

os VNTR 4, 7, 9, 10, 19, 23, 31, Lb4 e Lb5, que discriminam as espécies *L. interrogans* e *L. borgpetersenii*. A estirpe isolada foi identificada como *Leptospira borgpetersenii*. Não foi possível identificar o sorovar do microrganismo isolado. Primatas frequentemente interagem com humanos e animais domésticos, sendo importante o ensino de ações de educação ambiental a moradores de áreas rurais, com o intuito de, além da preservação ambiental, minimizar riscos de transmissão do agente. **Palavras-chave:** *Leptospira*. MLVA. Primatas.

**ISOLAMENTO DE LEPTOSPIRA INTERROGANS DE ESPÉCIES SELVAGENS DE VIDA LIVRE EM REGIÕES SEMIÁRIDAS DO NORDESTE BRASILEIRO**

SILVA, F. J.1; SILVA, T. R.1; LOFFLER, S. G.4; SANTOS, C. E. P.3; BRIHUEGA, B.4; VASCONCELLOS, S. A.2; MATHIAS, L. A.1

- 1 Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil.
- 2 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.
- 3 Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil.
- 4 Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Castelar, Argentina.

O objetivo do presente trabalho é descrever o isolamento de *Leptospira interrogans* de espécies selvagens de vida livre em regiões semiáridas do Nordeste brasileiro. Houve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais, protocolo 027958/10. Entre fevereiro e março de 2012, em pequenas propriedades rurais de Sobral, CE, e Sobradinho, BA, foram colhidas amostras de urina de um *Cavea aperea*, dois *Euphractus sexcinctus* e um *Cerdocoyon thous*. A pesquisa de *leptospiras* foi efetuada por cultivos de amostras de urina semeadas nos meios de Fletcher e de Ellinghausen - McCullough - Johnson - Harris (EMJH). Os cultivos apresentando crescimento de *leptospiras* foram encaminhados ao Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Buenos Aires, Argentina, e as estirpes de *leptospiras* isoladas foram genotipadas com o emprego da técnica de Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA). A tipificação empregou os VNTR 4, 7, 9, 10, 19, 23, 31, Lb4 e Lb5, que discriminam estirpes de *L. interrogans* e *L. borgpetersenii*. As quatro amostras isoladas foram identificadas como *Leptospira interrogans*, sendo duas identificadas como *Leptospira interrogans* sorovariedade Pomona. Não foi possível identificação dos sorovares das outras duas estirpes isoladas. O sorovar Pomona acarreta prejuízos econômicos na produção industrial de suínos e o registro de reservatórios selvagens desse sorovar serve para conhecimento da epidemiologia da leptospirose suína. O consumo da carne de espécies de tatu é cultural em áreas rurais brasileiras, sendo importante o ensino de ações de educação ambiental a seus moradores, visando, além da preservação ambiental, a minimizar riscos de transmissão do agente. **Palavras-chave:** Caatinga. *Leptospira*. MLVA

**ISOLAMENTO DE LEPTOSPIRA INTERROGANS SOROGRUPO ICTEROHAEMORRHAGIAE SOROVAR COPENHAGENI IDÊNTICA À ESTIRPE FIOCROZ L1-130 DE UMA FÊMEA FILHOTE DA ESPÉCIE LEOPARDUS TIGRINUS DE VIDA LIVRE NO MUNICÍPIO DE ALEGRETE, RS**

SILVA, F. J.1; LOFFLER, S. G.4; SANTOS, C. E. P.3; BRIHUEGA, B.4; VASCONCELLOS, S. A.2; MATHIAS, L. A.1

- 1 Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil.
- 2 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.
- 3 Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil.
- 4 Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Castelar, Argentina.

A classe *Mammalia* é a principal fonte de infecção de *leptospiras*. Entretanto, estudos de isolamento da bactéria em espécimes da família *Felidae* são bastante desafiadores devido à rara obtenção de um indivíduo infectado, principalmente tratando-se de um felino de vida livre. O objetivo do trabalho é relatar um caso de isolamento de *Leptospira interrogans* de um indivíduo da espécie *Leopardus tigrinus*. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais, protocolo 027958/10. A coleta de urina foi realizada após a micção espontânea de uma fêmea filhote capturada em uma pequena propriedade rural do município de Alegrete, RS, em dezembro de 2012. A pesquisa de *Leptospira* spp. na urina foi efetuada por cultivos nos meios de Fletcher e de Ellinghausen - McCullough - Johnson - Harris (EMJH). Após observação do crescimento de espiroquetas em microscopia de campo escuro, a estirpe isolada foi encaminhada ao Laboratório de Leptospirose do Instituto de Patobiologia, Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Buenos Aires, Argentina, onde foi genotipada com o emprego da técnica de Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA). O procedimento de tipificação empregou os VNTR 4, 7, 9, 10, 19, 23, 31, Lb4 e Lb5,

que discriminam estirpes de *L. interrogans* e *L. borgpetersenii*. Após a genotipagem, a estirpe isolada foi identificada como *Leptospira interrogans* sorogrupo *Icterohaemorrhagiae*, sorovar *Copenhageni*, idêntica à estirpe *Fiocruz L1-130*. O isolamento de uma estirpe patogênica para animais domésticos e humanos evidencia a necessidade da prática de bons hábitos sanitários nas propriedades rurais de agricultura familiar. **Palavras-chave:** *Felidae*. *Leptospira*. MLVA.

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE LEPTOSPIRA INTERROGANS SOROGRUPO ICTEROHAEMORRHAGIAE DE CÃO COM LEPTOSPIROSE CLÍNICA**

GRASSMANN, A. A.1; CUNHA, C. E. P.1; KREMER, F. S.1; ESLABÃO, M. R.1; FRANÇA, R. C.1; DELLAGOSTIN, O. A.1; MCBRIDE, A. J. A.1

- 1 Unidade de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

A leptospirose é uma importante zoonose causada por espécies patogênicas do gênero *Leptospira*. Cães domésticos ocupam uma posição central na transmissão de *leptospiras* a humanos devido à proximidade entre as espécies. A profilaxia da leptospirose canina é baseada em vacina, que deveria incluir sorovares prevalentes na região, visando a ajudar a evitar não apenas a leptospirose canina, mas auxiliar a prevenção da transmissão da bactéria a humanos. Neste trabalho nós apresentamos o isolamento e caracterização molecular de *Leptospira interrogans* sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* de um cão apresentando leptospirose clínica. Esse cão, com dez meses de idade, sexo feminino foi atendido em uma clínica veterinária em Pelotas-RS, apresentando sinais característicos de leptospirose. Sangue foi coletado do animal, antes da antibioticoterapia, e inoculado em EMJH. Após 30 dias foi confirmada a presença de *leptospiras* na cultura. O isolado apresentou genes de virulência, conforme evidenciado por PCR. O genoma foi sequenciado, permitindo a análise de genes do esquema de MLST descrito por Boonsilp *et al.* (2013). O isolado apresentou o ST 17, que inclui *L. interrogans* sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* sorovar *Icterohaemorrhagiae* e sorovar *Copenhageni*. Após três passagens *in vitro*, a virulência foi avaliada por inoculação de 10<sup>8</sup> *leptospiras* por animal, num total de três hamsters adultos. Todos os animais foram eutanasiados quando atingiram os *end points* para mortalidade por leptospirose, seis dias após a inoculação. Concluindo, nós isolamos uma cepa virulenta (nomeada UFPEL-RCA) de *L. interrogans* sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* de um cão com leptospirose clínica. **Palavras-chave:** Isolamento. Leptospirose. Cães. MLST. *Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae*.

**ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE LEPTOSPIRAS PATOGENICAS EM CÃES COM SUSPEITA CLÍNICA DE LEPTOSPIROSE**

TOZZI, B. F.1; MIOTTO, B. A.1; PENTEADO, M. S.1; HAGIWARA, M. K.1

- 1 Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

A leptospirose é uma zoonose bacteriana decorrente da infecção por espécies patogênicas do gênero *Leptospira*. Cães infectados podem apresentar alterações clínico-laboratoriais inespecíficas, sendo necessária a realização de diferentes testes para o diagnóstico da doença. O objetivo deste estudo foi relacionar os achados clínico-laboratoriais com resultados de PCR, SAM e isolamento para realizar o diagnóstico da leptospirose em cães com suspeita clínica da doença. Foram coletadas amostras de sangue, soro e urina de 24 cães atendidos no Serviço de Clínica Médica do Hospital Veterinário da FMVZ, São Paulo, entre fevereiro de 2013 e julho de 2015, apresentando quadro de azotemia associado à ocorrência de sinais clínicos compatíveis com leptospirose aguda. As amostras de sangue e urina foram destinadas à detecção de material genético de *leptospiras* por meio da PCR e ao cultivo bacteriano. Amostras de soro foram destinadas à avaliação dos títulos de anticorpos pela soroaaglutinação microscópica. Dentre os 24 cães incluídos no estudo, 13 apresentaram amplificação de material genético de *leptospiras* em amostras de urina e/ou sangue. Dez animais apresentaram títulos variando de 100 a 3.200. Seis cães foram reavaliados em mais de uma ocasião, não sendo observada soroc conversão em nenhum dos casos. Foi possível obter isolamento do patógeno em amostras de urina de dois animais. O animal A foi atendido em uma única ocasião, na qual apresentou

títulos de 400 para Icterohaemorrhagiae e Copenhageni, associados à eliminação renal do patógeno. O animal B foi atendido em três ocasiões, num período de oito dias, no qual foi possível observar eliminação urinária do agente, sem que fossem observados títulos séricos. Foi realizada a tipificação molecular dos isolados pela técnica de MLST, resultando nos sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni em ambos os casos.

**Palavras-chave:** Cães. Isolamento. Leptospirose.

### LEPTOSPIROSE EM OVINOS MISTIÇOS NATIVOS ABATIDOS EM UMA REGIÃO SEMIÁRIDA DO BRASIL

COSTA, D. F.1; SILVA, A. F.1; BRASIL, A. W. L.1; LOUREIRO, A. P.2; SANTOS, F. A.1; AZEVEDO, S. S.1; LILENBAUM, W.2; ALVES, C. J.1

1 Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil.

2 Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

A criação de ovinos é uma atividade econômica de grande valor para a indústria pecuária brasileira. As doenças infecciosas podem comprometer significativamente a sua produtividade. O objetivo deste estudo foi detectar *Leptospira* spp. em ovinos sem raça definida a partir de uma região semiárida do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil. Quarenta e nove amostras de sangue e tecido renal, bem como amostras de urina de 25 (49 ovelhas) foram coletadas na linha de abate. A presença de anticorpos *antiLeptospira* spp. foi verificada com o teste de aglutinação microscópica (SAM). As amostras de urina e rins foram processadas por PCR e cultura bacteriológica. Sororreatividade foi observada em 8,2% (4/49) dos animais. Em relação à PCR, três amostras renais foram positivas, mas todas as amostras de urina foram negativas. Nenhuma cultura pura de *Leptospira* foi recuperada a partir das amostras testadas. O clima semiárido não pôde ser considerado como o único fator responsável pelo baixo sororreatividade e amostras positivas no PCR, uma vez que foram observadas condições adequadas para transmissibilidade da leptospirose durante o período de estudo. Assim, pode-se sugerir que a rusticidade das ovelhas sem raça definida colaborou para a baixa sororreatividade. **Palavras-chave:** Isolamento. Leptospirose. Matadouro. Ruminantes. PCR. Sorologia.

### METODOLOGIA DE ISOLAMENTO DE LEPTOSPIRA SPP. A PARTIR DE SEMEADURA DE URINA DE SUÍNOS COLHIDA NO AMBIENTE

SILVA, F. J.1; SANTOS, C. E. P.2; MATHIAS, L. A.1

1 Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil.

2 Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil.

O objetivo do trabalho é propor uma metodologia de isolamento de *Leptospira* spp. a partir de sementeira de urina de suínos colhida no ambiente. Certas espécies oferecem resistência ao procedimento de cistocentese e a colheita direta após a micção espontânea é uma solução viável. Entretanto, os suínos são animais cuja contenção física é trabalhosa e barulhenta. Assim, foram realizadas, em suínos de pequenas propriedades rurais, colheitas de urina de maneira indireta no solo lamacento dos recintos, com auxílio de seringa estéril e descartável. Após a obtenção da urina, foi acoplado um filtro 0,22 µm na ponta da seringa para sementeira nos meios de cultivo. A pesquisa de *leptospiras* foi efetuada por cultivos de amostras de urina semeadas nos meios de Fletcher e de Ellinghausen - McCullough - Johnson - Harris (EMJH). Os cultivos apresentando crescimento de *leptospiras* foram encaminhados ao Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária (INTA), Buenos Aires, Argentina, e estirpes de *leptospiras* isoladas foram genotipadas com emprego da técnica de *Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis* (MLVA). A tipificação empregou os VNTR 4, 7, 9, 10, 19, 23, 31, Lb4 e Lb5, que discriminam estirpes de *L. interrogans* e *L. borgpetersenii*. Algumas amostras suspeitas de conterem isolados apresentaram contaminação antes do envio ao INTA e as demais foram consideradas negativas. Mesmo não apresentando êxito, trata-se de uma técnica auxiliar para determinação da infecção por *Leptospira* spp. em rebanhos que merece ser aprimorada em estudos futuros, a fim de aumentar suas chances de sucesso na obtenção do isolado.

**Palavras-chave:** Isolamento. *Leptospira*. Solo.

### PERFIL DE AGLUTININAS ANTILEPTOSPIRA SPP. EM OVINOS VACINADOS COM BACTERINA CONTENDO SOROVARES PRESENTES NO REBANHO

MOREIRA, R. Q.1; SOUZA, M. A.1; RODRIGUES, T. C.1; LIMA, A. M. C.1

1 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

O objetivo deste trabalho foi aferir o perfil de aglutininas induzido pela soroconversão frente a uma bacterina polivalente composta por sorovares presentes em um rebanho ovino com relatos de perdas reprodutivas no município de Uberlândia, Minas Gerais. Tal bacterina foi produzida em laboratório particular, composta por sorovares detectados no rebanho, em uma primeira triagem. Os sorovares presentes na bacterina foram Australis, Bratislava, Djasiman, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae, Panama e Wolffi. Trinta e nove ovinos foram divididos em quatro grupos experimentais, sendo eles: ovinos positivos ao teste de soroaglutinação microscópica (SAM) e vacinados (05 animais), ovinos negativos ao SAM e vacinados (15 animais), ovinos positivos aos SAM e não vacinados (04 animais), e ovinos negativos ao SAM e não vacinados (15 animais). Os níveis de aglutininas foram avaliados utilizando o SAM, e os títulos de anticorpos foram alcançados com uma série de diluições na razão de dois (1:100 a 1:3200). A bacterina não induziu soroconversão contra todos os sorovares nela contidos, isso pode ser explicado pela diferença na concentração antigênica final de cada sorovar, ou devido à supressão da resposta antigênica causada por um sorovar em detrimento do outro, ou mesmo por variações no poder imunogênico da estirpe de *leptospira* utilizada na bacterina. Em média, os níveis de anticorpos induzidos apresentaram-se com baixa persistência (30 e 120 dias pós-primo vacinação) e em baixos títulos (<200). A resposta vacinal obtida mostrou-se heterogênea na proporção de animais reagentes e níveis de anticorpos aglutinantes frente aos sorovares incluídos na formulação das vacinas. **Palavras-chave:** Aborto. Imunogenicidade. Leptospirose.

### PESQUISA DE AGLUTININAS ANTILEPTOSPIRA SPP. EM TARTARUGAS DA AMAZÔNIA (PODOCNEMIS EXPANSA SCHWEIGGER, 1812) CRIADAS NO RECINTO DO JARDIM BOTÂNICO DA AMAZÔNIA BOSQUE RODRIGUES ALVES, BELÉM-PARÁ

MONTEIRO, L. H.1; MONTEIRO, T. R. M.1; MESQUITA, G. S. S.1; YOKOKURA, L. T.1; MIRANDA, L. M. S.1; BAIA, I. W. M.1; ROCHA, K. S.2

MESQUITA, E. Y. E.3; VIEIRA, A. L. A.4; MORAES, C. C. G. 1 2

1 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Castanhal, PA, Brasil.

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

3 Jardim Botânico da Amazônia "Bosque Rodrigues Alves e Programa de Pós-Graduação em Saúde e Produção Animal na Amazônia, Belém, PA, Brasil.

4 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural na Amazônia e Jardim Botânico da Amazônia "Bosque Rodrigues Alves", Brasil.

A região norte do Brasil possui uma grande diversidade na fauna de quelônios amazônicos, destacando-se a Tartaruga da Amazônia (*Podocnemis expansa* Schweigger, 1812) que é considerada o maior quelônio de água doce da América do Sul e representa papel principal na alimentação de populações ribeirinhas e indígenas dessa região, agregando, desta maneira, grande valor econômico como fonte de alimentação. O objetivo deste estudo foi pesquisar anticorpos *antiLeptospira* spp. em 30 exemplares da tartaruga da Amazônia pertencentes a um recinto no município de Belém, por meio da soroaglutinação microscópica (SAM) utilizando uma coleção de 31 sorovares de *Leptospira* spp. Desses animais 20 eram fêmeas, 8 machos e 2 sem determinação do sexo. Das 30 amostras analisadas encontrou-se 9 (30%) sororreagentes e 21 (70%) não reagentes. O sorovar mais frequente foi Hebdomadis com titulação mínimo de 100 e máximo 400. Das 20 fêmeas, 5 (25%) foram reagentes e 3 (37,5%) dos 8 machos foram reatores. Dos dois animais sem sexo identificado, 1 (50%) foi reagente. Conclui-se que alguns quelônios tiveram contato com o agente bacteriano causando infecção, mas sugere-se que mais estudos sejam realizados para sabermos qual a real situação sanitária desses animais em cativeiro.

**Palavras-chave:** Leptospirose. Pará. Quelônios.