil.

²Laboratory of Bacterial Zoonoses, Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health (VPS), School of Veterinary Medicine and Zootecny (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP, Brazil.

E-mail: marcosbryan@usp.br

Introduction: Leptospirosis is an emerging disease with different prevalence in dogs' populations. Dogs play an important role in the disease epidemiology, acting as accidental or maintenance hosts. Infective serovars present different geographic distribution among these populations, depending on exposure to hosts from infected wild or domestic animal reservoirs. The most common serovars that infect dogs, prior to the introduction of the vaccines against leptospirosis, were Icterohaemorrhagiae and Canicola. **Objective:** To analyze the occurrence of anti-*leptospira* antibodies in dogs from southwestern region of the state of São Paulo, using the microscopic agglutination test (MAT). **Methods:** Blood samples were collected from 449 dogs, during campaign of population control of dogs by UNISA – Projeto Extensão Universitária and Projeto Rondon[®]SP in the municipalities of Apiai, Cananéia and Itapeva (Southwest Region of São Paulo State). After the blood serum was obtained, the samples were submitted to microscopic agglutination test (MAT) using 24 serovars representing 18 *Leptospira* spp serogroups. There was no information about previous vaccinations against leptospirosis. **Results:** From the total of 449 samples, 136 (30.29%) were reagents, with titers ranging from 100 to 25600 for 16 of the 24 serovars tested. All the reagents animals were from the municipality of Itapeva. The most probable reagent serogroup was Icterohaemorrhagiae (61,86%) with titers ranging from 100 to 12800. The second most reagent serogroup was Canicola (16.10%) and titers ranging from 100 to 25600, followed by Cynopteri (9.32%), Ballum and Sejroe (4.24%), Autumnalis (3,39%),

and Hebdomadis (0.85%). **Conclusion:** Anti-*leptospira* antibodies were present in dogs from Itapeva municipality, São Paulo state, Brazil, with predominance of reactions against *L. interrogans* serogroups Icterohaemorrhagiae and Canicola. The campaign of population control of dogs can be applied as a surveillance system for leptospirosis and other diseases in the dog population. **CEUA:** CEUA/UNISA No 35/2012 AND 19/2014. **Funding:** CNPq (MBH fellowship), Capes (Finance code 001).

37. OUTBREAK OF ACUTE LEPTOSPIROSIS IN SOWS

Surto de leptospirose aguda em porcas

DICK, G.;¹ FARIAS, D. K.;² NASCIMENTO, J.;¹ CUNHA, A. P.;¹ COELHO, M. E.;¹ THOMÉ, J.;¹ RECK, C.;³ MENIN, A.¹

¹Universidade Federal do Estado de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis/SC, Brazil.

²Universidade do Estado de Santa Catarina (Udesc), Florianópolis/SC, Brazil.

³VERTÁ – Laboratory of Veterinary Diagnostic / Institute of Veterinary Research and Diagnostic.

E-mail: alvaro.menin@ufsc.br

Introduction: Leptospirosis is an important zoonosis that causes reproductive disorders in swine of worldwide. There are also human occupational disease exposure risks. In swine, the clinical signs, which include abortion and infertility, varies according to the infecting serovar. Serovars not adapted to the swine frequently cause severe disease and large herd productive losses. **Objective:** Report an outbreak of acute leptospirosis in herd with 1200 sows. **Methods:** Sixteen samples of placenta, liver, kidneys, lungs, heart, spleen and gastric content of piglets aborted were taken and examined by PCR assay to *Erysipelothrix rhusiopathiae*, Porcine Parvovirus, *Chlamydia* sp., *Mycoplasma* sp. and *Leptospira* spp. Serum samples from 83 sows aborted were examined for leptospira antibodies with 20 reference leptospira serovars by a microscopic agglutination test (MAT). **Results:** Swine herd with 1200 sows, presented 18% of the abortion, fever and anorexia. Abortion was observed in different stages of pregnancy. Eleven samples of placenta, liver, kidneys, lungs, heart, spleen and gastric content of piglets aborted were positive for *Leptospira* spp. in PCR. The analysis of serum samples from 83 sows with 20 reference leptospira serovars by a microscopic agglutination test (MAT) revealed that the cause of abortion was infection by *Leptospira interrogans*

serogroup Icterohaemorrhagiae. After the diagnosis, the animals were treated with 550 ppm of amoxicillin in the feed for twelve days. Four days after initiated treatment, the clinical signs disappeared. **Conclusion:** Swine leptospirosis may be an important cause of reproductive losses. Control and surveillance measures for reducing the risk of exposure to zoonotic pathogen should be evaluated, since, the disease correlation between swine, humans and the environments is eminent.

38. PEPTÍDEO SINTÉTICO DE PROTEÍNA HIPOTÉTICA DE *LEPTOSPIRA INTERROGANS* INDUZ ANTICORPOS IGY EM *GALLUS GALLUS DOMESTICUS*

Synthetic peptide of hypothetical protein of *Leptospira interrogans* induces igy antibodies in *Gallus gallus domesticus*

SANTOS, J. P.;¹ PEREIRA, F. S.;¹ FERREIRA-JÚNIOR, A.;² LIMA, A. M. C.¹

¹Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária (Famev), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brasil.

²Laboratório de Sorologia, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia/GO, Brasil.

E-mail: jandra.santos@yahoo.com.br

Introdução: O core genome de *Leptospira interrogans* possui genes não homólogos aos encontrados nos seus hospedeiros e em *Gallus gallus domesticus*. Proteínas hipotéticas (ProH) de *L. interrogans* são preditas com a utilização de programas de bioinformática. A caracterização dessas proteínas inclui a produção de anticorpos para validação da predição *in silico*. As imunoglobulinas Y (IgY) de *G. gallus domesticus* são recursos para aplicação em estudos de proteômica. **Objetivo:** Descrever a capacidade de um peptídeo sintético (denominados peptídeo (p) 127, obtidos da sequência de ProH de *L. interrogans*) para produção de IgY em galinhas. **Métodos:** Foram utilizadas galinhas da linhagem HiSex, com 25 semanas de idade. As aves foram imunizadas de acordo com o protocolo de adjuvantes de Freund, por meio de quatro inoculações intramusculares (50 µg de peptídeo em 250 µL de PBS 0,01M, pH 7,2 acrescido de igual volume de adjuvante) com intervalos de 14 dias. A soroconversão das galinhas foi analisada com o emprego do teste ELISA indireto. As concentrações ótimas do peptídeo, dos

anticorpos primários e do anticorpo secundário foram obtidas por metodologia de *checkerboard*. As microplacas de 96 poços de PVC foram bloqueadas com albumina sérica bovina 1%, a revelação foi conduzida com TMB e H₂O₂ 30% e a parada da reação de revelação foi executada com H₂SO₄ 2N. O ponto de corte foi calculado a partir da média da densidade óptica (DO) de amostras de soro sanguíneo de galinhas não imunizadas e negativas no MAT. Valores de DO superiores ao ponto de corte, foram consideradas reagentes. **Resultados:** A maior razão sinal/ruído e o menor *background* foram verificados com peptídeo na concentração de 1µg/ml, anticorpos primários na diluição 1:400 e anticorpo secundário 1:5000. O valor médio da DO para o peptídeo foi 1,05. **Conclusão:** O peptídeo sintético 127 induziu a produção de imunoglobulinas Y específicas em *G. gallus domesticus*. **CEUA:** 006/2017(Uniube). **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig).

39. PESQUISA DE AGLUTININAS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP. EM BOVINOS DA SERRA DA CANASTRA, MINAS GERAIS, BRASIL

Anti-*Leptospira* spp. agglutinine research in bovines of Serra da Canastra, Minas Gerais, Brazil

SANTOS, G. A.;¹ SANTOS, J. P.;² FERREIRA-JÚNIOR, A.;³ MONARIS, D.;¹ SAVATIER, A.;² HO, P. L.;¹ LÉONETTI, M.;² ABREU, P. A. E.¹

¹Medicina Veterinária, Universidade de Uberaba (Uniube), Uberaba/MG, Brasil.

²Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV), Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brasil.

³Laboratório de Sorologia, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia/GO, Brasil.

E-mail: alvaro.ferreira@ufg.br

Introdução: A leptospirose é uma importante causa de perdas econômicas em rebanhos de bovinos, nos quais determina a ocorrência de abortamentos, queda de fertilidade e natimortalidade. A região da Serra da Canastra, em Minas Gerais, é um polo produtor do queijo Canastra, um patrimônio cultural imaterial da região. Entretanto, os dados sobre a circulação de *Leptospiras* na região são escassos, e a vacinação contra leptospirose não é comum nos rebanhos da região. **Objetivo:** Descrever a ocorrência de aglutininas contra sorogrupos

de *Leptospiras* em bovinos não vacinados contra a leptospirose, criados na Serra da Canastra, Estado de Minas Gerais, Brasil. **Métodos:** Foram testadas 100 amostras de soro sanguíneo de bovino, não vacinados, criados na cidade de Vargem Bonita, Serra da Canastra, Minas Gerais. As amostras de soros foram obtidas da soroteca do hospital veterinário da Uniube. A triagem e a titulação foram realizadas por meio do teste de soroa-glutinação microscópica (SAM), utilizando um painel com representantes de 12 sorogrupos de *Leptospira* spp. (Australis, Autumnalis, Bataviae, Canicola, Djasiman, Grippotyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Sejroe e Tarassovi). **Resultados:** A reatividade no SAM foi de 54% (54/100), sendo que 83,3% (45/54) dos animais reagentes tinham mais de 12 meses de idade. Foram detectadas aglutininas contra os sorogrupos Australis, Djasiman, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Sejroe e Tarassovi. O sorogrupo Sejroe foi o mais frequente. Foi verificado o título de 1.600 em única fêmea, assintomática. **Conclusão:** Há circulação de leptospiras entre os bovinos da Serra da Canastra, estado de Minas Gerais, Brasil, e o sorogrupo Sejroe é o mais frequente. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) e CNPq.

40. PHYLOGENETICAL INFERENCES OF FIVE ISOLATES OF LEPTOSPIRA OF SWINE BASED ON 16S AND SECY GENES

Inferências filogenéticas de cinco estirpes isoladas de *Leptospira* de suínos baseados nos genes 16s e secY

BASTOS, C. R.;¹ MARULANDA, N. D. F.;¹ JAEGER L. H.;² MIRANDA, V. F. O.;¹ LILENBAUM, W.;³ MATHIAS, L. A.¹

¹School of Agrarian and Veterinary Sciences, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal/SP, Brazil.

²School of Pharmacy and Biochemistry, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora/MG, Brazil.

³Laboratory of Veterinary Bacteriology, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: carlarbvet@gmail.com

Introduction: Leptospirosis is a zoonosis responsible for economic and health damage in swine herds. The

cultivation and typing of leptospire strains present in one region are still an important subject to bring knowledge for disease control. **Objective:** To perform cultivation and molecular characterization of leptospire strains isolated from swine slaughtered in São Paulo state, Brazil, in 2016. **Methods:** It was collected 980 urine samples and 74 kidney samples from swine slaughtered in São Paulo state (Brazil). Samples were cultured in EMJH and Fletcher medium, and the isolates were characterized by serogrouping techniques, lipL32-PCR, VNTR, 16S and secY sequencing. Phylogenetical inferences were performed with 16S and secY loci individually and with two concatenated genes using Bayesian inference.

Results: Five isolates were obtained from urine and kidney samples, named Unespo1-05. Serogrouping showed three distinct serogroups for the isolates: Icterohaemorrhagiae, Autumnalis and Sejroe. All isolates showed to be pathogenic by lipL32-PCR. Two *Leptospira* species were found: *L. interrogans* and *L. santarosai*. Genotyping by the VNTR determined three distinct patterns: Icterohaemorrhagiae/Copenhageni (genotype I3/I6), Guaricura and one undescribed. The Bayesian tree was congruent with the current species classification in their general topology and most clades were highly supported.

Conclusion: The isolation of leptospire from serogroups Icterohaemorrhagiae and Sejroe should be seen as an alert for surveillance systems and a concern for unique health. The isolates from serovar Autumnalis presented a genotype not yet described, showing a change in the genetic profile o, which can lead to changes in the behavior and adaptation of the bacterium. The isolates were grouped in phylogenetic trees with other leptospire of the same species, serogroup and geographic region of isolation, demonstrating the importance of knowing the etiologic agent that occurs in each region. **CEUA:** Approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA) of the UNESP, Campus Jaboticabal - SP, Brazil, under No 12276/15. **Funding:** Doctoral Scholarship – CNPq (Processes: 141190 / 2016-7).

41. PRESENÇA DE ANTICORPOS CONTRA O SOROGRUPO DJASIMAN NO SORO DE VACAS EM LACTAÇÃO NAS MESORREGIÕES SUDESTE E SUDOESTE DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Presence of antibodies against the Djasiman serum group in the serum of cows in lactation in the southeast and southwestern mesoregions of Rio Grande do Sul, Brazil

SILVA, J. F.; JORGE, S.;¹ SOUZA, G. N.;² PEGORARO, L. M. C.;³ DELLAGOSTIN O. A.¹

¹Laboratório de Vacinologia, Núcleo de Biotecnologia (CDTec), Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas/RS, Brasil.

²Embrapa Gado de Leite

³Embrapa Clima Temperado

E-mail: nanafadrique@yahoo.com.br

Introdução: A leptospirose é uma zoonose com distribuição mundial causada por bactérias patogênicas do gênero *Leptospira* spp. Em bovinos, a doença está associada a transtornos reprodutivos e os sorogrupos prevalentes são: Sejroe e Pomona. O sorogrupo Djasiman é pouco citado na literatura, apresentando baixa prevalência no rebanho bovino. **Objetivo:** Investigar a prevalência de anticorpos contra *Leptospira* spp. e identificar os sorogrupos prevalentes em vacas em lactação nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Métodos:** Foram coletadas 149 amostras de soro de vacas em lactação localizadas em 22 propriedades das mesorregiões sudeste e sudoeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A amostragem aleatória simples foi realizada considerando a soroprevalência esperada de 50%, nível de confiança 95% e erro amostral 5%. No momento da colheita, foi aplicado um questionário epidemiológico. Todos os soros foram submetidos ao teste de soroaglutinação microscópica (SAM), avaliando-se a presença de anticorpos aglutinantes contra 12 sorogrupos de *Leptospira* spp. Os soros que apresentaram aglutinação $\geq 50\%$ na diluição de 1:100 foram considerados como positivos e diluídos até 1:3200, para determinar o título de anticorpos. **Resultados:** A soro prevalência encontrada (77,18%) foi acima da esperada e os sorogrupos prevalentes foram Djasiman (58,26%) e Icterohaemorrhagiae (6,09%). A alta prevalência do sorogrupo Djasiman sugere infecção incidental pelo contato com urina de animais silvestres infectados, como roedores e gambás, atuando como hospedeiros de manutenção. Novos estudos são necessários

para verificar os fatores de risco e com a confirmação definitiva do sorovar presente com procedimentos de cultivo, isolamento e tipificação. **Conclusão:** Foi constatada uma alta prevalência de reações para sorogrupo Djasiman em rebanhos de bovinos das mesoregiões sudeste e sudoeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, demonstrando a importância da sua inclusão nas coleções de antígenos utilizadas para a vigilância epidemiológica da doença. Sugere-se que novos estudos sejam realizados para confirmar a identidade da estirpe de leptospira que está circulando na região, esclarecer os respectivos fatores de risco regionais e orientar as medidas de controle e prevenção a serem adotadas.

Financiamento: Capes, Embrapa, UFPel.

42. PREVALENCE AND RISK FACTORS TO LEPTOSPIRA SP. INFECTION IN DOGS ATTENDED AT VETERINARY CLINICS IN JOÃO PESSOA, PARAÍBA STATE, NORTHEASTERN BRAZIL

Prevalência e fatores de risco para infecção de *Leptospira* sp. em cães atendidos em clínica veterinária em João Pessoa, estado da Paraíba, Nordeste do Brasil

BRASIL, A. W. L.;¹ COSTA, D. F. C.;¹ PIMENTA, C. L. M. R.;¹ PARENTONI, R. N.;¹ ALVES, C. J.;¹ SANTOS, C. S. A. B.;¹ AZEVEDO S. S.¹

¹Graduate Program in Veterinary Medicine, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos/PB, Brazil.

E-mail: sergio.azevedo@ufcg.edu.br

Introduction: From the one health point of view canine leptospirosis is a disease of great relevance since dogs are sources of infection of leptospires to human beings. **Objective:** To determine the prevalence and risk factors associated with *Leptospira* sp. in dogs attended at veterinary clinics in the city of João Pessoa, State of Paraíba, Northeast Brazil. **Methods:** A total of 384 blood samples from dogs from 34 private veterinary clinics were collected from April 2015 to May 2016. The diagnosis of *Leptospira* sp. was carried out through Microscopic Agglutination Test (MAT), using a collection of 20 pathogenic antigens and adopting a 1:100 dilution as cutoff point. An epidemiological questionnaire was applied to the animal's owners for obtaining the information used in the risk factors analysis. **Results:** The prevalence of seropositive animals was 11.7% (45/384), with reactions

for the serogroups Icterohaemorrhagiae (62.3%), Grippotyphosa (22.2%), Canicola (13.3%), Djasiman (2%) and Pomona (2.2%). The f risk factors identified were: age from 49 to 72 months (odds ratio = 2.74), Age > 72 months (odds ratio = 3.22), and monthly cleaning of the environment where the animals are kept (odds ratio = 10.7). **Conclusion:** It is concluded that dogs attended in private veterinary clinics in João Pessoa, Paraíba, Brazil are exposed to infection by *Leptospira* sp. with predominance of serogroups maintained by wild animals. It is suggested that the cleaning frequency of the environment where the animals live should be improved. **CEUA:** This experiment was approved and performed under the guidelines of Ethics Committee for Animal Protocol Use of Federal University of Campina Grande (Protocol No. 010.2016).

43. PRODUCTION OF LEPTOSPIRAL IMMUNOGLOBULIN-LIKE PROTEINS FUSED TO ZZ AND/OR R DOMAINS AND/OR HIV-1 TAT PROTEIN

Produção de proteínas semelhantes à imunoglobulina leptospiral fundidas às proteínas ZZ e/ou domínios R e/ou do HIV-1 TAT

MONARIS, D.;¹ SAVATIER, A.;² HO, P.L.;¹ LÉONETTI, M.;² ABREU, P.A.E.¹

¹Laboratory of Bacteriology I, Instituto Butantan, São Paulo/SP, Brazil.

²Institut de Biologie et de Technologies de Saclay, Saclay, France.

E-mail: denizemonaris@gmail.com / denize.monaris@butantan.gov.br

Introduction: Leptospirosis is a zoonotic disease caused by pathogenic spirochetes of the genus *Leptospira* which colonize the renal tubules of wild or domestic animals and are released to the external environment in urine. The development of a vaccine is very important, since the control of carrier animals is difficult. Some vaccines are being used, but they promote protection only against the serotypes present in the preparation and fail to induce long-term immunity. The LigA and LigB proteins are able to induce immunoprotection against leptospirosis, however, it didn't confer sterilizing immunity. **Objectives:** The aim of this study was the cloning, expression, purification and structural characterization of recombinant LigA and LigB proteins fused to the ZZ domain of protein A from

Staphylococcus aureus, R domain of diphtheria toxin and the TAT protein of the HIV virus. **Methods:** The LigAC, LigBC (carboxy-terminal portion) and LigBN (amino-terminal portion) were cloned into the expression vector pCP by *SLICE Cloning* technique. The recombinant proteins were expressed in *E. coli* and purified by affinity chromatography and analyzed by circular dichroism spectroscopy. The antigenicity of fusion proteins was evaluated by *ELISA* using sera from hamsters immunized with purified recombinant proteins. **Results:** Each purified recombinant protein showed a major band with expected molecular mass and the structural integrity revealed a predominant b-sheet secondary structure. Robust antibody responses against recombinant proteins were detected in hamsters by *ELISA* analysis. The vaccine potential of these fusion proteins will be tested in challenge studies using hamster model. **Conclusions:** The purification and refolding process was successfully obtained. It is expected that this approach may contribute to increase the immunogenicity of the recombinant proteins through the increased efficiency of antigen presentation processes to the immune system in order to provide a sterile immunization. **CEUA:** 7643121115. **Funding:** FAPESP 2015/19445-8, CNPq and Butantan Foundation.

44. RESEARCH OF ANTIBODIES AND DNA OF LEPTOSPIRA SPP. IN BOVINE FETUSES NON-ABORTED COLLECTED IN SLAUGHTERHOUSE

Pesquisa de anticorpos e DNA de *Leptospira* spp. em fetos bovinos não abortados coletados em matadouro

GUEDES, I. B.;¹ SOUZA, G. O.;¹ CASTRO, J. F. P.;¹ SOUZA-FILHO, A. F.;¹ CORTEZ, A.;² HEINEMANN, M. B.¹

¹Laboratory of Bacterial Zoonoses, Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health (VPS), School of Veterinary Medicine and Zootechny (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo/SP, Brazil.

²Veterinary Medicine Course, Universidade Santo Amaro, São Paulo/SP, Brazil.

E-mail: marcosbryan@usp.br

Introduction: Leptospirosis in production animals is characterized by reproductive interference such as infertility, birth of weak calves, stillbirths and abortions, the latter due to infection of the fetus by *Leptospira*, leading to the death of the animal and its elimination, being possible the bacteria detection in samples of these abortions.

Objective: Detect anti-*Leptospira* antibodies in cavity liquids and bacterial DNA in the organs and gastric contents of non-aborted bovine fetuses collected from a slaughterhouse. **Methods:** In a slaughterhouse in the Baixo Tocantins, Pará region, during the slaughter line of bovine females, 58 fetuses at different stages of gestation were collected at random. These animals were necropsied, and during this procedure when observed macroscopic pathological alterations in the organs, was record. The fetal cavity fluids were submitted to the microscopic agglutination test (MAT, cut-off ≥ 5) to investigate anti-*Leptospira* antibodies; a pool of organs (lung, liver, spleen and kidney) and the gastric contents of each fetus were subjected to polymerase chain reaction (PCR) to detect bacterial DNA. **Results:** None of the 58 fetuses were reactive in serology and neither the DNA of *Leptospira* spp. was detected in the organ and gastric contents of the animals, but in 17.24% of the animals (10/58) macroscopic lesions were found: yellowish liver (80%) and edema and hemorrhagic organs (20%). **Conclusion:** No anti-*Leptospira* antibodies or bacterial DNA were detected in the fetuses, even though, in some animals, macroscopic pathological changes suggestive of leptospirosis were observed. **CEUA:** CEUA/FMVZ/USP No 5893100816. **Funding:** CNPq (MBH fellowship), Capes.

45. SEROPREVALENCE OF LEPTOSPIROSIS IN HORSES WITH REPRODUCTIVE DISORDERS

Soroprevalência de leptospirose em cavalos com transtornos reprodutivos

FARIAS, D. K.;² DICK, G.;¹ CUNHA, A. P.;¹ NASCIMENTO, J.;¹ COELHO, M. E.;¹ THOMÉ, J.;¹ RECK, C.;³ SAITO, M.E.;² MENIN, A.¹

¹Universidade Federal do Estado de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis/SC, Brazil.

²Universidade do Estado de Santa Catarina (Udesc), Florianópolis/SC, Brazil.

³Laboratory of Veterinary Diagnostic / Institute of Veterinary Research and Diagnostic (VERTÁ).

E-mail: alvaro.menin@ufsc.br

Introduction: Leptospirosis is an important zoonotic-disease of global importance and worldwide distribution that cause reproductive failure (abortions/stillbirths) and uveitis in horses. The horses are susceptible to different *Leptospira* spp. serovars, and the prevalence may vary according to region, seasonality, and risk

factors. **Objective:** To determine the prevalence of anti-*Leptospira* spp. antibodies in horses with clinical reproductive disorders, in the state of Santa Catarina, Brazil. The presence of possible risk factors was also observed. **Methods:** Serum samples of 1095 horses with clinical reproductive disorders were evaluated. This samples were collected in different regions of the State of Santa Catarina, Brazil and tested for anti-*Leptospira* spp. antibodies by microscopic agglutination test (MAT). The tests were performed at the Laboratory of Infectious Diseases (CCR/UFSC). **Results:** The prevalence of anti-*Leptospira* spp. antibodies found was 22.6% (248/1095). Higher prevalence was observed in Vale do Itajaí and Florianópolis, 29,3% (74/252) and South of Santa Catarina State, 26.9% (41/152), respectively. The most reagent serogroups were Icterohaemorrhagiae (24%), Grippityphosa (20.90%) and Canicola (15.70%). The main risk factors identified were relationship with wild animal and other species of domestic animals such as dogs, cattle and sheep. **Conclusion:** The high frequency of anti-*Leptospira* spp. antibodies in the horse herd from Santa Catarina state, Brazil, shows the need of specific measures to control and surveillance this important zoonotic pathogen. **CEUA:** 4299250816. **Funding:** Capes.

46. SOROPREVALÊNCIA DA LEPTOSPIROSE EM ANIMAIS E HUMANOS DOMICILIADOS NAS PROXIMIDADES DE ÁREA DE FRAGMENTAÇÃO FLORESTAL NO ESTADO DO PARÁ, BRASIL

Serum prevalence of leptospirosis in animals and humans domiciled in the surroundings of forest fragmentation area in the state of Pará, Brazil

MONTEIRO, T. R. M.;¹ HONORIO, B. E. T.;¹ GOMES, M. E. T.;¹ REIS, T. A.;¹ ELERES, H. N. F.;¹ BRITO, J. S.;² MESQUITA, G. S. S.;² ROSÁRIO, M. K. S.;² ROCHA, K. S.;² MORAES, C. C. G.^{1,2}

¹Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal/PA, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal na Amazônia (PPGSAAM), Universidade Federal do Pará (UFPA), Castanhal/PA, Brasil.

E-mail: ccmoraes@ufpa.br

Introdução: A leptospirose é uma antropozoonose infectocontagiosa causada por espiroquetas do

gênero *Leptospira*, a sua maior ocorrência é descrita em países tropicais e subtropicais. Investigações sobre a ocorrência da leptospirose em humanos e animais domésticos são importantes para avaliar os fatores biológicos, ambientais e socioeconômicos e culturais que podem favorecer a disseminação e manutenção do agente infeccioso no meio ambiente e em uma região.

Objetivo: Detectar anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães, gatos e humanos residentes nas proximidades de área de fragmentação florestal da vila de Ananim, município de Peixe Boi, localizado no nordeste paraense, Brasil. **Métodos:** Foram examinadas 70 amostras de soro de animais (66 cães e quatro gatos) e 70 amostras de humanos. Para a detecção de anticorpos, foi empregado o teste de soroprecipitação microscópica (SAM), utilizando antígenos vivos representativos de 31 sorovares pertencentes a 19 sorogrupos. O ponto de corte foi a diluição 1:100 da mistura soro/antígeno.

Resultados: Nenhum gato apresentou aglutinação, os cães registraram 7,1% (5/70) de animais reagentes, os sorogrupos Canicola 60% (3/5) e Pyrogenes 40% (2/5) foram os mais frequentes. Os humanos apresentaram 14,3% (10/70) de indivíduos reagentes, dois indivíduos apresentaram aglutininas para mais de um sorovar, impossibilitando o estabelecimento do sorovar predominante. Nos moradores, as reações mais frequentes foram: Sejroe 20% (2/10), seguido de Celledoni, Autumnalis, Djasiman, Ballum, Semarang e Andamana, com prevalência de 10% (1/10) cada um.

Conclusão: As espécies que residem em áreas próximas à fragmentação florestal apresentaram anticorpos anti-*Leptospira*, com predomínio de reações para o sorogrupo Canicola nos cães e Sejroe em humanos, demonstrando que as circulações dos sorogrupos encontrados foram distintas entre os grupos analisados. **CEUA:** Evandro Chagas nº 28/2012. Comitê de Ética Humano nº 1.109.898/2015.

47. SPATIAL DISTRIBUTION OF LEPTOSPIRA SEROVARS IN HORSE POPULATIONS: ANIMAL SEROVAR PREVALENCE AND ASSOCIATED RISK FACTORS

Distribuição espacial de sorovares de leptospira em populações de cavalos: prevalência de sorovar de animais e fatores de risco associados

MACHADO, G.;¹ DIEHL, G. N.;² SANTOS, L.;² CORBELLINI, L. G.;³ ROSA, V. B.;⁴ RODRIGUES, R. O.⁴

¹Department of Population Health and Pathobiology, College of Veterinary Medicine, Raleigh, North Carolina, USA.

²Secretary of Agriculture, Livestock and Irrigation of State of Rio Grande do Sul (SEAPI-RS), Porto Alegre/RS, Brazil.

³Laboratory of Veterinary Epidemiology, Faculty of Veterinary, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/RS, Brazil.

⁴Desidério Finamor Veterinary Research Institute, Diagnostic and Agricultural Research Department of the Department of Agriculture, Livestock and Irrigation (DDPA / SEAPI), Porto Alegre/RS, Brazil. E-mail: rogerio-rodrigues@seapi.rs.gov.br

Introduction: Leptospirosis is a zoonotic disease, global distributed throughout the horse populations. The control of leptospirosis is often difficult and requires host specific measures, therefore, methods for disease control vary among serovar and, host immunology status. **Objective:** The objective of this study was to estimate the serovar specific prevalence and geographic distribution in the horse populations in Rio Grande do Sul, Brazil, and to determine possible risk factors.

Methods: The global and serovar specific prevalence for both animal and farm level were calculated. Positive animals were tested reagent for at least one serovar with a minimum title of 1:100. The animal-level prevalences and, design effects were calculated. Information on the origin of the animal, age, husbandry, presence of weir within the limits of the farm and, environmental characteristics (ecoregion, soil type, temperature, rainfall, altitude) were considered for the risk factor analysis. **Results:** The global animal-level leptospirosis prevalence was 39.5% (CI_{95%}: 32.0-48.0%). The most prevalent serogroups were Sejroe 24.4% (CI_{95%}: 13.3-40.0%), Tarassovi 14.3% (CI_{95%}: 6.6-28.0%) and Hebdomadis 7.3% (CI_{95%}: 4,8- 11.0%). The spatial distribution of each serovar revealed preferences for specific regions, suggesting a positive association with climate condition, land use, presence of reservoirs and large number of susceptible hosts. Horse populations at the northwestern and northeastern regions, areas with higher precipitation, and, soil type “Neolithic litolithic” were exposed to increased odds for horse leptospirosis. **Conclusion:** The obtained results suggests that serovars are not distributed at random, maps generated may guide serovar specific vaccination and facilitate disease prevention, as well as highlight

the potential public health consequences associated with the prevalent serovars. **CEUA:** Not applicable. **Funding:** SEAPI/RS, FUNDESA/RS.

48. STRATEGIES OF THE CONTROL OF AN OUTBREAK OF LEPTOSPIRAL INFECTION IN DAIRY CATTLE IN NORTHEASTERN BRAZIL

Estratégias de controle de um surto de infecção leptospiral em bovinos leiteiros no nordeste do Brasil

PIMENTA, C. L. R. M.;¹ COSTA, D. F.;¹ SILVA, M. L. C. R.;¹ JÚNIOR, J. P. A.;² MALOSSI C. D.;² ULLMANN, L. S.;² NOGUEIRA, D. B.;¹ SANTOS, C. S. A. B.;¹ HIGINO, S. S. S.;¹ ALVES, C. J.;¹ AZEVEDO, S. S.¹

¹Academic Unit of Veterinary Medicine, Center of Rural Technology and Health, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande/PB, Brazil. ²Institute of Biotechnology, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Botucato/SP, Brazil. E-mail: sergio@vps.fmvz.usp.br

Introduction: Leptospirosis is a zoonotic disease of global importance, caused by pathogenic bacteria belonging to the genus *Leptospira*. The infection has a wide geographical distribution, with higher occurrence in tropical regions, and each serovar is usually associated with a maintenance host. **Objective:** The aim of the present study was to describe the strategies of the control of an outbreak of leptospiral infection in dairy cattle in Maranhão state, Northeastern Brazil. **Methods:** The outbreak occurred in a dairy farm in the municipality of Timon, state of Maranhão, Northeastern Brazil. The herd was composed of 106 pregnant cows, 90 heifers, eight bulls, and 76 calves, totaling 280 animals. In the period from January to July 2015, 18 (17%) out of 106 cows presented abortion, six (5.7%) stillbirth, and 12 (11.3%) repeated estrus, totaling 24 animals with reproductive problems. The diagnosis of leptospirosis was based on serology (microscopic agglutination test - MAT), bacteriological culture, and polymerase chain reaction (PCR). Antibiotic therapy, vaccination protocols, and changes in management practices were proposed as control measures. **Results:** Of all animals on the farm ($n=280$), 136 (48.6%) were seropositive for at least one serovar of *Leptospira* sp. No pure leptospiral culture was obtained. Eight of the animals with reproductive problems yielded positive PCR results (vaginal fluid of seven animals and urine and vaginal fluid of one animal). Genetic sequencing of a vaginal fluid/urine PCR-positive sample

revealed *Leptospira borgpetersenii*. One year after the adoption of control measures, no reproductive problems were observed. **Conclusion:** Based on the high frequency of seropositivity and carriers (PCR), leptospirosis can be inferred to be the cause of the reproductive problems, although no other collection of material for bacterial isolation, serology, or PCR was performed in the year after the adoption of control measures. **CEUA:** UFCG/20-2012. **Funding:** CNPq/Capes.

49. SUSCEPTIBILITY AMONG BREEDS OF SHEEP EXPERIMENTALLY INFECTED WITH LEPTOSPIRA POMONA SEROGROUP

Suscetibilidade entre raças de ovinos experimentalmente infectados com o sorogrupo de *Leptospira Pomona*

COSTA, D. F.;¹ SILVA, M. L. C. R.;¹ MARTINS, G.;² DANTAS, A. F. M.;¹ MELO, M. A.;¹ AZEVEDO, S. S.;¹ LILENBAUM, W.;² ALVES, C. J.¹

¹Transmissible Diseases Laboratory, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos/PB, Brazil. ²Laboratory of Veterinary Bacteriology, Department of Microbiology and Parasitology, Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ, Brazil. E-mail: clebertja@uol.com.br

Introduction: Leptospirosis is a disease that negatively affects the productive and reproductive indices of ruminants. Sheep are considered highly resistant to infection, although susceptibility may vary among breeds. **Objective:** The aim of the present study was to analyze the susceptibility between sheep breeds to the experimental infection by leptospire of the Pomona serogroup. **Methods:** 1×10^7 bacteria (Pomona serogroup, Kennewicki serovar) strain were inoculated via the conjunctival route in 12 sheep divided into two groups, one comprising Santa Inês ewes and the other comprising crossbred sheep. In each group, five ewes were challenged, and one was used as a control. All sheep were monitored for 60 days. Blood samples were collected for serological diagnosis and urine and vaginal fluid samples for molecular and microbiological analyses. As ewes were necropsied, and tissues were collected for microbiological, molecular, and histopathological investigation. **Results:** The antibody titers in group A (median 200, geometric mean 317.48) were significantly different from the group B (median 800, geometric mean 918.96) at D60 post-infection ($P = 0,032$). The Santa Inês sheep presented the higher level and

duration of the titles, and their reactions were detected earlier than those observed in the crossbred sheep. According to the molecular diagnosis, the Santa Inês sheep presented more reactions (urine and vaginal fluid) compared to crossbred, but there was no predominance in the detection of leptospiral DNA when comparing urine and vaginal fluid results, nor even between the number of positive kidney and uterus. The Santa Inês sheep presented a higher number of positive bacteriological cultures. **Conclusion:** Pure-bred sheep may be more susceptible than crossbred ones to *Leptospira* sp. infection. The obtained results emphasized the importance of the genital tract as a site of extraurinary infection and indicate the possibility of venereal transmission in sheeps. **CEUA:** 020/2016. **Funding:** CNPq, Capes.

50. SUSCEPTIBLE OF LEPTOSPIRA INTERROGANS TO THE SNAKE VENOMS

Suscetível a *Leptospira interrogans* para os venenos de cobra

CIUFFA, A. Z.;¹ GOMES, D. O.;¹ PIRES, B. C.;² RESENDE, L. M.;¹ VELOSO, L. I.;³ RODRIGUES, R. S.;³ RODRIGUES, V. M.;³ LIMA A. M. C.¹

¹Laboratory of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brazil.

²Laboratory of Veterinary Bacteriology, Department of Microbiology and Parasitology, Fluminense Federal University (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

³Laboratory of Biochemistry and Animal Toxins, Institute of Biotechnology, Federal University of Uberlândia (UFU), Uberlândia/MG, Brazil.

E-mail: andreiazago@yahoo.com.br

Introduction: Nowadays bacterial resistance to antibiotics are becoming an important cause of failures in infectious diseases therapy. Snake venoms have antimicrobial activity and are being used as drugs. Their activity on *Leptospira* is still unknown. **Objective:** To report on the susceptible profile of *L. interrogans* to venoms of *Bothrops pauloensis* and *Crotalus durissus terrificus*. **Methods:** 200µl of culture of *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae was subjected to serial decimal dilutions with 200µl of *Bothrops* venom at 3,0mg/mL. Being the first well of the plate, the one of highest concentration of the venom, and the fifth, the lowest concentration (3×10^0 and 3×10^{-4} respectively). The same procedure was performed for *Crotalus* venom.

Samples were observed under microscope for analysis of the movement and viability of *Leptospira*, before and after the addition of the venom, with 0, 24, 48 and 72 hours of incubation. After 72 hours, to confirm the inhibition of bacterial growth, all dilutions were inoculated in EMJH, incubated for seven days and then observed under a microscope. **Results:** *Leptospira* was resistant to *Bothrops* venom, as it continued with unchanged motility, even after 72 hours of venom addition, and the culture of the five dilutions in EMJH after seven days of incubation demonstrated the presence of viable *Leptospira* in all tubes. The efficiency of *Crotalus* venom was dose-dependent. *Leptospira* ceased the movement after 48 hours of the addition of the venom, in the concentration 3×10^0 mg/mL and after 72 hours in the other dilutions. When these dilutions were cultivated in EMJH for seven days, was observed the presence of viable *Leptospira* in the cultures corresponding to the dilutions 3×10^{-2} , 3×10^{-3} , 3×10^{-4} mg/mL. Bacteria were susceptible to *Crotalus* venom at 3×10^0 and 3×10^{-1} mg/ml concentrations. **Conclusion:** *Leptospira* is susceptible to *Crotalus* venom at the highest concentrations. **CEUA:** Not applicable. **Funding:** Capes, Fapemig.

51. USAGE OF A COMBINATION OF T80/40LH MEDIUM+STAFF COCKTAIL FOR CULTURING LEPTOSPIRAL STRAINS FROM SEJROE SEROGROUP

Uso de combinação de coquetel de meio t80/40lh + staff para a cultura de estirpes leptospirais do sorogrupo Sejroe

BRASIL, T.;¹ LOUREIRO, A. P.;¹ CORREIA, L.;¹ CABRAL, B.;¹ PEREIRA, P. V.;¹ LILENBAUM W.¹

¹Laboratory of Veterinary Bacteriology, Microbiology and Parasitology Department, Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói/RJ, Brazil.

E-mail: wlilenbaum@id.uff.br

Introduction: Bovine leptospirosis is an infectious-contagious disease of worldwide distribution, endemic in tropical countries. Correlation between reproductive problems and *Leptospira* infection has been demonstrated, especially for strains of serogroup Sejroe. However, culturing those strains from bovine clinical samples is still challenging, since it is laborious and demands expertise. **Objective:** The present study aimed to analyze the growth dynamics of leptospiral strains from serogroup Sejroe in different culture media in order to suggest better approaches for primary culturing

from bovine clinical samples. **Methods:** *Leptospira* strains belonging to Sejroe serogroup were studied: *L. interrogans* serovar (sv) Hardjo; *L. borgpetersenii* sv Hardjo; *L. santarosai* sv Guaricura (BOVG); and *L. santarosai* sv Guaricura (U140). Two culture media were used: EMJH (using enrichment compounds separately - Rabbit Serum; Bovine Albumin and; Sodium Pyruvate) and T80/40LH. In addition, three cocktails of selective agents were chosen: STAFF, A5 and CHID. Combinations between medium, enrichment additives and antimicrobial cocktails resulted in 20 different formulae that were tested individually. Evaluation was done by manual counting in Neubauer chamber every 48 hours for 16 days. **Results:** The most notable outcome was the poor performance of *L. borgpetersenii* in EMJH, even when enrichment additives were used. The inability of this medium on supporting this strain growth possibly represents a bias on culturing those strains from clinical bovine samples. In the present study, T80/40LH was the most efficient medium for culturing *L. borgpetersenii*. **Conclusion:** Although there are no studies employing T80/40LH added to STAFF cocktail, the outcomes of the present study suggested that this combination is a good choice for obtaining a higher number of *L. borgpetersenii* strains from bovine origin. **CEUA:** Not applicable. **Funding:** This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes) – Finance Code 001 and Faperj.

52. WILD BOARS (*SUS SCROFA*) ARE RESERVOIRS OF *LEPTOSPIRA INTERROGANS* IN URUGUAY

Javalis (*Sus scrofa*) são reservatórios de *Leptospira interrogans* no Uruguai

HAMOND, C.;^{1,2} NIEVES, C.;¹ CABRERA, A.;¹ SILVEIRA, C. S.;¹ PERDOMO, Y.;¹ CASTRO, G.;³ GIANNITTI, F.;² RIET-CORREA, F.;² BUSCHIAZZO, A.;¹ ZARANTONELLI, L.^{1,2}

¹Institut Pasteur de Montevideo.

²Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria

³Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
E-mail: lzarantonelli@pasteur.edu.uy

Introduction: Zoonotic pathogens from wildlife represent the most significant source of emerging infectious diseases. The population of wild boars, an invasive and destructive species, has increased substantially in Uruguay over the last decades, and recreational hunting of these animals is allowed since 1996. Wild boars are susceptible to leptospirosis; however it is not known whether they act as *Leptospira* spp. reservoirs in Uruguay. **Objective:** The aim of this study was to assess the infection of wild boars by pathogenic species of *Leptospira* in Uruguay. **Methods:** Thirty-four wild boar carcasses obtained at a recreational hunting festival, were the source of kidney samples, which were processed by qPCR for the *lipL32* gene of pathogenic *Leptospira* spp., *rrs* sequence genotyping and bacterial culture. *Leptospira* isolates were typed by molecular and serologic approaches. Six qPCR-positive and three qPCR-negative kidneys were fixed in formalin and processed for histopathology and immunohistochemistry (IHC) for the detection of *Leptospira* antigen. **Results:** Six of the 34 animals (17.6%) were positive by *lipL32* qPCR. All six animals were infected by the species *L. interrogans*, as determined by *rrs* sequence genotyping. *Leptospira interrogans* serogroup Pomona, serovar Kennewicki was isolated from one sample. Histopathologic examination revealed cortical interstitial or tubulointerstitial nephritis in 7/9 animals. Abundant intralésional *Leptospira* antigen was detected by IHC in 2/7 animals with renal lesions, that had also tested positive by qPCR. **Conclusion:** Wild boars in Uruguay are reservoirs of pathogenic *Leptospira interrogans* serovar Kennewicki, which has also been isolated from cattle, sheep and human cases in this country. Wild boars are thus implicated in the sylvatic epidemiologic cycle of leptospirosis and could represent a risk for animal and public health. **CEUA:** Not applicable. **Funding:** ANII, INIA and Institut Pasteur of Montevideo.

Normas para publicação

1. Formato

As colaborações enviadas à **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia** na forma de artigos, pesquisas, nota prévia, comentários, atualizações bibliográficas, relatos de casos, notícias e informações de interesse para a classe médica-veterinária e de zootécnicos devem ser elaboradas utilizando softwares padrão IBM/PC (textos em Word). Arquivos que excederem a 1 MB deverão ser enviados zipados (Win Zip ou WinRAR).

2. Categorias

- **Revisão:** os Artigos de Revisão têm estrutura livre, de acordo com os objetivos do(s) autor(es) e da Revista e deve apresentar avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto. De preferência, a estrutura deve contemplar resumo, introdução e objetivos, as fontes consultadas, os critérios adotados, a síntese dos dados, conclusões e comentários.
- **Técnico:** contribuição destinada a divulgar o estado da arte e da ciência em assuntos técnico-científicos que envolvam a Medicina Veterinária e Zootecnia. Trata-se de abordagem contemplando informações com o objetivo da educação continuada, uma vez que contribuições científicas com resultados de pesquisas originais devem ser publicadas em revistas especializadas e com corpo e perfil editorial específico. A estrutura é livre, devendo conter o resumo, introdução, objetivos e referências.
- **Relato de Caso:** serão aceitos para publicação os relatos que atenderem aos objetivos da educação continuada nas áreas da Medicina Veterinária e da Zootecnia. A estrutura deverá contemplar introdução, descrição do caso, discussão, conclusões e referências.
- **Ensaio:** estudos teóricos de determinados temas apresentados sob enfoque próprio do(s) autor(es).

3. O artigo

- Os artigos devem conter título, resumo e palavras-chave no idioma original do texto do artigo e no idioma inglês, quando este não for o idioma original.
- A pesquisa que fizer referência a estudos feitos com animais, deve, obrigatoriamente, incluir o número do processo e/ou autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), exceto nos casos de procedimentos clínicos e zootécnicos.
- Os autores deverão enviar o(s) Termo(s) de Consentimento para artigos que relatem informações colhidas por meio da aplicação de questionários.

4. Fonte

Com a finalidade de tornar mais ágil o processo de diagramação da Revista, solicitamos aos colaboradores que digitem seus trabalhos em caixa alta e baixa (letras maiúsculas e minúsculas), evitando títulos e/ou intertítulos totalmente em letras maiúsculas. O tipo da fonte pode ser Times New Roman, ou similar, no tamanho 12.

5. Laudas

Os gráficos, figuras e ilustrações devem fazer parte do corpo do texto e o tamanho total do trabalho deve ficar entre seis e nove laudas (aproximadamente nove páginas em fonte Times New Roman 12, com espaço duplo e margens 2,5 cm). No caso dos Artigos de Revisão, em casos excepcionais, o tamanho total do trabalho poderá ser superior a nove páginas.

6. Imagens

Para a garantia da qualidade da impressão são indispensáveis o envio, separado, das fotografias e originais das ilustrações a traço em alta definição (no mínimo 90 dpi), em formato jpeg. Imagens digitalizadas deverão ser enviadas mantendo a resolução dos arquivos em, no mínimo, 300 pontos por polegada (300 dpi). Todas as imagens deverão vir acompanhadas de legendas e fontes.

7. Informações do(s) autor(es)

- Os artigos devem conter a especificação completa das instâncias a qual estão afiliados cada um dos autores. Cada instância é identificada por nomes de até três níveis hierárquicos institucionais ou programáticos e pela cidade, estado e país em que está localizada.
- Quando um autor é afiliado a mais de uma instância, cada afiliação deve ser identificada separadamente. Quando dois ou mais autores estão afiliados à mesma instância, a identificação é feita uma única vez.
- Recomenda-se que as unidades hierárquicas sejam apresentadas em ordem decrescente, por exemplo: universidade, faculdade e departamento. Os nomes das instituições e programas deverão ser apresentados, preferencialmente, por extenso e na língua original da instituição ou na versão em inglês, quando a escrita não é latina. Não incluir titulações ou mini currículos.
- O primeiro autor deverá fornecer o seu endereço completo (rua, nº, bairro, CEP, cidade, estado, país, telefone e e-mail), sendo que este último será o canal oficial para correspondência entre autores e leitores.

8. Referências

As referências bibliográficas devem obedecer às normas técnicas da ABNT-NBR-6023 e as citações conforme NBR 10520, sistema autor-data. Manter os títulos das referências na língua original.

9. E-mail para envio

Os trabalhos deverão ser encaminhados exclusivamente on-line para: comunicacao@crmvsp.gov.br.

10. Processo de admissão e andamento

O processo inicia-se com a submissão voluntária de pedido de avaliação por parte do(s) autor(es), por meio do envio do arquivo em formato doc. e das imagens referentes por e-mail. O autor receberá uma mensagem de confirmação de recebimento no prazo de 10 dias úteis. Caso isso não ocorra, deve-se entrar em contato com a Assessoria de Comunicação do CRMV-SP pelo telefone (11) 5908-4772.

O material enviado seguirá as seguintes etapas de avaliação: pré-avaliação do trabalho pelo editor do periódico, envio para o Corpo Editorial da Revista (no mínimo três) e devolutiva do artigo aos autores com as considerações dos revisores (caso haja). Se aprovado, será enviado ao primeiro autor a declaração de aceite, via e-mail.

Os artigos serão publicados conforme ordem cronológica de chegada à Redação. Os autores serão comunicados sobre eventuais sugestões e recomendações oferecidas pelos revisores. O processo de revisão poderá ocorrer em até três meses. Se os autores precisarem apresentar uma nova versão do artigo, conforme as orientações dos revisores, o processo de admissão e revisão inicia-se novamente.

11. Direitos

As matérias enviadas para publicação não serão retribuídas financeiramente aos autores, os quais continuarão de posse dos direitos autorais referentes às mesmas. Parte ou resumo das pesquisas publicadas nesta Revista, enviadas a outros periódicos, deverão assinalar obrigatoriamente a fonte original.

Quaisquer dúvidas deverão ser imediatamente comunicadas à redação pelo e-mail: comunicacao@crmvsp.gov.br.



Dúvidas

comunicacao@crmvsp.gov.br

CONGRESSO
INTERNACIONAL

Pet

-SOUTH AMERICA-

21-23 AGOSTO

AGORA: DE 4ª A 6ª FEIRA

2019 10h às 20h
SÃO PAULO EXPO
BRASIL - SP

O Congresso terá todas as apresentações realizadas simultaneamente em um auditório 360°, dando liberdade para que o participante escolha a palestra de sua preferência.

Faça a sua
INSCRIÇÃO!

Utilize o código **CRMV2019**
e ganhe 20% de desconto!

CONHEÇA OS PALESTRANTES INTERNACIONAIS:



BILL SAXON
IMUNOLOGIA



DR. CESAR MAYORGA
NEFROLOGIA



DONALD THRALL
IMAGEM



HOWARD SEIM
PLENÁRIA



DR. NEPTALI RODRÍGUEZ
PLENÁRIA



ROSS PALMER
FELINOS



A PET VET criou o Lab, um espaço exclusivo para você aprender na prática o que há de mais avançado e moderno no cuidado com os animais. Um laboratório completo, onde vão acontecer aulas de diversas especialidades. Tudo em conformidade com o CRMV - SP.

Macrotemas LAB:



FELINOS



ENDOSCOPIA



NUTRIÇÃO



ESIOLOGIA



INTENSIVISMO



TÉCNICO

Patrocínio:



IDEXX

hvm



Parceiro de conteúdo:



Parceria de Mídia:



Eventos paralelos:



Organização & Promoção:

NÜRNBERG MESSE