

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E HEMATOLÓGICO DE ANIMAIS DE
TRAÇÃO SOROREATIVOS PARA *LEPTOSPIRA* SPP. NO MUNICÍPIO
DE PATOS - PB**

Sandy Menezes Honorato

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

**PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E HEMATOLÓGICO DE ANIMAIS DE
TRAÇÃO SOROREATIVOS PARA *LEPTOSPIRA* SPP. NO MUNICÍPIO
DE PATOS - PB**

Sandy Menezes Honorato
Graduanda

Prof. Dr. Antônio Fernando de Melo Vaz
Orientador

Patos-PB
Dezembro de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

H774p Honorato, Sandy Menezes

Perfil bioquímico sérico e hematológico de animais de tração sororeativos para *Leptospira* SPP. no município de Patos-PB / Sandy Menezes Honorato. – Patos, 2016.
28f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

"Orientação: Prof. Dr. Antônio Fernando de Melo Vaz"

Referências.

1. Asininos. 2. Leptospirose. 3. Renal. 4. Hepático. I. Título.

CDU 616:619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

Sandy Menezes Honorato

Graduanda

Monografia submetida à Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do grau de Médica Veterinária.

ENTREGUE EM/...../.....

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Dr. Prof. Dr. Antônio Fernando de Melo Vaz

Nota

Orientador

Prof. Dr. Severino Silvano dos Santos Higinio

Nota

Examinador I

Prof. Dra. Verônica Medeiros da Trindade Nobre

Nota

Examinador II

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA

Sandy Menezes Honorato

Graduanda

Monografia submetida à Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para a obtenção do grau em Médica Veterinária.

Aprovada em:/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Fernando de Melo Vaz
Orientador

Prof Dr. Severino Silvano dos Santo Higino
Examinador I

Prof. Dra. Verônica Medeiros da Trindade Nobre
Examinador II

DEDICATÓRIA

À papai Jacy Honorato e mainha Misheline
Menezes pelo incentivo e dedicação em todos os
momentos, por acreditarem no meu sonho.
Muito obrigado

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por ser o escritor da minha história, a São Miguel Arcanjo por me defender em todas as ocasiões com seu escudo trazendo-me a paz e a harmonia.

Aos meus pais, Jacy Honorato e Misheline Menezes por ser minha base, meu alicerce, meu exemplo de amor, compreensão e lealdade. Por sempre me apoiarem, me estimularem, me auxiliarem em todas as conquistas. Obrigada por me amarem, me educarem, por serem meus além de pais, meus amigos. Essa conquista também é de vocês.

A minha madrinha Fátima e meu padrinho Clodoaldo por sempre me colocarem em suas orações, serem fontes de sabedoria e exemplos a serem seguidos.

Aos meus irmãos Sarah Menezes e Johnny Honorato, obrigada pelo companheirismo, pelo afeto, pelo incentivo.

Ao meu orientador Professor Antônio Fernando Vaz, por ter me presenteado com seus conhecimentos científicos e de vida, por ser responsável por meu crescimento profissional. Obrigada por sempre estar presente, como professor, como amigo. Sinto-me orgulhosa por tê-lo como orientador, serei sempre grata ao senhor.

As Professoras Verônica Medeiros e Sônia Correa, por terem me apresentado a extensão universitária, onde obtive experiências únicas de vida. Sobretudo ao projeto carroceiro no qual ganhei experiências profissionais e amigos para vida, em especial Davidianne de Andrade. Professora Verônica, obrigada por ser uma mãe, por ter me acompanhado desde o início, sou eternamente grata a tudo que a senhora me proporcionou.

A toda equipe do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, que tive a honra, a alegria de fazer parte durante toda minha graduação. Em especial aos residentes Eduardo Benvenuti, Tales Monte e Laura Honório pessoas que convive durante toda a rotina do laboratório. Obrigada pelos conselhos, por me apresentarem a patologia clínica veterinária. Aos técnicos laboratoriais Dona Sol, Diogo e Francisco, obrigada por compartilharem a alegria, o entusiasmo pelo trabalho de vocês.

Aos meu amigos, a família do Chaves- Emílio Junior, Taynara Sombra, Peterson Rene, Davi Emanuel, Agrício Moreira, ao agregado Tallisson Meneses, a minha veterana Luiza França obrigada pelo companheirismo, por todos os momentos juntos, minha graduação não teria sido cheio de alegria e momentos especiais sem vocês, sou eternamente grata a cada um.

Aos que passaram por minha vida deixando alguma lição de vida ou intelectual, muito obrigada!

SUMÁRIO

	Pág.
1INTRODUÇÃO	11
2REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1Agente Etiológico.....	12
2.2Epidemiologia.....	13
2.3Patogenia	13
2.4Sinais Clínicos e Achados Patológicos	14
2.5Aspectos Laboratoriais	15
2.5.1Teste Sorológico	15
2.5.2Hematologia.....	15
2.5.3Bioquímica Sérica.....	16
3MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1Coletas	18
3.2Armazenamento.....	18
3.3 Processamento	18
4RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5CONCLUSÃO	22
REFERÊNCIAS	23

LISTA DE TABELA

Pág.

Tabela 1- Frequência de Sorovares de <i>Leptospira</i> spp. e respectivos títulos emasininos do município de Patos – PB no período de dezembro de 2015 à junho de 2016.	20
Tabela 2- Concentrações dos parâmetros bioquímicos de 10 asininos sororeativos para <i>Leptospira</i> spp. por meio da soro aglutinação.	21

RESUMO

HONORATO, SANDY MENEZES. PERFIL BIOQUÍMICO SÉRICO E HEMATOLÓGICO DE ANIMAIS DE TRACÇÃO SOROATIVOS PARA LEPTOSPIRA SPP. NO MUNICÍPIO DE PATOS - PB. 2016. 28f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2016.

Com a escassez de pesquisas sobre a sororeatividade da *Leptospira* spp em asininos de tração no município de Patos- PB e suas possíveis alterações laboratoriais causadas, objetivou-se determinar a ocorrência de sororeatividade de leptospirose e correlacionar as alterações hematológicas e bioquímicas. Para o diagnóstico da leptospirose foi utilizado o teste de Soroaglutinação Microscópica (SAM), utilizando uma bateria com 24 sorovares como antígenos. Os animais com titulação 1:100 foram classificados como positivos e submetidos a hemograma e dosagem do perfil bioquímico hepático e renal. Dos trinta e seis animais analisados; dez (27,7%) apresentavam anticorpos para *Leptospira* spp. (Tabela 1). O sorovar mais frequente foi pomona 4 (11,1%), também houveram reações positiva para castellanis 3 (8,3%), grippotyphosa 1 (2,77%), bratislava 1 (2,77%), tarassovi 1 (2,77%), icterohaemorrhagiae 1 (2,77%). Não foram encontradas alterações no perfil hematológico e as análises da bioquímica renais estavam dentro do intervalo de referência. Na avaliação da função hepática apenas a gama-glutamyltransferase apresentou sua atividade aumentada o que pode não ser em decorrência de lesão hepática, mas sim em decorrência de fatores como manejo alimentar dos animais. Pesquisas adicionais com maior número de animais da região podem auxiliar na determinação do perfil bioquímico de animais saudáveis como também portadores crônicos da *Leptospira* spp.

Palavras-chave: Asininos. Leptospirose. Renal. Hepático

ABSTRACT

HONORATO, SANDY MENEZES. SERUM AND HEMATOLOGICAL BIOCHEMICAL PROFILE OF SOROREACTIVE ANIMALS FOR *LEPTOSPIRA* SPP. IN PATOS - PB. 2016. 28f. Course Completion Work (Undergraduate) - Veterinary Medicine Graduate, Veterinary Preventive Medicine and Animal Health, Federal University of Campina Grande, Patos, 2016.

With a lack of research on a seroreactivity of *Leptospira* spp of traction equidae in city of Patos-PB and its possible laboratory alterations caused, the objective of this study was to determine the occurrence of leptospirosis seroreactivity using the and to correlate hematological and biochemical findings. For the diagnosis of leptospirosis, the Micro agglutination test (MAT) test was used, using a battery with 24 serovars as antigens. The animals with 1: 100 titration were classified as positive and submitted to blood counts and hepatic and renal biochemical profile. Of the thirty of six animals analyzed; Ten (27.7%) had antibodies to *Leptospira* spp. (Table 1). (2.77%), ictushaemorrhagiae 1 (2.77%), bratislava 1 (2.77%), tarassovi 1 (2.77%). No changes were found in the hematological profile and as renal biochemical analyzes. In the evaluation of liver function only a gamma-glutamyltransferase showed its increased activity and that it can not be as a consequence of the hepatic injury, but rather in evaluation of factors like animal feeding management. Additional research with a greater number of animals in the region may help in the determination of the biochemical profile of healthy animals as well as chronic carriers of *Leptospira* spp.

Keywords: Equidae. Leptospirosis. Renal. Hepati

1 INTRODUÇÃO

A Leptospirose também conhecida como doença da icterícia infecciosa, tem como agente etiológico uma bactéria do gênero *Leptospira*, família *leptospiraceae* a qual pode infectar inúmeras espécies animais, tais como equinos, cães, diversos animais de produção como também o homem. Em seu reservatório natural, o *Rattus norvegicus*, a bactéria propaga-se nos túbulos proximais renais sendo eliminada na urina para o meio ambiente. A contaminação do animal dá-se em duas formas: Diretamente, onde o animal entra em contato com a leptospira ou indiretamente quando o contato se dá por meio de águas contaminadas ou pelo solo.

Há um consenso que a Leptospirose é uma zoonose, sendo considerada de importância global, devido a sua variedade de hospedeiros, danos à saúde pública e prejuízos na criação de animais de produção e pets. Os animais de tração da cidade de Patos - PB trabalham em locais onde não há saneamento básico, muitos deles são encarregados de retirarem entulhos das ruas e descarregarem no lixão da cidade ou em locais inapropriados como próximo a rios e encostas, devido a essas condições tornam-se animais predisponentes a adquirirem a leptospirose, apresentando alterações como anemia, leucocitose por neutrofilia com desvio a esquerda muitas vezes não são evidenciadas alterações ocasionadas por leptospira e sim por outras doenças parasitárias, levando o produtor a tratar seu animal de forma inadequada.

O animal por ser portador e eliminar o agente infeccioso por meio da urina, é uma fonte de disseminação da doença para outros animais, sendo assim, o diagnóstico definitivo tem grande importância para a saúde pública. Dessa forma, elaborar um perfil bioquímico e hematológico de animais que não apresentam a forma clínica da infecção como também sua utilização no laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande pode demonstrar padrões no diagnóstico da leptospirose e de possíveis doenças diferenciais que apresentem o mesmo quadro hematológico e bioquímico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agente Etiológico

O agente etiológico da leptospirose pertence à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira* (QUINN et al., 2005). A bactéria possui diâmetro de 0,1 µm com 6 a 20 µm de comprimento, formado por um cilindro protoplásmico helicoidal que contém na sua estrutura material nuclear, citoplasma, membrana citoplásmica, parede celular peptidoglicana constituído por dois filamentos axiais fixados nas extremidades, sendo responsáveis pela movimentação da *Leptospira* spp. (HINES, 2007).

Até meados da década 1980 o gênero *Leptospira* dividia-se em duas espécies, sendo uma de estirpes patogênicas, a *Leptospira interrogans*, e outra de cepas saprófitas, a *Leptospira biflexa* (LEVETT, 2001).

Por meio da genotipagem, recentemente foram reclassificadas em 16 genomespécies, porém não correspondem às duas espécies anteriores, já que os sorovares patogênicos e não patogênicos podem ocorrer dentro de uma mesma espécie. As genomespécies aceitas são: *Leptospira interrogans sensu stricto*, *Leptospira nogushi*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira meyeri*, *Leptospira wolbachii*, *Leptospira biflexa*, *Leptospira fainei*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira kirschneri*, *Leptospira weilli*, *Leptospira inadai*, *Leptospira parva* e *Leptospira alexanderi* (LEVETT, 2001).

São bactérias que crescem em pH alcalino, entre 7,2 a 7,6 com temperaturas que variam em torno de 28 a 30°C, uma cultura em meio líquido leva cinco a sete dias para atingir crescimento para ser utilizada como antígeno com meios de crescimento bacteriano enriquecido com albumina, vitamina B1 e B2 (JUNIOR, 2010). São aeróbicas estritas, com multiplicação e crescimento lentos e a divisão celular leva em torno de sete a doze horas (HAAKE, 2000).

A multiplicação e sobrevivência variam de acordo com a espécie de *leptospira*, as patogênicas têm preferências pelo hospedeiro mesmo podendo sobreviver no meio ambiente já as saprófitas multiplicam e sobrevivem no ambiente seja eles a água ou o solo. As leptospirosas são pouco resistentes a agentes químicos e físicos sendo inibidas em meios onde com pH abaixo de 6,9 e em temperaturas de 50 a 60°C ou ainda abaixo de 10°C (GOMES, 2013).

2.2 Epidemiologia

O território brasileiro apresenta todas as características para a ocorrência da leptospirose, um ambiente quente e úmido; a incidência da doença é relativamente alta devido à capacidade das leptospiras de sobreviverem nestas condições (NARITA et al., 2005; DOUDIER et al., 2006).

Os animais ou seres humanos infectados podem ser divididos em reservatórios e em hospedeiros acidentais, desta forma a prevalência de leptospirose depende de um portador que é o disseminador, da contaminação e sobrevivência do agente no ambiente (umidade, temperatura elevada e pH levemente alcalino) e do contato de indivíduos suscetíveis como asininos, bubalinos e caninos com o agente que apresentam diferentes níveis de adaptação. A persistência de focos se deve aos animais infectados, convalescentes e assintomáticos, os quais se comportam como fonte contínua de contaminação ambiental (JUNIOR, 2010).

Dados epidemiológicos sobre a situação dos casos positivos em asininos e demais animais detectados positivos no *polymerase chain reaction* (PCR) não são relatados. Segundo Bezerra et al, 2010, no Estado do Maranhão foram detectados 85% de soropositividade, a 21 sorovares dos trinta testados, sendo os mais frequentes, copenhageni, pyrogenes, autumnalis e icterohaemorrhagiae. Silva et al (2015) detectou uma prevalência de 20% em um estudo com 17 asininos hígidos utilizados para tração apresentavam-se com anticorpo para *Leptospira interrogans* na cidade de Uberlândia. Gomes et al. (2007) em um estudo com 106 amostras de asininos hígidos no município de Itagibá no estado da Bahia, obteve 23% de soropositividade.

2.3 Patogenia

A infecção se dá geralmente por meio das mucosas ou na pele intacta chegando a corrente sanguínea, como também por meio de água e alimentos contaminados, podendo também ser transmitida a prole por via transplacentária ou ainda pelo sêmen (PESCADOR et al., 2004; RIET-CORREA et al., 2001).

Após a contaminação, a infecção passará por duas fases de patogenicidade, na qual a primeira é conhecida como leptospiremia que ocorre do terceiro ao décimo dias após a contaminação (PINNA, 2008). Nessa fase, a bactéria está se reproduzindo na corrente sanguínea causando sinais brandos, como picos febris que pouco caracteriza a doença (THOMASSIAN, 2005). Durante esse período ainda não há resposta humoral e sim celular,

caracterizada pelo reconhecimento dos receptores do tipo *Toll-link* que liberaram citocinas para a ativação do sistema de complemento para neutralizar a bactéria, esta fase é caracterizada como fase aguda (TIZARD, 2008).

Ao ultrapassar a fase aguda, o organismo irá atuar por meio da imunidade adquirida onde os linfócitos T e B, que reconhecerá a *Leptospira* spp. por meio da membrana de lipopolissacarídeos através do TLR2, resultando na liberação de citocinas para a ativação do sistema imune e inativação da bactéria. Com a disseminação da bactéria e ativação do sistema imune, a *Leptospira* spp. atinge órgãos alvo, como rins e globo ocular (TIZARD, 2008). Uma vez infectado, o animal excreta as leptospirosas vivas durante toda a vida, esta condição vai variar com a espécie animal e o sorovar presente (NETO; HESS; OLIVEIRA, 2005).

Com a lesão renal causada pela deposição do imunocomplexo e pela propriedade da bactéria de causar vasculite e isquemia no tufo glomerular haverá à diminuição da filtração glomerular, consequentemente menor perfusão renal, levando o animal à condição de azotemia, sendo possível observar níveis elevados de creatinina e ureia (McGAVIN; ZACHARY, 2013).

2.4 Sinais Clínicos e Achados Patológicos

Uma vez infectado, o animal pode não apresentar sinal clínico característico da infecção por *Leptospira* spp. ou ainda apresentar sinais clínicos de doenças não específicas como babesiose, com febre, anemia e depressão (CARLSON, 2006).

As características da infecção por *Leptospira* spp. nos equinos é a forma subclínica, com o animal apresentando inapetência, letargia e febre no início da fase de leptospiremia, podendo causar nascimentos precoces e por vezes natimortos ou animais fracos que não sobrevivem (PESCADOR et al., 2004).

Os animais infectados podem apresentar febre como um dos primeiros sinais clínicos, na infecção subclínica, já nos casos crônicos poderá ser observada icterícia na mucosa oral, prepucial ou vaginal (RIBEIRO, 2013).

Problemas oculares como uveíte e lesão renal, ocorrem devido a deposição de imunocomplexo, no rim é possível observar nefrite túbulo-intersticial, processos inflamatórios multifocais e hemorragia que ocorrem secundário a lesão a no endotélio vascular (QUINN et al., 2005).

A infecção crônica pode levar o animal à morte e a gravidade reside no fato de que os

animais podem ser portadores, mas não apresentar os sinais clínicos aparentes, quando a bactéria está adaptada ao hospedeiro (GODOY, LUCHEIS, FILADELPHO, 2009).

2.5 Aspectos Laboratoriais

2.5.1 Teste Sorológico

Martins e Lilenbaum (2014) referiram o Soroaglutinação Microscópica (SAM) como teste de triagem, associado à PCR para detecção dos animais portadores de leptospiros no rebanho.

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) tem como referência internacional o teste de soroaglutinação microscópica (SAM) (OIE, 2012). Durante a infecção os anticorpos são produzidos contra sorovares específicos, porém existem reações cruzadas que dificultam a identificação do sorovar responsável pela infecção (ROSA, 1970).

A presença de anticorpos anti-*Leptospira* spp. é determinada pela Soroaglutinação Microscópica SAM utilizando como antígenos uma coleção de cepas de *Leptospira biflexa* sorovares Andamana e Patoc, *Leptospira interrogans Australis*, Copenhageni, Bataviae, Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjoprajitno, Pomona, Pyrogenes, Icterohaemorrhagiae, Hebdomadis, Wolffi, Butembo; *Leptospira borgpeterseni*: Autumnalis, Castellonis, Hardjobovis Javanica, Tarassovi, *Leptospira santarosai*: Guaricura, Shermani; *Leptospira kirschneri*: Cynopteri, e *Leptospira noguchii*: Panama (ZAR, 1996).

2.5.2 Hematologia

As alterações hematológicas encontradas em animais domésticos diagnosticados com leptospirose incluem anemia variando de moderada a grave, caracterizada pela diminuição do volume globular e da quantidade de hemácia (TRALL et al., 2007). Sendo observado aumento da hemoglobina causada pela hemólise intravascular, característica da infecção causada por leptospiros na qual o grau da anemia varia de acordo com a cronicidade da infecção (COSTA et al., 2013).

O mecanismo da anemia causada por *Leptospira* spp. ainda não está determinada, porém já se sabe que pode estar associado com a produção de IgM (anticorpos frios) que ocasionará hemólise extravascular imunomediada e da própria atividade bacteriana de produzir fosfolipases, pois o mesmo libera ácidos graxos do tecido adiposo, levando assim a

vasculite e lise de hemácias, neste caso ocorrerá hemólise intravascular enzimática (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Afonso et al. (2010) descreve que a hemólise é ocasionada pela hemolisina, enzima esta produzida pela *Leptospira* spp.

O leucograma pode apresentar características de infecções bacterianas crônicas, motivo esse que se deve descartar a possibilidade do animal apresentar hemoparasitose, como a mais comum *Babesia equis* (PINNA et al., 2010). Por meio do esfregaço sanguíneo Costa et al. (2013), Stockham e Scott (2011) observaram uma severa leucocitose com desvio a esquerda, apresentando intensa presença de neutrófilos tóxicos e linfócitos e monócitos atípicos, caracterizando a infecção aguda pela *Leptospira* spp.

A morfologia das células sanguíneas dos animais diagnosticados com leptospirose apresentam graus variados de anisocitose (COSTA et al., 2013). Segundo Thrall et al. (2007) é caracterizada pelas diferentes formas das hemácias, como também apresentam graus de policromasia e hipocromia, essas alterações são sinais clássicos de anemia regenerativa, indicativo da resposta da medula óssea a diminuição das hemácias na corrente sanguínea, também pode ser encontrado anemia com característica hemolítica.

2.5.3 Bioquímica Sérica

A avaliação bioquímica é útil para detectar as alterações hepáticas e renais, causadas tanto pela deposição do imunocomplexo como também geradas pela hemólise intravascular, dentro delas devemos enfatizar a ureia e creatinina como marcadores renais e a gama-glutamil-transferase (GGT) e fosfatase alcalina (FA) respectivamente marcadores hepáticos (PARREIRA, 2009).

Uma das fases de evolução da bactéria no organismo é a de septicemia onde ela atinge fígado, baço e rins, durante a proliferação bacteriana irá desencadear inflamação e congestão podendo evoluir para insuficiência hepática. A disseminação no sangue causa injúria ao endotélio vascular desencadeando vasculite e hemólise intravascular (McGAVIN; ZACHARY, 2013).

Por esses eventos são vistos aumento da bilirrubina ocasionada pelo excesso da lise dos eritrócitos que liberam a hemoglobina, o grupo heme será convertido em bilirrubina, o níveis plasmáticos da hemoglobina também podem aumentar devido à lesão hepática na fase de proliferação bacteriana (GONZÁLES; SILVA, 2006). A enzima AST também estará elevada, tanto pela lise das hemácias quanto pela diminuição do parênquima hepático e degeneração dos hepatócitos (MEYER; COLES; RICH, 1995). A enzima FA pode estar

levemente elevada, porém como há grandes variações dos níveis dentro do valor padrão não é muito utilizada (GONZÁLES; SILVA, 2006).

A insuficiência renal em equinos diagnosticados com leptospirose pode se dar pela atividade nefrotóxica que a hemoglobina causa aos nefros, pela diminuição da filtração glomerular ocasionada pela grave anemia ou ainda pela deposição do imunocomplexo (THALL et al., 2007; GONZÁLES; SILVA, 2006; MEYER; COLES; RICH, 1995). A alteração enzimática encontrada em animais positivos pode ser a elevação da ureia, porém devido à hepatopatia o ciclo da mesma pode ser comprometido ocasionando assim a sua diminuição ou que esteja dentro dos valores de referência (OLIVEIRA et al., 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), tendo como número de protocolo 305/2015.

3.1 Coletas

Para a execução da pesquisa, foram incluídos 16 asininos participantes do Projeto Carroceiro: Valorização Humana e Bem-Estar Animal, efetuado pelo PROBEX-2015 e 20 animais que estavam sob cuidados da prefeitura municipal de Patos-PB e cadastrados em projetos de pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande, *Campus Patos*. Os animais foram selecionados independentemente do sexo e faixa etária, clinicamente saudáveis, sendo utilizados como animais de tração e não vacinados para leptospirose.

Os animais selecionados foram submetidos à coleta de sangue para realização do hemograma, bioquímica e teste de soro aglutinação. As coletas das amostras ocorreram por meio de agulhas 25 x 0,6 por punção venosa na veia jugular após a assepsia.

3.2 Armazenamento

O armazenamento das amostras ocorreu em dois tubos estéreis distintos, na qual a primeira amostra foi armazenada com anticoagulante, EDTA (etileno diamina tetra-acético) para posterior avaliação hematológica. Nas amostras sem o anticoagulante foram utilizadas para avaliação do soro. Os tubos apresentavam capacidade de 8,5 mL, e foram transportados sob refrigeração até o Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, PB, onde foi realizado o dessoramento, o armazenamento em microtubos e estoque a -20°C até o momento da realização do exame de Soroaglutinação Microscópica (SAM).

3.3 Processamento

Para a realização das análises hematológicas, foi utilizado o contador automático (Sysmex[®] /Roche Diagnóstica do Brasil, São Paulo) que indica quantidade de hemácia, concentração de hemoglobina (Hb), onde o fornecimento deste dado ocorreu por meio da oxi-

hemoglobina realizada pelo aparelho, volume corpuscular médio (VCM), indicando o tamanho da hemácia, podendo ser classificada como normocítica, macrocítica ou microcítica, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Para determinação do hematócrito ou volume globular que indica a porcentagem de eritrócitos, foi realizado a análise manualmente devido ao grau de fidedignidade, pois alterações nas hemácias podem acarretar um aumento no VG sem necessariamente haver uma policitemia da mesma forma ocorre em casos de microcitoses em casos de anemia. Todos esses dados fazem parte da avaliação quantitativa do hemograma (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

O processamento da bioquímica sérica ocorreu em analisador automático Cobas c 111® , (Roche Diagnóstica do Brasil, São Paulo) com kits comerciais para análise da ureia e creatinina a fim de identificar se há alteração renal e as enzimas hepática fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamil transferase (GGT), bilirrubina total.

No teste de soro aglutinação todas as amostras com atividade aglutinante na diluição de 1:100 foram consideradas positivas e tituladas de forma seriada na razão de dois. O ponto de corte foi com o tubo de maior diluição que apresentou 50% de aglutinações quando comparado com o controle. O maior título alcançado foi utilizado para identificar o sorovar infectante (FAINE, et al., 1999).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados evidenciaram que dos trinta de seis animais analisados; dez (27,7%) apresentaram anticorpos para *Leptospira* spp. (Tabela 1). O sorovar mais frequente foi pomona 4 (11,1%), também houveram reações positiva para castellanis 3 (8,3%), grippotyphosa 1 (2,77%), bratislava 1 (2,77%), tarassovi 1 (2,77%), icterohaemorrhagiae 1 (2,77%).

Tabela 1- Frequência de Sorovares de *Leptospira* spp. e respectivos títulos em asininos do município de Patos – PB no período de dezembro de 2015 à junho de 2016.

Sorovar	Proporção de rebanhos positivos	Títulos
<i>Pomona</i>	4/10	1:400; 1:200;1:100
<i>Castellanis</i>	2/10	1:200;1:100
<i>Grippotyphosa</i>	1/10	1:400
<i>Bratislava</i>	1/10	1:100
<i>Tarassovi</i>	1/10	1:200
<i>Icterohaemorrhagiae</i>	1/10	1:200

Segundo Ribeiro (2013), a soroprevalência da leptospirose em equídeos varia entre 23% a 100% nas regiões Norte/Nordeste, em decorrência dos inúmeros microclimas que favorecem o desenvolvimento da *Leptospira* spp. O sorovar mais encontrado neste estudo foi a pomona, considerado o mais adaptado em suínos, porém estudos detectaram sua presença em bovinos e esporadicamente em equinos (LILENBAUM et al., 1998), o que pode ter ocorrido em nosso estudo devido ao manejo desses animais, os quais eram alojados com outros animais da mesma espécie assim como de espécies diferentes.

Segundo Corrêa (1992) o sorovar castellanis esta associado a presença de animais silvestres e do *Rattus norvegicus*, o presente estudo ratifica a interação dessas espécies com os asininos estudados.

Nesse estudo, apenas um animal foi encontrado com alterações no perfil hematológico, onde o mesmo apresentava aumento do hematócrito ocasionado por erro no processo pré-analítico do processamento. Este resultado corrobora com Oliveira (2010) no qual relata em que equídeos podem eliminar leptospirosas pela urina durante meses, anos ou por toda a vida, sem apresentar alterações clínicas e hematológicas.

Quanto às análises bioquímicas foram observadas algumas alterações quando comparadas aos intervalos referenciais por Kaneko et al., (2008). Dos animais sororreagentes,

nove (90%) apresentaram aumento do extravasamento da enzima GGT, enquanto que à dosagem de bilirrubina total e da enzima FA, manteve-se dentro do intervalo referencial sugerido por Kaneko et al., (2008) para todos os animais (Tabela 2).

A contagem e diferencial da morfologia celular mantiveram-se dentro dos padrões das referências, a dosagem de proteína plasmática total apresentou-se aumentada em apenas um animal para referência sugerida por Kaneko et al., (2008).

Tabela 2- Concentrações dos parâmetros bioquímicos de 10 asininos sororeativos para *Leptospira spp.* por meio da soro aglutinação.

Animais	Intervalo de Referência	1	3	5	6	7	8	9	13	14	16
		Parâmetros bioquímicos									
AST (U/L)	226,0-366,0	223,6	619,4	180,7	172,8	263,6	133,4	217,3	79,8 189,1		208,8
GGT (U/L)	4,3-13,4	74,8	29,1	62,3	83,8	73,9	82,1	50,1	8,7	21,5	63,7
Bilirrubina Total (U/L)	1,0-2,0	< 0,1	0,52	<0,1	0,13	0,21	0,13	0,26	0,26	0,34	0,1
Ureia (U/L)	21,4-51,36	23,59	34,93	27,88	34,40	31,81	35,34	26,99	21,80	28,57	29,52
Creatinina (U/L)	1,2-1,9	1,1	0,8	1,5	1,4	0,9	1,0	1,2	1,0	1,1	1,1

Penna (2008), em um estudo com 148 animais não encontrou alterações nas dosagens enzimáticas hepáticas e renais. Os parâmetros clínicos avaliados durante o exame físico não evidenciaram anormalidades, o que reforça a tese de que serovares adaptados tendem a causar doença crônica e por vezes subclínica nos hospedeiros de manutenção (FAINE et al., 2000).

Coles (1984) relata que a GGT é a enzima de escolha para avaliação de colestase em equinos, com sua elevação nas infecções hepáticas. Com a elevação da GGT e todas as demais enzimas dentro dos intervalos de referência, pode-se suspeitar que este aumento não é em decorrência de lesão hepática, mas sim em decorrência de fatores como manejo dos animais alimentar.

5 CONCLUSÃO

Os asininos da cidade de Patos-PB, apresentam anticorpos para *Leptospira* spp.. O prévio contato com agente não causou alterações hematológicas e bioquímicas. Porém, torna-se necessária novas pesquisas com um maior número de animais da região para determinar o perfil bioquímico séricos de animais saudáveis como também portadores crônicos da *Leptospira* spp. já que eles podem torna-se portadores de uma ampla variedade de sorovares. Visto isso, a sorologia regular para leptospirose deve fazer parte da conduta sanitária de plantéis de asininos.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, A. et al. **Patologia e Clínica das Doenças Infecciosas I Teóricas**. Universidade Técnica de Lisboa, 2010. Disponível em: <www.retarq.com.br/2015/04apostila-patologia-e-clinica-das.html>. Acesso: em 26 out. 2015.
- BRASIL 2009. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária em Saúde. **Guia Leptospirose: Diagnóstico Manejo Clínico**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/leptospirose_diagnostico_manejo.pdf>. Acesso em: 05 jun. 2015.
- BEZERRA, Danilo Cutrim et al. PESQUISA DE AGLUTININAS ANTILEPTOSPIRA EM SOROS SANGUÍNEOS DE ASININOS (*Equus Asinus*) E DE CONDUTORES DE VEÍCULOS DE TRAÇÃO ANIMAL NA CIDADE DE São Luís, MA, BRASIL. *Ciência Animal Brasileira*, [S.l.], v. 11, n. 4, p. 931 - 937, dez. 2010. ISSN 1809-6891. Disponível em: <<https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/9233/8706>>. Acesso em: 11 set. 2016
- CARLSON, G. Doenças do Sistema Hematopoiético e Hemolinfático. In: SMITH. **Medicina interna de grandes animais**. Tradução: COUTINHO, A. et al. 3 ed. Barueri: Monole. 2006. Cap. 35 p. 1056-1058.
- CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos** 2ª ed. Ed. Médica e Científica Ltda. Rio de Janeiro, p. 95-215, 1992.
- COSTA, E. et al. Alterações Hematológicas, morfológicas sanguíneas e bioquímicas em um cão com. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça: São Paulo, n 21, jun 2013. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/ZDjCN2eUimXozQQ_2013-8-13-13-50-35.pdf>. Acesso em: 25 out. 2015.
- DOUDIER, B.; GARCIA, S.; QUENNEE, P.; JARNO, P.B.; **Prognostic factors associated with severe leptospirosis**. *Clinical Microbiology and Infection*, Marseille, v.12, p.299-300, 2006.
- Faine, S., Adler, B., Bolin, C., Perolat, P.. **Leptospira and leptospirosis**. 2 ed. MediSci, Melbourne, 1999. 272 pp. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?isbn=3662450593>>. Acesso em: 15 dez. 2016
- FAINE, S., ADLER, B., BOLIN, C., PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**. Australia: Medsci, 2000. 272 p.
- FIGUEIREDO, I. **Leptospirose em suínos de abate: estudo sorológico e histopatológico**. Patos: UFCG, 2013. 67 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2013.
- GOMES, M. **Gênero Leptospira spp**. Laboratório de bacteriologia da Faculdade de Veterinária. FAVET-UFRGS, 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAneros%20Leptospira%204-2013-1.pdf>>. Acesso em: 28 nov. 2015.
- GOMES, A.H.B.; OLIVEIRA, F.C.; CAVALCANTI, L.A.; CONCEIÇÃO, I.R.; SANTOS, G.R. RAMALHO, E.J.; VIEGAS, S.A R. A.; **Ocorrência de aglutininas anti-leptospira em soro de eqüinos no Estado da Bahia**. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v.8, n.3, p.144-151, jul./set., 2007. Disponível em: <<http://www.rbspa.ufba.br>>. Acesso em: 15 dez. 2016.

- GONZÁLEZ, F; SILVA, S. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2006. Cap.8.p.313-354.
- HAAKE, D. A. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology*, v.146, p.1491- 1504, 2000.
- HIGINO, S. **Caracterização Epidemiológica da Leptospirose em Caprinos Leiteiros no Semiárido da Paraíba, Brasil**. Patos: UFCG, 2013. 71f. Tese (Doutorado) Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, 2013.
- HINES, M. Leptospirosis, In: SELTON, D.C.; LONG, M.T. (Ed.). **Equine infectious diseases**. Saint Louis: Elsevier, 2007, p. 301-309.
- JUNIOR, E. **Patogênese da leptospirose: estudo sobre os fatores envolvidos na virulência e disseminação do agente durante a infecção no modelo animal de hamster**. Salvador 2010.101f. Tese (Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) - Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo. Disponível em: <<http://arca.icict.fiocruz.br/handle/icict/4170>>. Acesso em: 25 out. 2015.
- Kaneko J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Academic Press, San Diego. 932p. 2008
- LILENBAUM, W. Leptospirosis on Animal Reproduction: IV. **Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brasil (1993-1996)**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. São Paulo: v. 35, n. 2, p. 61-63. 1998.
- LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Veterinary*, v.14, p.296-326, 2001
- LOPES, S; BIONDO, A; SANTOS, P. **Manual de Patologia Clínica Veterinária**. 3. ed. – Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007. Cap.4. p. 18-28.
- MARTINS, G.; LILENBAUM, W. **Leptospirosis in sheep and goats under tropical conditions**. *Tropical Animal Health and Production*, Edinburch, v.46, p.11–17, 2014.
- McGAVIN, M ; ZACHARY, J. Mecanismo das Infecções Microbianas. In: ZACHARAY, J. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5. ed. Tradução: SILVIA, A. et al. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. Cap.4 p.187-188.
- MEYER, D.; COLES, E.; RICH, L. Anormalidades em Testes Hepáticos. In: COLES, E. **Medicina de Laboratório Veterinária Interpretação e Diagnóstico**. Tradução: OLIVEIRA, P. São Paulo: Roca, 1995. Cap.5. p.47-60.
- NARITA, M.; FUJITANI, S.; HAAKE, D.A.; PATERSON, D.L.; Leptospirosis after recreational exposure to water in the yaeyama islands, Japan. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 73, p.652-656, 2005.
- NETO, J.; HESSE, F.; OLIVEIRA, M. Leptospirose equina: aspectos clínicos, tratamento, prevenção e levantamento sorológico. **Revista Veterinária em Foco**, Canoas- RS, n.2, vol.2, p.167-176, abr. 2005. Disponível em: <<http://revistas.bvsvet.org.br/vetfoco/article/view/27745>>. Acesso em: 10 out. 2015.
- OIE. 2012. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals**. 6th ed. Paris: World Organization for Animal Health. 1343p.
- OLIVEIRA, R. et al. Leptospirose em equinos: Achados Clínico e Laboratoriais. **Revista Eletrônica Científica de Medicina Veterinária**. Garça, n. 21, 2013.

- PARREIRA, M. **Aspectos Epidemiológicos da infecção por *Leptospira spp* em Felinos Domésticos (*Feli catus*) Aparentemente Sadios da Região Metropolitana de Goiânia, Goiás.** Goiânia: UFG, 2009. 71p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Programa de Pós Graduação em Ciência animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, Goiânia 2009. Disponível em: < https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/Dissertacao2009_Ivonete_Parreira.pdf >. Acesso em: 25 out. 2015.
- PESCADOR, A. et al. Aborto equino por *Leptospira sp.* **Ciência Rural**, Santa Maria v.34, n.1, p.271-274, jan-fev, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v34n1/a42v34n1.pdf> >. Acesso em: 24 out. 2015.
- PINNA, M. et al. Soropositividade para *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associada a falhas reprodutivas sem alterações hematológicas e bioquímicas significativas em cavalos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.10, p.2214-2217, out, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S010384782010005000178&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >. Acesso em: 25 out. 2015.
- PENNA, M. **Leptospirose Determinada pelo Serovar Bratislava em Equinos.** Niterói: UFF, 2008. 79p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)- Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Faculdade Federal Fluminense, Niterói 2008. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp135587.pdf> >. Acesso em: 25 out. 2015.
- GODOY, R. C.; LUCHEIS, S. B; FILADELPHO, A. L. **Influência das leptospiras nas infecções dos equinos.** Revista científica eletrônica de medicina veterinária, Garça, n.12, jan.2009. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/MDYGFoQu8QwdT7u_2013-6-21-11-45-12.pdf>. Acesso em 15 dez.2016
- QUINN, P. et al. Espiquetas. In: **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** Artmed, p.179-189, 2005.
- RIBEIRO, T. **Infecção por *Leptospira spp.* em Equinos.** Goiânia: UFG, 2013. 32p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia 2014. Disponível em: <https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/2013_Taia_Ribeiro_Seminario1corrig.pdf>. Acesso em: 30 out. 2015.
- RIET-CORREA, F.; LEMOS, R. Leptospirose. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e equinos.** 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. v.1, p.275.
- ROSA, S. C. Diagnóstico laboratorial das leptospiras das leptospiroses. Revista de Microbiologia, v. 1, p.97-109,1970
- SETÚBAL, S. **Leptospirose Fundação Teórica.** Universidade Federal Fluminense, 2014. Disponível em: <<http://www.professores.uff.br/dip-8p/lepto/lepto.html> >. Acesso em: 08 out. 2015.
- SILVA, D.A.V., RAMOS, G. B., GOMES, D. O., BURGERA, K. P., RIBEIRO, A. M. M., **leptospira interrogans em equinos hígidos e doentes da Universidade Federal de Uberlândia.** Revista Baiana de Saúde Pública, v.39, n.1, p.3-12 jan./mar. 2015. Disponível em: < <http://files.bvs.br/upload/S/0100-0233/2015/v39n1/a5123.pdf> >. Acesso em: 15 de dez. 2016
- STOCKHAM, S; SCOTT, M. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**, 2 ed. Rio de Janeiro: Gen. 2011. Cap. 3, p. 130-156.

THOMASSIAN, A. *Enfermidades Infecciosas. **Enfermidades dos Cavalos***. 4 ed. São Paulo: Varela. 2005. Cap. 17, p. 478-479.

TIZZARD, R. **Imunologia Veterinária uma Introdução**. Tradutora: ALVES, D. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2008. Cap.21, p. 179-294.

TRALL, A. et al. Classificação e Diagnóstico de Anemia. In: THALL, M. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. Tradução: FAGLIARI, J; FAGLIARI, D. São Paulo: Rocca. 2007. Cap. 6, p. 79-83.

ZAZ, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice-Hall. 1996. 718p.