

Leptospirose em cães

Coleta, armazenamento e transporte de material para diagnóstico.

O que precisamos realmente saber?



Coordenadores:

Ana Eucares von Laer
Alexandre Alberto Tonin

Colaboradores:

Clarissa Luciano Barboza
Emilie Victória Oberbeck
Helen Almeida Rodrigues



2023



Leptospirose em cães

Coleta, armazenamento e transporte de material para diagnóstico.
O que precisamos realmente saber?

Coordenadores:

Ana Eucares von Laer
Alexandre Alberto Tonin

Colaboradores:

Clarissa Luciano Barboza
Emilie Victória Oberbeck
Helen Almeida Rodrigues

1.^a Edição

Santa Maria
Pró-Reitoria de Extensão - UFSM
2023

**Reitor**

Luciano Schuch

Vice-Reitora

Martha Bohrer Adaime

Pró-Reitor de Extensão

Flavi Ferreira Lisboa Filho

Pró-Reitora Adjunta de Extensão**Geoparques**

Jaciele Carine Vidor Sell

Cultura e Arte

Vera Lucia Portinho Vianna

Desenvolvimento Regional e Cidadania

Victor de Carli Lopes

Articulação e Fomento à Extensão

Rudiney Soares Pereira

Daniel Luís Arenhardt

Subdivisão de Apoio a Projetos de Extensão

Alice Moro Neocatto

Subdivisão de Divulgação e Eventos

Taís Drehmer Stein

Revisão Textual

Matheus Cardozo

Projeto Gráfico e Diagramação

Natássia Gabaia

Fernanda Redin Oliveira

L611 Leptospirose em cães [recurso eletrônico] : coleta, armazenamento e transporte de material para diagnóstico. O que precisamos realmente saber? / coordenadores: Ana Eucares von Laer, Alexandre Alberto Tonin ; colaboradores: Clarissa Luciano Barboza, Emilie Victória Oberbeck, Helen Almeida Rodrigues. – 1. ed. – Santa Maria, RS : UFSM, Pró-Reitoria de Extensão, 2023.
1 e-book – (Série Extensão)

ISBN 978-65-85653-34-3

1. Sorologia 2. Leptospira spp. 3. PCR 4. Zoonose I. von Laer, Ana Eucares II. Tonin, Alexandre Alberto III. Barboza, Clarissa Luciano IV. Oberbeck, Emilie Victória V. Rodrigues, Helen Almeida

CDU 619:636.7

Ficha catalográfica elaborada por Lizandra Veleda Arabidian - CRB-10/1492
Biblioteca Central da UFSM



Esta obra está licenciada com uma Licença [Creative Commons Atribuição-NãoComercial-SemDerivações 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

CONSELHO EDITORIAL

Prof^a. Adriana dos Santos Marmorini Lima

Universidade do Estado da Bahia - UNEB

Prof. José Pereira da Silva

Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Prof. Leonardo José Steil

Universidade Federal do ABC - UFABC

Prof^a. Lucilene Maria de Sousa

Universidade Federal de Goiás - UFG

Prof^a. Maria Lucila Reyna

Universidad Nacional del Litoral - UNL

Prof^a. Maria Santana Ferreira dos Santos Milhomem

Universidade Federal do Tocantins - UFT

Prof. Odair França de Carvalho

Universidade de Pernambuco - UPE

Prof^a. Olgamir Amancia Ferreira

Universidade de Brasília - UnB

Prof. Olney Vieira da Motta

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy
Ribeiro - UENF

Prof. Roberto Ángel Medici

Universidad Nacional de Entre Ríos - UNER

Prof^a. Simone Cristina Castanho Sabaini de Melo

Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP

Prof^a. Tatiana Ribeiro Velloso

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

CÂMARA DE EXTENSÃO

Flavi Ferreira Lisboa Filho

Presidente

Jaciele Carina Vidor Sell

Vice-Presidente

José Orion Martins Ribeiro

PROPLAN

Marcia Regina Medeiros Veiga

PROGRAD

Michele Forgiarini Saccol

CCS

Monica Elisa Dias Pons

CCSH

Andre Weissheimer de Borba

CCNE

Suzimary Specht

Politécnico

Marta Rosa Borin

CE

Thiago Farias da Fonseca Pimenta

CEFD

Marcia Henke

CTISM

Adriano Rudi Maixner

CCR

Graciela Rabuske Hedges

CAL

Ana Beatris Souza de Deus Brusa

CT

Tanea Maria Bisognin Garlet

Palmeira das Missões

Fabio Beck

Cachoeira do Sul

Evandro Preuss

Frederico Westphalen

Regis Moreira Reis

TAE

Elisete Kronbauer

TAE

Suélen Ghedini Martinelli

TAE

Isabelle Rossatto Cesa

DCE

Daniel Lucas Balin

DCE

Jadete Barbosa Lambert

Sociedade

PARECERISTA AD HOC

Fagner D'ambroso Fernandes

Cartilha aprovada em sessão ordinária da Câmara de Extensão no dia 17/08/2022. O conteúdo desta cartilha é de total responsabilidade de seus autores, que se comprometem com as informações e imagens nela contidas, não respondendo a Pró-Reitoria de Extensão por reclamações de terceiros. A essa premissa, excetua-se apenas as ilustrações da capa e folha de rosto, pertencentes ao projeto gráfico desenvolvido pela PRE.

APRESENTAÇÃO



O material apresenta uma breve explanação da leptospirose, como a doença se manifesta e a técnica de diagnóstico, com destaque para os cães, que podem desenvolvê-la de forma aguda e até mesmo fatal, além de desempenharem importante papel como hospedeiros e potenciais transmissores de *Leptospira* spp. para humanos, animais e ambiente. A cartilha foi desenvolvida no intuito de orientar médicos veterinários a respeito dos tipos de amostras, transporte, coleta e armazenamento adequados para encaminhamento aos laboratórios que realizam exames de leptospirose. Uma vez que amostras corretas são a primeira etapa à obtenção de resultados precisos, salientando que o diagnóstico e o tratamento correto são importantes ferramentas no controle e na prevenção da doença.

SUMÁRIO

1	SOBRE A DOENÇA	7
2	QUAIS AS AMOSTRAS UTILIZADAS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA LEPTOSPIROSE?	11
2.1	QUAIS AS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA LEPTOSPIROSE?	11
3	COMO DEVE SER REALIZADA A COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS PARA O ENVIO AO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE?	13
3.1	QUAL O MOMENTO ADEQUADO PARA REALIZAR A COLETA DAS AMOSTRAS?	16
3.2	PARA ONDE ENVIAR AS AMOSTRAS COLETADAS?....	17
	REFERÊNCIAS	19
	SOBRE OS AUTORES.....	23

SOBRE A DOENÇA

1

Cerca de um terço das doenças, que afetam o ser humano, são transmitidas por animais (ULLMANN, 2011). Portanto, é imprescindível o conhecimento a respeito delas, para que, assim, as interações homem-animal não se comprometam e, além disso, o diagnóstico seja realizado de maneira a assegurar o bem-estar de humanos e animais.

A leptospirose é uma doença zoonótica causada por bactérias patogênicas, do gênero *Leptospira* spp. as quais acometem os mamíferos, tanto domésticos - caninos, bovinos, suínos e equinos -, como também os mamíferos selvagens e os humanos (GOLDSTEIN, 2010; ADLER, MOCTEZUMA, 2010). Um grande número de casos de leptospirose tem sido reportado em diferentes regiões ao redor do mundo (ELLIS, 2014), tendo predominância em regiões tropicais (KIKUTI et al., 2012). A *Leptospira* spp. faz parte da família Leptospiraceae (ADLER; MOCTEZUMA, 2010), que está dividida em quatro subclados: P1, P2, S1 e S2; sendo que S1 agrupa as patogênicas (CASTRO et al., 2020). Cada espécie contém diferentes sorogrupos/sorovares (Quadro 1) e, atualmente, são reconhecidos mais de 200 sorovares, classificados sorologicamente, de acordo com variação da estrutura e

composição dos lipopolissacarídeos, bem como dos carboidratos (MORENO, 2010).

Quadro 1 – Principais sorogrupos/sorovares de *Leptospira* spp. que causam infecção em animais

Sorogrupo	Sorovares
Australis	Australis Bratislava
Autumnalis	Butembo
Ballum	Ballum
Canicola	Canicola
Gryppotyphosa	Gryppotyphosa
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae Copenhageni
Pomona	Pomona
Pyrogenes	Pyrogenes
Sejroe	Hardjo-prajitno Hardjo-bovis Wolffi
Tarassovi	Tarassovi

Nos cães, a leptospirose é causada, geralmente, pelos sorovares Canicola e Copenhageni, ainda que nos últimos anos também tenha aumentado a quantidade de infecções causadas pelo sorovar Bratislava. Contudo, essa frequência poderá apresentar variações conforme a região de estudo (SCANDURA et al., 2020).

O animal irá se infectar por essa bactéria através, principalmente, do contato direto com a urina de roedores contaminados, porém também pode ocorrer de maneira indireta pelo contato com o ambiente úmido/alagadiço contaminado pelo agente bacteriano (ULLMANN, 2012). Os sinais clínicos em cães com leptospirose podem variar, desde subclínicos até a apresentação de sinais clínicos brandos e graves, com presença de febre até doenças renais, hepáticas e pulmonares graves. Cães com acesso à rua e expostos à água contaminada por urina de animais portadores têm maior chance de serem infectados (GOLDSTEIN, 2010). Ademais, o diagnóstico clínico para essa doença em caninos é dificultoso, pois dependerá da virulência da bactéria, manifestações clínicas diversas, entre outros fatores (XU et al., 2014).

O papel de cães como hospedeiros de *Leptospira* spp. é bem conhecido na literatura, e por possuir grande proximidade com humanos trazem a problemática quanto a possível exposição da infecção a eles. Assim como outros animais infectados, os cães podem excretar *Leptospira* spp. pela urina, mesmo quando não apresentam sinais clínicos da doença. Ainda, os caninos, eventualmente, têm papel como predadores de pequenos roedores, animais frequentemente transmissores da

leptospirose, tornando a epidemiologia da leptospirose uma questão muito relevante no contexto de Saúde Única (SCHULLER et al., 2015).

É de extrema importância que o diagnóstico, desta forma, seja realizado rapidamente e de maneira segura, tornando o conhecimento dos procedimentos de coleta, armazenamento e transporte das amostras até o laboratório pontos cruciais para realização de um diagnóstico confiável. Desta forma, fica evidente a necessidade da disseminação das informações sobre o tema para os profissionais da área como médicos veterinários (MIOTTO et al., 2018).

QUAIS AS AMOSTRAS UTILIZADAS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA LEPTOSPIROSE?

2

Para o diagnóstico da leptospirose podem ser utilizados amostras biológicas, como fluidos corporais ou amostras teciduais (MIOTTO et al., 2018). Contudo a urina, o sangue e o soro são as amostras comumente empregadas nas técnicas mais utilizadas na rotina laboratorial.

2.1 QUAIS AS TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA LEPTOSPIROSE?

Na rotina laboratorial emprega-se, mais rotineiramente, as técnicas de soroaglutinação microscópica (SAM) e reação em cadeia da polimerase (PCR).

O teste de soroaglutinação microscópica, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (2003), é considerado padrão ouro quando se trata do diagnóstico da leptospirose, tanto em humanos como em animais, baseando-se na reação de aglutinação entre antígenos e anticorpos específicos de *Leptospira* spp. Nesta reação, os anticorpos presentes no soro do animal infectado irão se ligar aos epítomos específicos presentes no microrganismo (GORIS, HARTSKEERL, 2014). São consideradas reações positivas aquelas que apresentam 50% ou mais de bactérias aglutinadas, visualizadas em microscopia de campo escuro, em uma diluição 1:100 (MIOTTO, 2018).

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), é um método de biologia molecular e baseia-se na detecção do DNA de *Leptospira* spp. nas amostras (sangue total, urina, liquor, amostras de fígado, rins e pulmão (*post mortem*), fetos abortados, anexos placentários, entre outros.), apresentando maior rapidez para a obtenção do resultado, alta sensibilidade e especificidade (HEINEMANN, et al., 2000). Nesta técnica, o DNA das amostras, após ser extraído, é amplificado e visualizado em gel agarose (GREEN; SAMBROOK, 2019).

COMO DEVE SER REALIZADA A COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS PARA O ENVIO AO LABORATÓRIO DE DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE?

2

A coleta das amostras de materiais biológicos de animais para diagnósticos laboratoriais deve ser realizada seguindo todos os protocolos, para garantir a qualidade das amostras e a segurança dos animais e profissionais envolvidos (CENSI et al., 2011). Este procedimento, deve ser efetuado por um profissional da área, utilizando os devidos equipamentos de proteção individual (EPI), incluindo: avental ou macacão, luvas, botas de borracha, óculos de proteção e máscara. Essas medidas garantem a proteção contra o risco de exposição aos agentes infecciosos e a contaminação das amostras a serem coletadas. Frascos, tubos, seringas, agulhas e demais instrumentos utilizados na coleta devem estar estéreis, evitando a contaminação da amostra por outros produtos e/ou microrganismos (CENSI et al., 2011). Ressalta-se que os cães, assim como outros animais, são capazes de infectar seres humanos, diretamente, mas principalmente de maneira indireta, através da urina contaminada (SCANDURA et al., 2020).

Para a coleta de sangue, deve ser realizada a antisepsia do local da punção, com álcool 70%, o sangue, quando possível, deve ser coletado por punção da veia jugular ou cefálica do animal (vasos mais calibrosos),

com seringa e agulha estéreis (CENSI et al., 2011). Para a realização da SAM, utiliza-se amostra de soro, assim, após a separação da fração líquida do sangue, o conteúdo deve possuir, minimamente, 2 ml de soro (CARLESSE et al., 2019), este deve ser transferido para tubos ou frascos estéreis e enviado sob refrigeração, em até 24 horas após a coleta (CENSI et al., 2011). Ainda para a coleta de sangue, não deve ser utilizado anticoagulante, pois para o exame laboratorial é empregado apenas o soro, não sendo apropriado utilizar o sangue total ou soro hemolisado (ANZAI, 2006). Para realização da PCR, em amostras de sangue, utiliza-se o sangue total. Portanto, esta amostra pode deve ser coletada em tubos com anticoagulante, dando preferência para tubos que usem citrato de sódio como agente anticoagulante. As amostras de sangue devem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8°C, imediatamente após a coleta (CASAGRANDE et al., 2014), enquanto as amostras de soro sanguíneo podem ser congeladas (CENSI et al., 2011).

Para a coleta de urina, é recomendado realizar a tricotomia e a antissepsia do local anteriormente à coleta. Deve ser coletado, no mínimo, 3 ml de urina, em frasco estéril ou por cistocentese, utilizando equipamentos estéreis. Além disso, é importante que seja efetuada em três momentos distintos em um período de 24 horas, uma vez que a eliminação da *Leptospira* spp. na urina ocorre de forma intermitente. Por fim, as amostras de urina devem ser armazenadas em temperaturas entre 2 e 8°C, por no máximo, até 2 dias após a coleta em frasco estéril e protegido da luz (RISTOW, 2018).

Para o transporte, as amostras devem estar sempre acondicionadas em embalagens triplas, onde a embalagem primária é a que estará em contato direto com a amostra, sendo ela frascos, tubos de ensaios ou microtubos. A embalagem secundária, que reveste a primária, deve ser impermeável e vedada, para evitar vazamentos, como embalagens plásticas. A embalagem terciária deve ser um recipiente isotérmico, impermeável e vedado, como caixa de isopor. Externamente, os recipientes e embalagens devem ser desinfetados com solução apropriada, como álcool iodado ou hipoclorito de sódio, a fim de evitar a contaminação dos ambientes e o pessoal responsável pelo acondicionamento e transporte (CENSI et al., 2011). Para manutenção da temperatura de refrigeração, deve ser colocado gelo reciclável, no interior da embalagem terciária (CASAGRANDE et al., 2014) ou água congelada dentro de garrafas plásticas, para evitar degelo e acúmulo de água (CENSI et al., 2011; CARLESSE et al., 2019).

Os frascos e embalagens ainda precisam ser devidamente identificados utilizando etiquetas apropriadas e com informações legíveis, além de serem acompanhados pelo formulário de solicitação de exames. No lado externo da caixa de transporte indica-se a fixação de rótulo de risco biológico. O formulário deve conter informações referentes à espécie animal, tipo e quantidade das amostras, conservação das mesmas, data da coleta, modo de transporte (rodoviário, aéreo), suspeita clínica e exames solicitados (CENSI et al., 2011).

3.1 QUAL O MOMENTO ADEQUADO PARA REALIZAR A COLETA DAS AMOSTRAS?

O momento adequado para a coleta de amostras de sangue e urina de animais para a realização dos diagnósticos da leptospirose dependerá da técnica de diagnóstico empregada, bem como do estágio da infecção no animal (ELLIS, 2014).

Leptospira spp. multiplica-se ativamente nos diferentes órgãos parenquimatosos, sangue, linfa e líquido, caracterizando o quadro agudo da doença, denominado leptospiremia (BOLIN, 1996). Após essa fase, o agente pode permanecer nos túbulos contornados renais, sendo eliminado pela urina, de forma intermitente (leptospiúria) e essa eliminação renal do microrganismo ocorre desde 72 horas após a infecção até semanas a meses nos animais domésticos, como os cães, podendo ser por toda vida nos roedores (GÍRIO, 1993).

Para diagnóstico através da SAM, é recomendado que a coleta do material seja realizada ao longo da fase aguda da doença, pois os anticorpos são detectáveis no sangue aproximadamente sete a dez dias após o início dos sinais clínicos (CASTRO, et al., 2010) e, geralmente, atingem os níveis mais altos dentro de três a quatro semanas (OLIVEIRA, 2010), podendo durar meses e, em alguns casos, até mesmo anos nos animais portadores do agente causal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Em caso de resultado negativo para SAM, com animal apresentando sinais clínicos compatíveis com a leptospirose, recomenda-se repetir a sorologia de 7 a 10 dias após o primeiro teste, visto que pode ocorrer falso

negativo em casos de início de soroconversão (BOLIN, 1996). A PCR é um método mais sensível no diagnóstico precoce e crônico da leptospirose quando comparada a SAM, uma vez que resultados negativos na sorologia não descartam infecção na fase hiperaguda ou na fase leptospirúrica (CHARELLO et al., 2006). Sendo assim, recomenda-se que amostras de sangue sejam coletadas nos primeiros sete dias de aparecimento dos sinais clínicos, ao passo que amostras de urina sejam enviadas após 2 a 3 semanas do início da apresentação clínica no cão. (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003).

3.2 PARA ONDE ENVIAR AS AMOSTRAS COLETADAS?

O agente etiológico demanda de condições e estruturas laboratoriais específicas para a manutenção de *Leptospira* spp. e deve apresentar nível de biossegurança 2. Existem laboratórios específicos e qualificados para realizar o diagnóstico de leptospirose em todo o país. Na região central do estado do Rio Grande do Sul, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), o Laboratório de Diagnóstico e Pesquisa em Leptospirose (LabLepto) conta com toda a estrutura e equipe especializada para realizar os exames (SAM e PCR) de diagnóstico de leptospirose em animais domésticos e silvestres.

As amostras devem ser encaminhadas para o endereço abaixo:

Lablepto - Laboratório De Diagnóstico E Pesquisa Em
Leptospirose
Universidade Federal De Santa Maria

Centro De Ciências Da Saúde
Departamento De Microbiologia E Parasitologia
Campus Universitário - Prédio 20, Sala 4235
Camobi - Santa Maria - Rs
CEP 97105-900

Mais informações acesse:

<https://lablepto.wixsite.com/lablepto>

Instagram: @lablepto

Telefone/Whatsapp: (55) 3220 8885

E-mail: lablepto@ufsm.br

REFERÊNCIAS

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. P. **Leptospira and leptospirosis**. *Veterinary Microbiology*, v. 140, n. 3-4, p. 287-296, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.03.012>. Acesso em: 25 jul. 2021.

ANZAI, E. K. **Utilização da PCR para o diagnóstico da leptospirose em cães naturalmente infectados por *Leptospira spp.*** 2006. Programa de Pós-graduação (nível Mestrado) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina. Londrina, Paraná. 2006.

BOLIN, C. A. **Diagnosis of leptospirosis: *Areernerngingdis* e as e of companion animals**. *Sem. Vet. Med. Surg.* v. 11, n. 3, p.166 - 171, 1996.

CARLESSE, M., et al. **MANUAL DE COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS**. Governo do estado de Tocantins. Secretaria do Estado da Saúde. p 59-60. 2019. Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/442521/>. Acesso em: 05 ago. 2021.

CASAGRANDE, R., et al. **MANUAL DE PROCEDIMENTOS TÉCNICOS PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS**. Vitória, 2014. Laboratório Central de Saúde Pública do Espírito Santo. p. 36.

CASTRO, M. T. et al. *Leptospira* patógena em murciélagos de Campeche y Yucatán, México. **Revista MVZ Córdoba**. p. 1. 2020. Disponível em: <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/e1815/2481>. Acesso em: 09 ago. 2021.

CASTRO, J.R. et al. **Leptospirose canina - Revisão de literatura**. *PUBVET*, Londrina, V. 4, N. 31, Ed. 136, Art. 919, 2010.

CENSI, A. et al. **Boletim técnico: Manual de Coleta e Remessa de Amostras para DIAGNÓSTICO Laboratorial Veterinário**. Porto Alegre, 2011. p. 22-23.

CHARELLO, T. et al. PCR no diagnóstico de leptospirose canina em presença de sorologia negativa. In: **14 EVINCI - Evento de iniciação científica**, 2006, Curitiba. UFPR, 2006. p. 139.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992.

ELLIS, W. A. Animal Leptospirosis. **Leptospira and Leptospirosis**, p. 99–137, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_6. Acesso em: 25 jul. 2021.

GIRIO, RJS; et al. Pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. em animais silvestres e em estado feral da região de Nhecolândia, Mato Grosso do Sul, Brasil: utilização da técnica de imuno-histoquímica para detecção do agente. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 165-169, 2004.

GOLDSTEIN, R. E. Canine leptospirosis. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 40, n. 6, p. 1091-101, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2010.07.008>. Acesso em: 25 jul. 2021.

GORIS, M. G. A.; HARTSKEERL, R. A. Leptospirosis Serodiagnosis by the Microscopic Agglutination Test. **Current Protocols in Microbiology**, 32:12E.5.1-12E.5.18, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc12e05s32>. Acesso em: 30 jul. 2021.

GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. Nested Polymerase Chain Reaction (PCR). **Cold Spring Harbor Protocols**. doi: 10.1101/pdb.prot095182. 2019.

HEINEMANN, M. B. et al. Detection and differentiation of *Leptospira* spp. serovars in bovine semen by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. **Veterinary Microbiology**, v. 73, n.4, p. 261–267, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00150-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00150-4). Acesso em: 30 jul. 2021.

MIOTTO, B. A. et al. **Diagnosis of acute canine leptospirosis using multiple laboratory tests and characterization of the isolated strains.** BMC Vet Res 14, 222. Disponível em: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-018-1547-4>. Acesso em 24 jul. 2021.

MORENO, N.; FLÓREZ, P.A. **Aplicación de las pruebas de PCR convencional simple y múltiple para la identificación de aislamientos de Leptospira spp. en Colombia.** Instituto Nacional de Salud. Lima, Peru. 2010. p. 549. Disponível em: <https://www.scielosp.org/article/rpmesp/2010.v27n4/548-556/es/>. Acesso em: 09 ago. 2021.

OLIVEIRA, S. T. de. **Leptospirose canina: dados clínicos laboratoriais e terapêuticos em cães naturalmente infectados.** Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Porto Alegre, p. 88, 2010.

PINNA, M. H. et al. **Leptospirose em cães.** PUBVET, Londrina, v. 4, n. 32, ed. 137, Art. 929, 2010.

KIKUTI, M. et al. Occurrence and risk factors associated with canine leptospirosis. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases.** ISSN 1678-9199. 2011. v. 17. p 119-129.

SCANDURA, S. C. **Pesquisa sorológica de sorovares de leptospiras que mais frequentemente infectam e causam doença em cães com suspeita clínica de leptospirose.** Brazilian Journal of Development v. 6. p. 9393 - 9395. n 2. São Paulo. 2020. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/7201/6469>. Acesso em: 09 ago. 2021.

SCHULLER, S. et al. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, n. 3, p. 159–179, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jsap.12328>. Acesso em: 25 jul. 2021.

RISTOW, Luiz E. **Manual de coletas pet.** Tecsa Laboratórios. Belo horizonte, 2018. v. 2. p. 222.

ULLMANN, L.; LANGONI, H. Interactions between environment, wild animals and human leptospirosis. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. ISSN 1678-9199. 2011. v. 17. p 119-129.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control**. Geneva: WHO; 2003. p. 4 - 63.

XU, C. et al. **Diagnosis of canine leptospirosis by a highly sensitive FRET-PCR targeting the lig genes**. PLoS One. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089507>. Acesso em: 29 jul. 2021.

SOBRE OS AUTORES

Ana Eucares von Laer - ana.laer@ufsm.br

Bióloga, Mestre em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas (UFPel); Doutora em Ciências pela Universidade de São Paulo (USP). Professora adjunta do Departamento de Microbiologia e Parasitologia - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Coordenadora do Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Leptospirose - LabLepto - Av. Roraima, Prédio 20 - Sala 4235, CEP 97105-900, Camobi, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Alexandre Alberto Tonin - alexandre.tonin@ufsm.br

Médico Veterinário, Mestre em Farmacologia, Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas - IFAM. Integrante da equipe do Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Leptospirose - LabLepto - Av. Roraima, Prédio 20 - Sala 4235, CEP 97105-900, Camobi, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Clarissa Luciano Barboza – clarissa.barboza@acad.ufsm.br

Acadêmica de Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Bolsista de Iniciação Científica do Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Leptospirose - LabLepto - Av. Roraima, Prédio 20 - Sala 4235, CEP 97105-900, Camobi, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Emilie Victória Oberbeck - emilie.oberbeck@acad.ufsm.br

Acadêmica de Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Bolsista de Iniciação Científica do Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Leptospirose - LabLepto - Av. Roraima, Prédio 20 - Sala 4235, CEP 97105-900, Camobi, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Helen Almeida Rodrigues - helerod2001@gmail.com

Técnica em Agropecuária pelo Instituto Federal Farroupilha (IF-Far), Campus de São Vicente do Sul. Acadêmica de Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Estagiária do Laboratório de Pesquisa e Diagnóstico em Leptospirose - LabLepto - Av. Roraima, Prédio 20 - Sala 4235, CEP 97105-900, Camobi, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

Atribuição de crédito a www.freepik.com:

Elemento gráfico abstrato, capa e miolo:

FREEPIK. **Environment instagram posts**. Disponível em: https://www.freepik.com/free-vector/environment-instagram-posts_10280215.htm. Acesso em: nov. 2022.

Ilustração DNA, capa e folha de rosto:

PCH.VECTOR. **Genetic engineer scientists working in medical laboratory**. Disponível em: https://www.freepik.com/free-vector/genetic-engineer-scientists-working-in-medical-laboratory_9649833.htm. Acesso em: nov. 2022.

Ilustração cachorro, capa e folha de rosto:

MACROVECTOR. **Vector icons dogs set isolated on blue background**. Disponível em: https://www.freepik.com/free-vector/vector-icons-dogs-set-isolated-on-blue-background_10600396.htm. Acesso em: nov. 2022.

Ilustrações laboratório, capa e folha de rosto:

MACROVECTOR. **Isometric genetic engineering set with scientists and lab mouses isolated vector illustration**. Disponível em: https://www.freepik.com/free-vector/isometric-genetic-engineering-set-with-scientists-and-lab-mouses-isolated-vector-illustration_32741751.htm. Acesso em: nov. 2022.



UFSM
PRE