



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA  
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)  
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS DO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (DMV-UFRPE) E NO LABORATÓRIO DE  
INSPEÇÃO E TECNOLOGIA DE LEITE E DERIVADOS DA ESCOLA DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
BAHIA (EMEVZ-UFBA).**

**Levantamento sorológico de *Leptospira* spp. em cães (*Canis familiaris*) atendidos no  
Hospital Veterinário Universitário (HVU) da UFRPE, Pernambuco, Brasil.**

**DHEBORA SILVÉRIO CORREIA**

**RECIFE, 2024.**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA  
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)  
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS DO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (DMV-UFRPE) E NO LABORATÓRIO DE  
INSPEÇÃO E TECNOLOGIA DE LEITE E DERIVADOS DA ESCOLA DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
BAHIA (EMEVZ-UFBA).**

**Levantamento sorológico de *Leptospira* spp. em cães (*Canis familiaris*) atendidos no  
Hospital Veterinário Universitário (HVV) da UFRPE, Pernambuco, Brasil.**

**DHEBORA SILVÉRIO CORREIA**

Relatório de Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) realizado como exigência para a obtenção do grau de Bacharela em Medicina Veterinária, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Érika Fernanda Torres Samico-Fernandes.

**RECIFE, 2024**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

C824L Correia, Dhebora Silvério.

Levantamento sorológico de *Leptospira spp.* em cães (*Canis familiaris*) atendidos no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da UFRPE, Pernambuco, Brasil / Dhebora Silvério Correia. - Recife, 2024.  
68 f.; il.

Orientador(a): Erika Fernanda Torres Samico-Fernandes.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, BR-PE, 2024.

Inclui referências.

1. Cão 2. Leptospirose 3. Reservatório 4. Soroaglutinação microscópica 5. Sorovar I. Samico-Fernandes, Erika Fernanda Torres, orient.  
II. Título

CDD 636.089



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
**CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO (ESO)  
REALIZADO NO LABORATÓRIO DE DOENÇAS INFECTOCONTAGIOSAS DO  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO (DMV-UFRPE) E NO LABORATÓRIO DE  
INSPEÇÃO E TECNOLOGIA DE LEITE E DERIVADOS DA ESCOLA DE  
MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
BAHIA (EMEVZ-UFBA).**

**Levantamento sorológico de *Leptospira* spp. em cães (*Canis familiaris*) atendidos no  
Hospital Veterinário Universitário (HVU) da UFRPE, Pernambuco, Brasil.**

**DHEBORA SILVÉRIO CORREIA**

Aprovado em \_\_/\_\_/2024

**BANCA AVALIADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Érika Fernanda Torres Samico Fernandes  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

---

Prof<sup>a</sup>.. Dr<sup>a</sup>. Maria Betânia de Queiroz Rolim  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

---

Dr. André de Souza Santos  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu pai, por ter sido a fonte do meu amor pelos animais e pela natureza desde que o meu mundo é mundo e por sempre falar de mim com orgulho por ter uma filha veterinária.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha mãe por sempre acreditar em mim e nunca deixar a peteca cair. Suas energias são uma coisa mística que muito me movimentaram até hoje. Sem ela nada seria possível, e muito disso aqui – e do que vem pela frente, eu devo a ela.

As minhas tias, por formarem essa fortaleza que tanto me serviu de abrigo, para onde eu sempre pude correr e me sentir cuidada quando as coisas apertaram durante esse tempo.

A todos os meus amigos que estiveram comigo durante todo esse ciclo, acompanharam tantas versões de mim e sempre estiveram ao meu lado. Obrigada, especialmente, Anahi, Icaro, Caio, Kauany, Bia, Malu e Gleisinho por terem sido meu porto seguro, meu suporte e meu colo, cada um atuando em uma coisinha específica para conseguir manter tudo em harmonia. Obrigada por me incentivarem, por chegarem junto, por serem alegria no fim de dias difíceis e por darem mais sentido aos dias felizes.

Agradeço também aos amigos que surgiram ao longo desse percurso e tornaram tudo mais ameno, me mostrando que uma boa graduação não se faz sem laços afetivos. Janaína, Nielly, Íris, João, Luana, Zé, Duda e Mari, vocês me deram muito amor e muito fôlego!

À professora Érika, minha eterna orientadora, meu muitíssimo obrigada por ter sido tão presente e especial no meu caminho até aqui. Essa trajetória não seria possível sem você, sem os seus conselhos, o seu dom de ensinar, a sua competência e o seu comprometimento com a docência. Vou levar tudo isso para toda a vida e tenho muito orgulho de tê-la como minha orientadora de TCC, monitoria e iniciação científica.

Aos membros da minha banca, André e Professora Betânia, muito obrigada por aceitarem o meu convite, por me ensinarem tanto e contribuírem com mais um passo na minha vida profissional.

Aproveito para agradecer também a outros queridos professores que passaram pela minha graduação sendo fonte de carinho e admiração, em especial Professora Jaqueline, Professora Daniela, professora Márcia, professor Gustavo, professor André Mariano, professor José Wilton e professora Andrea Alice.

Aos membros do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas, onde eu despertei a paixão pela Medicina Veterinária Preventiva, toda minha admiração e meu respeito por cada um de vocês que tanto estiveram presentes ao longo dessa trajetória me inspirando e me ensinando. Sou muito grata por esse vínculo com cada um e por todos terem contribuído de alguma forma com a realização deste trabalho. Agradeço especialmente à Gabi, por ter sido minha

supervisora de estágio durante a primeira etapa do ESO e por ter me ensinado tantas coisas com muita didática e carinho.

Ainda do laboratório, Emmylly, Geovana, Rafaela, Alice, Larissa e Hannah... sério! Como expressar tanta gratidão? Obrigada por serem tão companheiras e tão cuidadosas com o nosso grupo e nossos sonhos! Vocês estão muito presentes em cada detalhe desse TCC.

Agradeço também à Marcella, Duda e Gustavo por terem sido parceiros nas tantas horas de laboratório que passamos juntos e por me ajudarem a gerar os resultados do meu projeto tão querido com Leptospirose.

Muito obrigada Claudinha e sua família, por fazerem eu me sentir em casa na Universidade, por cuidarem tão bem de mim e nunca me deixarem na mão em meio ao caos da vida acadêmica. Agradeço também a Milton, por sempre estar por perto em tantas fases desses 6 anos tornando tudo possível e mais leve. Nunca me senti sozinha por saber que eu tinha para onde correr e a quem procurar! Espero um dia poder retribuir na mesma proporção todo esse amor que eu recebi de vocês.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, muito obrigada por ser o meu lar e fonte de tantos sonhos. Foi nessa Instituição onde eu me formei e me vi crescer, e é nela que está o ninho para onde eu vou querer voar de volta ao final de cada ciclo.

A todos os membros que compõem o Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da Universidade Federal da Bahia, onde fui tão bem recebida e acolhida por cada um e pude fazer amizades que carrego com muito carinho. Sou muito grata à Lorena e à Nanda, não só pelo aprendizado que construímos juntas no laboratório, mas também por serem a minha família em Salvador e por terem desde o início incentivado o meu sonho de morar na Bahia e estudar na UFBA. Tudo fez muito mais sentido quando cheguei e pude dividir os dias com elas. Também agradeço especialmente ao professor José Givanildo por ter me acolhido ao aceitar o convite para ser meu supervisor de estágio na segunda etapa do meu ESO e, dessa forma, ter agregado tanto na minha formação como médica veterinária.

A Mônica, meus sinceros agradecimentos por ter me recebido em Salvador com tanto carinho que até fez eu me esquecer que estava longe de casa. Levo no coração todo o cuidado, a atenção e a gentileza comigo.

Obrigada à toda a equipe da Clínica Veterinária de Olinda por terem sido a minha primeira experiência profissional fora da Universidade, sem vocês eu não teria conquistado boa parte do que alcancei até hoje! Agradeço à Andrea Cruz por ter sido a primeira a acreditar em mim e por me ensinar desde o básico, como aferir uma temperatura, até o mais complexo, que é

essa coisa de ter foco e sonhar alto! Ao Dr. João Emílio, meus mais sinceros agradecimentos por ter me recebido em sua clínica e por ser uma pessoa tão iluminada em meio a nossa profissão. Sou muito grata por ter tido a oportunidade de aprender tanto com um dos maiores médicos veterinários desse país. A Renata, Yasmin e Giovana, minhas parceiras que tornaram os anos de estágio mais proveitosos, leves e felizes, e que estiveram presentes em tantos momentos delicados e importantes sem soltar a minha mão, muito obrigada!

A Sayuri, por acompanhar o meu crescimento pessoal e profissional durante toda a minha graduação, por cuidar de mim, me ensinar a ter coragem nos dias difíceis e a enxergar beleza nas pequenas-grandes conquistas.

À Flora, Jandira e Fred, meus grandes amores, obrigada por nutrirem de afeto os meus sonhos e por estarem presentes em cada pedacinho da profissional que venho me tornando. Sempre procurei me qualificar por amor ao que faço, e esse amor tem raízes no que sinto por vocês desde quando eu era só uma criança.

Por último, e não menos importante, meus mais sinceros agradecimentos a todos os animais que já passaram pela minha vida nesses últimos seis anos. Aos que seguem aqui, aos que já partiram, aos que passaram pouco tempo comigo e aos que me marcaram por semanas seguidas. Eu guardo memórias de todos vocês, dos seus cheirinhos, das suas histórias e das suas famílias. Eu viveria tudo de novo e faria tudo novamente.

Pouco seria de mim sem esse coletivo de amores que me acompanham nessa vida. Não consigo olhar para trás sem enxergá-los nesses últimos 6 anos.

A todos vocês, meu muito obrigada!

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01	Sala principal do setor de microbiologia. (A) Bancada para atividades bacteriológicas. (B) Bancada para atividades fúngicas .....	20
FIGURA 02	Cabine de fluxo laminar .....	20
FIGURA 03	Área de sorologia e biologia molecular. (A) Vista de entrada. (B) Vista lateral .....	21
FIGURA 04	Setor de Leptospirose do LDIC .....	22
FIGURA 05	Microscopia de campo escuro .....	22
FIGURA 06	Espaços comuns do LaITLácteos .....	24
FIGURA 07	Área restrita para análises microbiológicas dos produtos lácteos .....	24
FIGURA 08	Contagem padrão em placa em aparelho contador de colônias microbianas .....	25
FIGURA 09	(A) Crioscópio digital. (B) Soluções-padrão para calibração .....	25
FIGURA 10	Analizador automático de leite (Lactoscan®) .....	26
FIGURA 11	Viscosímetro digital .....	26
FIGURA 12	Preparo de meio de cultura estéril em cabine de fluxo laminar .....	28
FIGURA 13	Realização de exame de urocultura a partir de amostra de urina .....	29
FIGURA 14	Transferência de amostra de DNA amplificado para cuba de eletroforese para execução da Técnica de Eletroforese em Gel de Agarose após realização de PCR .....	31
FIGURA 15	Culturas vivas de <i>Leptospira</i> spp. mantidas em estufa bacteriológica .....	32

FIGURA 16	Alíquotas de culturas de <i>Leptospira</i> spp. em lâmina de microscopia para avaliação em microscópio de campo escuro .....	34
FIGURA 17	Estirpes de <i>Leptospira</i> spp. armazenadas em nitrogênio líquido a -196°C .....	35
FIGURA 18	Etapas para a realização da SAM .....	36
FIGURA 19	Reação de aglutinação em diferentes titulações. (A) Diluição 1:200. (B) Diluição 1:400. (C) Diluição 1:800 ...	37
FIGURA 20	Cultivo de <i>Escherichia coli</i> em Ágar L-EMB .....	38

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Atividades e técnicas acompanhadas durante o período de Estágio no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE .....	27
TABELA 2	Amostras processadas durante o período de Estágio no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE .....	30
TABELA 3	Análises físico-químicas acompanhadas durante o período de Estágio no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA .....	39
TABELA 4	Análises microbiológicas acompanhadas durante o período de Estágio no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA .....	40
TABELA 5	Resultado do teste de Soroaglutinação Microscópica para detecção de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> spp. em amostra de soro sanguíneo de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE .....	55

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	Variedade de produtos analisados durante o período de Estágio no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA .....	40
-----------	--	----

## RESUMO

Sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Érika Fernanda Torres Samico Fernandes, o presente trabalho tem como objetivo relatar e discutir as atividades desenvolvidas durante a realização do Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), disciplina essencial para a conclusão do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Durante o período de 01 de abril de 2024 a 30 de abril de 2024, o estágio foi realizado no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE, com ênfase em microbiologia, doenças infecciosas de etiologia bacteriana e foco especial no estudo e diagnóstico laboratorial da leptospirose. A experiência possibilitou ainda a escrita de um artigo científico voltado para o levantamento sorológico de *Leptospira* spp. em cães (*Canis familiaris*) atendidos no Hospital Veterinário Universitário da UFRPE, localizado na Região Metropolitana do Recife. Em seguida, no período de 15 de maio de 2024 a 28 de junho 2024, deu-se continuidade ao estágio no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da Universidade Federal da Bahia (UFBA), onde foi possível vivenciar uma rotina voltada para as análises físico-químicas e microbiológicas do leite e derivados lácteos, além de atividades de pesquisa direcionadas ao estudo da mastite em ruminantes, objetivando também promover assistência técnica às indústrias de laticínios e aos produtores rurais do Estado da Bahia. A carga horária cumprida na disciplina de ESO proporcionou unir a teoria à prática, ampliando o aprendizado sobre as práticas laboratoriais aplicadas às doenças infecciosas e à inspeção dos produtos lácteos de origem animal, fortalecendo assim a formação acadêmica com ênfase em Medicina Veterinária Preventiva, área profissional de grande relevância no contexto da Saúde Única.

**Palavras-chaves:** Doenças infecciosas; Inspeção de produtos lácteos; Leptospirose; Mastite; Microbiologia.

## ABSTRACT

Under the guidance of Prof. Dr. Érika Fernanda Torres Samico Fernandes, the present work aims to report and discuss the activities developed during the Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), an essential subject for the completion of the Veterinary Medicine course at the Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). During the period from April 1, 2024, to April 30, 2024, the internship was carried out at the UFRPE Infectious Diseases Laboratory, with an emphasis on microbiology, infectious diseases of bacterial etiology and a special focus on the study and laboratory diagnosis of leptospirosis. The experience also made it possible to write a scientific article focused on the serological survey of *Leptospira* spp. in dogs (*Canis familiaris*) treated at the Hospital Veterinário Universitário of UFRPE, located in the Metropolitan Region of Recife. Then, from May 15, 2024, to June 28, 2024, the internship continued at the Laboratory of Inspection and Technology of Milk and Derivatives at the Universidade Federal da Bahia (UFBA), where it was possible to experience a routine focused on physical-chemical and microbiological analysis of milk and dairy products, in addition to research activities aimed at studying mastitis in ruminants, also aiming to promote technical assistance to the dairy industries and rural producers in the State of Bahia. The course load completed in the ESO discipline made it possible to combine theory with practice, expanding learning about laboratory practices applied to infectious diseases and the inspection of dairy products of animal origin, thus strengthening academic training with an emphasis on Preventive Veterinary Medicine, a professional area of great relevance in the context of One Health.

**Keywords:** Dairy product inspection; Infectious diseases; Leptospirosis; Mastitis; Microbiology.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>17</b>
	<b>RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO</b>	
	<b>OBRIGATÓRIO .....</b>	<b>17</b>
<b>1.1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>18</b>
<b>1.2</b>	<b>Descrição dos locais de estágio .....</b>	<b>19</b>
	1.2.1 Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC) do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DMV-UFRPE) .....	19
	1.2.2 Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados (LaITLácteos) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (EMEVZ-UFBA) .....	23
<b>1.3</b>	<b>Descrição das atividades acompanhadas no LDIC .....</b>	<b>26</b>
	1.3.1 Casuística .....	26
	1.3.2 Rotina no Laboratório de Leptospirose .....	33
	1.3.2.1 Cultivo, manutenção, avaliação e congelamento de <i>Leptospira</i> spp. ....	33
	1.3.2.2 Soroaglutinação Microscópica (SAM) .....	36
<b>1.4</b>	<b>Descrição das atividades acompanhadas no LaITLácteos .....</b>	<b>38</b>
	1.4.1 Análises físico-químicas e microbiológicas de leites e derivados lácteos .....	38
	1.4.2 Outras atividades desenvolvidas .....	42
<b>1.5</b>	<b>Discussão das atividades acompanhadas .....</b>	<b>43</b>
	1.5.1 Discussão das atividades acompanhadas no LDIC .....	43
	1.5.2 Discussão das atividades acompanhadas no LaITLácteos .....	46
<b>2.</b>	<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>50</b>
	<b>LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE <i>Leptospira</i> spp. EM CÃES (<i>Canis familiaris</i>) ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIO (HVU) DA UFRPE,</b>	

	<b>PERNAMBUCO, BRASIL .....</b>	<b>50</b>
<b>2.1</b>	<b>Resumo .....</b>	<b>51</b>
<b>2.2</b>	<b>Introdução .....</b>	<b>53</b>
<b>2.3</b>	<b>Material e Métodos .....</b>	<b>54</b>
<b>2.4</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>55</b>
<b>2.5</b>	<b>Discussão .....</b>	<b>57</b>
<b>2.6</b>	<b>Conclusão .....</b>	<b>61</b>
<b>3.</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>61</b>
<b>4.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>62</b>

## **CAPÍTULO I**

### **RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO**

# **1. CAPÍTULO I**

## **1.1 Introdução**

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) é uma disciplina obrigatória do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária da UFRPE e tem como objetivo proporcionar aos estudantes uma oportunidade prática que auxilia no preparo para o mercado de trabalho, oferecendo também uma chance de conhecer novas instituições e assim complementar o aprendizado adquirido na Universidade de origem. A disciplina possui uma carga horária total de 420 horas a serem cumpridas.

Sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Érika Fernanda Torres Samico Fernandes, esta carga horária foi cumprida no presente ESO por meio de dois períodos de vivência distintos, realizados separadamente em duas instituições. Durante o período de 01 de abril a 30 de abril de 2024, o estágio foi realizado no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC) da UFRPE, sob supervisão da Médica Veterinária e doutoranda Gabriela Gonçalves da Silva, e durante o período de 15 de maio a 28 de junho de 2024, o estágio foi realizado no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados (LaITLácteos) da UFBA, sob supervisão do Prof<sup>o</sup>. Dr. José Givanildo da Silva.

A vivência no LDIC possibilitou acompanhar principalmente a rotina do setor de microbiologia, que realiza o recebimento e processamento de amostras biológicas provenientes de animais atendidos no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da UFRPE. Além disso, o estágio proporcionou a participação no andamento de atividades direcionadas às diversas enfermidades infecciosas que acometem os animais domésticos, dentre elas a leptospirose, por exemplo.

Já no LaITLácteos, foi possível participar de uma rotina com ênfase em análises físico-químicas e microbiológicas do leite e dos derivados lácteos, sob a ótica da inspeção destes alimentos, incluindo ainda a pesquisa de fraudes nestes produtos. O período de estágio também possibilitou acompanhar atividades voltadas para a assistência técnica aos produtores rurais do estado, às empresas privadas de laticínios e à Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB).

A realização do ESO nestes dois locais teve como intuito integrar as experiências em microbiologia, doenças infecciosas e o trabalho com os alimentos de origem animal, sendo um período de vivência que se mostrou enriquecedor sob o ponto de vista do diagnóstico laboratorial, da epidemiologia das enfermidades infectocontagiosas e da inspeção de produtos lácteos, sendo esta última uma atribuição exclusiva do Médico Veterinário. A experiência

contribuiu para aprimorar a capacitação acadêmica, científica e profissional, além de favorecer o preparo para o cotidiano no mercado de trabalho.

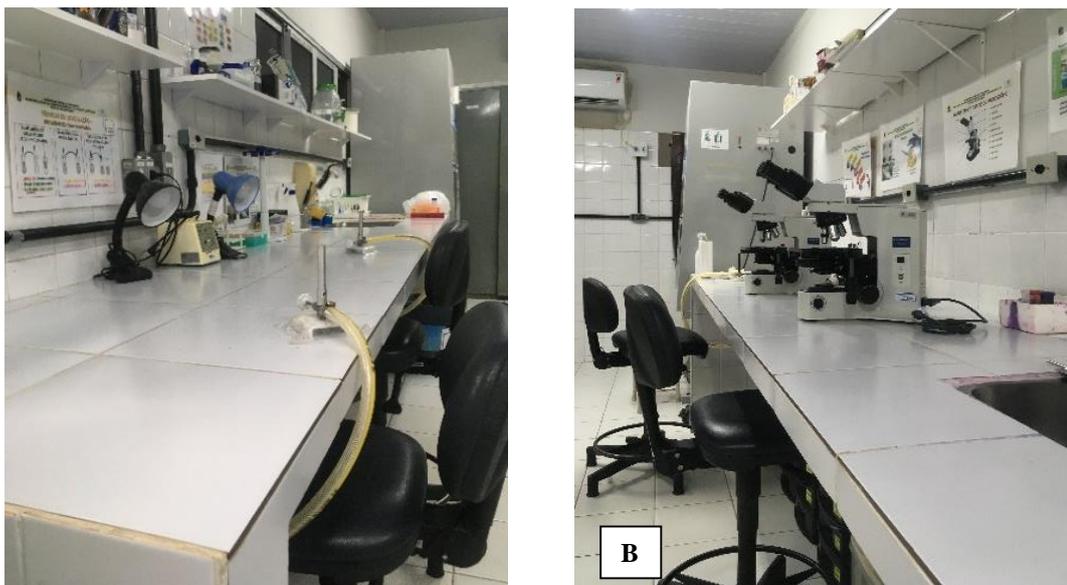
## **1.2 Descrição dos locais de estágio**

### **1.2.1 Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LDIC) do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (DMV-UFRPE)**

O Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE é vinculado ao Departamento de Medicina Veterinária, situado no bairro de Dois Irmãos, em Recife, Pernambuco. O laboratório é coordenado pelo Prof. Dr. Rinaldo Mota e pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Érika Samico, e conta com uma equipe composta por três técnicos de laboratório com formação em Medicina Veterinária, estudantes de graduação envolvidos com projetos de iniciação científica e/ou extensão, além dos discentes de pós-graduação, incluindo residentes, alunos de mestrado e doutorado e pós-doutorado.

O LDIC contempla uma rotina voltada para a realização do diagnóstico microbiológico de agentes bacterianos e fúngicos, além de atividades associadas às análises sorológicas e moleculares. Para manter tais atividades, o laboratório é subdividido em três áreas: área de microbiologia, área de sorologia e biologia molecular e área de leptospirose.

Na área de microbiologia, o laboratório possui uma sala principal estruturada com duas bancadas, sendo uma para as demandas bacteriológicas e outra para as fúngicas (figura 01). As bancadas são equipadas com bicos de Bunsen, microscópios, luminárias e vórtex. A sala principal também conta com duas pias, sendo uma delas destinada à realização dos métodos de caracterização morfotintorial, como a coloração de Gram. Existem também quatro geladeiras onde são armazenados separadamente antibióticos, meios de cultura estéreis, amostras biológicas e culturas bacterianas em processamento. Para a manipulação desses materiais, a sala conta com duas cabines de fluxo laminar equipadas com iluminação ultravioleta (UV) germicida (figura 02). Além disso, as amostras em incubação são acondicionadas em estufas, sendo uma estufa bacteriológica e uma estufa fúngica.



**Figura 01.** Sala principal do setor de microbiologia. (A) Bancada para atividades bacteriológicas. (B) Bancada para atividades fúngicas.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).



**Figura 02.** Cabine de fluxo laminar.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Além da sala principal, há uma sala paralela designada para descontaminação e esterilização, sendo um ambiente equipado com duas autoclaves para estes fins, respectivamente. Além disso, o ambiente conta com mais uma cabine de fluxo laminar,

utilizada especificamente para manuseio de materiais estéreis. A sala também dispõe de outros equipamentos, como estufa de secagem, aparelho destilador de água e balança de precisão.

Na área de sorologia e biologia molecular (figura 03) o LDIC conta com cinco salas separadas, sendo uma delas exclusiva para as análises sorológicas envolvendo estudos com *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI); outra restrita para análises moleculares através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e da PCR em Tempo Real (RT-PCR); outra destinada apenas às práticas de extração de DNA; outra reservada para atividades de eletroforese em gel; e uma última específica para atividades de cultivo celular, cujo objetivo é garantir a conservação, análise e produção de antígenos de importância para técnicas sorológicas realizadas.



**Figura 03.** Área de sorologia e biologia molecular. (A) Vista de entrada. (B) Vista lateral.

Fonte: Fotografias cedidas pela M.V. Emmylly Lima – UFRPE (2024).

Para manter estas demandas, este setor é estruturado e equipado com aparelhos destilador e purificador de água, refrigeradores, centrífugas, estufas, incubadora com agitação orbital, microscópios convencionais e invertidos, cabines de fluxo laminar, vórtex, aparelho de banho-seco digital, pHmetro digital, termociclador para realização de PCR convencional e RT-PCR, espectrofotômetro para quantificação de DNA e fotodocumentador para gel de eletroforese.

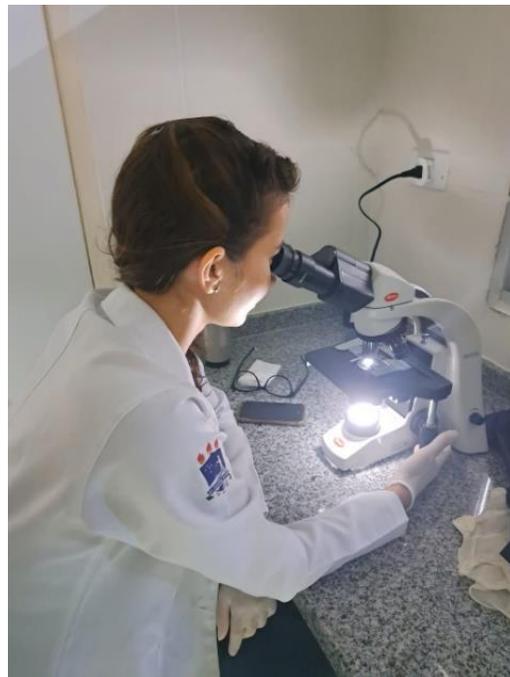
Por fim, a área destinada ao setor de leptospirose (figura 04), conta com uma sala principal que dispõe de duas estufas; uma é utilizada apenas para o armazenamento e manutenção das culturas bacterianas, enquanto a outra é utilizada para a incubação das placas de sorologia durante a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Para a manipulação das culturas, a sala dispõe de uma cabine de fluxo equipada com iluminação UV germicida, e para a avaliação microscópica das culturas e também a leitura dos testes de SAM o laboratório

conta com um microscópio de campo escuro (figura 05). O espaço é equipado ainda com uma geladeira na qual são armazenados meios de cultura e suplementos específicos para as práticas com leptospirose, além de materiais biológicos incluindo amostras congeladas de soro sanguíneo. À parte, algumas estirpes de *Leptospira* spp. selecionadas são mantidas conservadas em um botijão de nitrogênio líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 04.** Setor de Leptospirose do LDIC.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).



**Figura 05.** Microscopia de campo escuro.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

### **1.2.2 Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados (LaITLácteos) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (EMEVZ-UFBA)**

O Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA é vinculado à Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Instituição, localizada no bairro de Ondina, na cidade de Salvador, Bahia. É coordenado pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marion Costa e pelo Prof. Dr. José Givanildo da Silva, e conta com uma equipe composta por três técnicos de laboratório - sendo um de nível superior com formação em Medicina Veterinária e dois de nível médio, estudantes de graduação envolvidos com projetos de iniciação científica e extensão e estudantes de pós-graduação, incluindo mestrandos e doutorandos.

A rotina do LaITLácteos é voltada para o trabalho com amostras internas, relativas aos projetos de pesquisa em andamento, e amostras externas, enviadas por empresas particulares de laticínios e também pela Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB). O laboratório realiza diariamente análises físico-químicas e microbiológicas, bem como pesquisa de fraudes, em amostras que incluem leite cru refrigerado, leite pasteurizado, queijo mussarela, queijo prato, queijo de coalho, queijo parmesão, queijo Minas padrão, queijo Minas frescal, queijo provolone, queijo do reino, queijo tropical, queijos artesanais, queijo cottage, ricota, requeijão, creme de leite pasteurizado, bebida láctea fermentada, iogurte, doce de leite e manteiga. Os produtos podem ser provenientes das espécies bovina, caprina ou bubalina, embora sejam predominantes os produtos de origem bovina.

Para manter estas atividades, o LaITLácteos é estruturado em espaços comuns (figura 06) designados para a tecnologia e as análises físico-químicas dos produtos lácteos, além de uma área restrita para as análises microbiológicas (figura 07), com o objetivo de evitar a contaminação dos produtos e assim prevenir o comprometimento dos resultados emitidos. Ademais, há um espaço específico para descontaminação e esterilização.



**Figura 06.** Espaços comuns e equipamentos do LaITLácteos.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

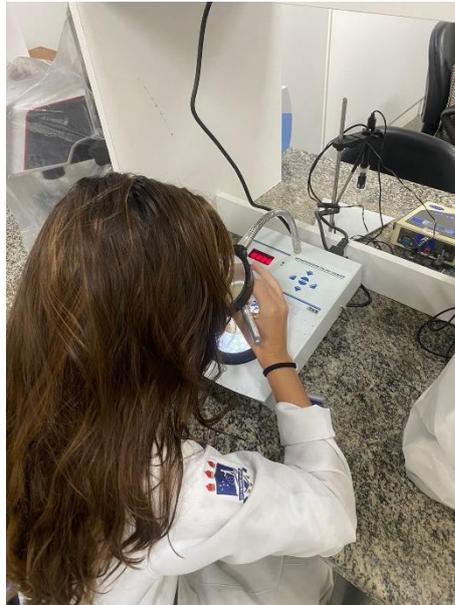


**Figura 07.** Área restrita para análises microbiológicas dos produtos lácteos.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Nesses ambientes, o laboratório possui equipamentos que incluem balanças analíticas e de precisão, microondas, freezers, Incubadora Demanda Bioquímica de Oxigênio (D.B.O), estufa de secagem, estufas bacteriológicas - sendo uma específica para análises microbiológicas de *Salmonella* spp. e outra específica para pesquisa de *Listeria* spp., dessecadores de vidro, capela de exaustão, equipamentos de banho-maria, muflas, analisador de umidade, centrífuga para butirômetro (método de Gerber), aparelho contador de colônias

microbianas (figura 08), microscópios eletrônicos, crioscópio digital (figura 09), analisador automático de leite (modelo Lactoscan®) (figura 10), viscosímetro digital (figura 11), pHmetro digital, aparelho destilador de água e autoclaves distintas para descontaminação e esterilização.



**Figura 08.** Contagem padrão em placa em aparelho contador de colônias microbianas.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).



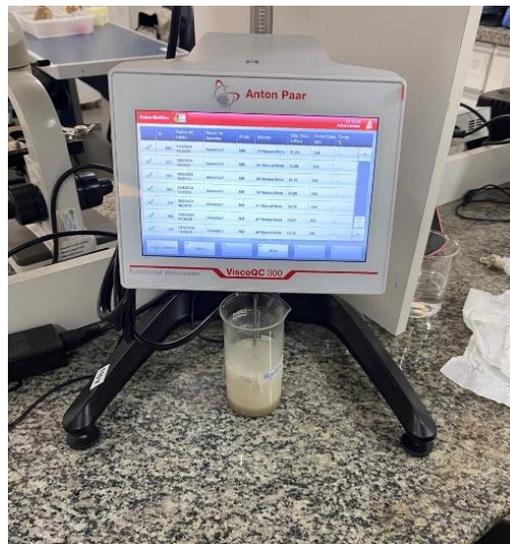
**Figura 09.** (A) Crioscópio digital. (B) Soluções-padrão para calibração.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).



**Figura 10.** Analisador automático de leite (Lactoscan®).

Fonte: Arquivo pessoal (2024).



**Figura 11.** Viscosímetro digital.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

### **1.3 Descrição das atividades acompanhadas no LDIC**

#### **1.3.1 Casuística**

Durante o período de vivência no LDIC, o foco do estágio foram as rotinas dos setores de microbiologia e leptospirose, embora tenha sido possível acompanhar também atividades envolvendo as técnicas de RIFI, PCR e Eletroforese em Gel de Agarose. A relação de todas as atividades e técnicas acompanhadas durante o período de 01 a 30 de abril de 2024 está descrita na tabela 1.

**Tabela 1.** Atividades e técnicas acompanhadas durante o período de Estágio no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE.

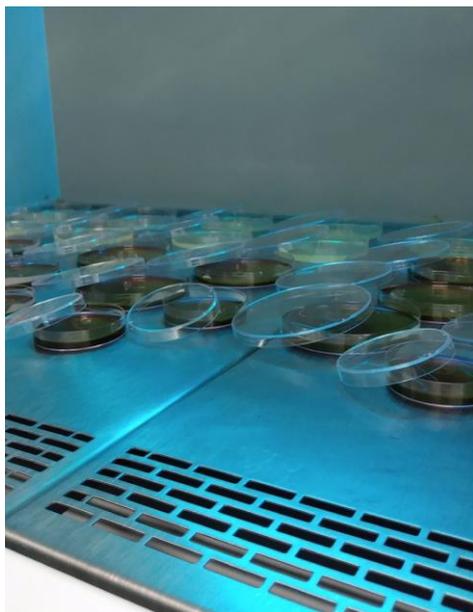
<b>Atividade</b>	<b>Amostras processadas</b>	<b>Porcentagem</b>
Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	146	71,92%
Técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM)	42	20,69%
Exame bacteriológico*	11	5,42%
Cultura fúngica	1	0,49%
Pesquisa de espiroquetas em microscopia de campo escuro	1	0,49%
Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	1	0,49%
Eletrofose em Gel de Agarose	1	0,49%
<b>Total</b>	<b>203</b>	<b>100%</b>

\*Considera-se que um exame bacteriológico inclui as etapas de cultura bacteriana, provas bioquímicas (quando necessário) e exame de antibiograma. Fonte: elaborado pela autora (2024).

Dentre as análises sorológicas, foi possível acompanhar a realização da técnica de RIFI para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em amostras de soro sanguíneo de caprinos (*Capra hircus*) e ovinos (*Ovis aries*) provenientes de um município da região Agreste de Pernambuco. Neste caso, foram processadas 146 amostras, sendo 88 da espécie ovina, das quais 8 foram reagentes para anticorpos anti-*T.gondii*, e 58 da espécie caprina, das quais 6 foram reagentes.

Além disso, com relação à sorologia envolvendo a técnica de SAM, foi realizada a titulação para 42 amostras de soro sanguíneo de cães domésticos (*Canis familiaris*), viabilizando a elaboração de um artigo científico que teve como objetivo verificar a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. nas amostras trabalhadas. Informações sobre a metodologia utilizada, bem como os resultados obtidos estão descritos no capítulo 2.

Quanto ao setor de microbiologia, a rotina acompanhava a demanda dos atendimentos clínicos do Hospital Veterinário Universitário da UFRPE. Assim, foi possível acompanhar o recebimento e processamento de amostras biológicas provenientes de animais atendidos no HVU, incluindo pacientes carnívoros, ruminantes, equídeos e também algumas aves. Além disso, havia também o recebimento de amostras provenientes de coletas de material a campo, vinculadas às pesquisas em andamento e às consultorias técnicas. Para manter o andamento destas atividades, também eram cotidianas as práticas voltadas para o preparo de meios de cultura (figura 12), além das atribuições quanto à descontaminação e esterilização de materiais biológicos e equipamentos de laboratório.

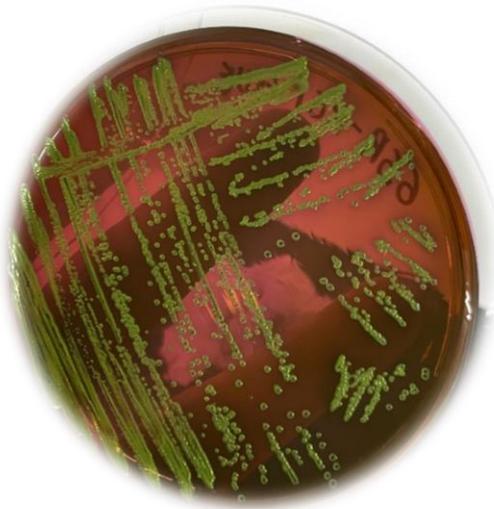


**Figura 12.** Preparo de meio de cultura estéril em cabine de fluxo laminar.

Fonte: Fotografia cedida por Geovania Gonçalves - UFRPE (2024).

Antes de um material biológico ser processado no laboratório, o fluxograma para o recebimento da amostra incluía primeiramente a verificação dos dados contidos na requisição dos exames a fim de confirmar se esta foi preenchida corretamente e se o material foi enviado de maneira adequada, seguido então do registro da requisição nos cadernos de controle para exames bacteriológicos e exames fúngicos. Além disso, para todas as etapas de processamento, seguiam-se as recomendações descritas no Procedimento Operacional Padrão (POP) elaborado pela equipe do laboratório.

Para uma amostra em que foi solicitada a avaliação bacteriológica, o processamento geralmente envolvia a realização de cultura bacteriana acompanhada do exame de antibiograma. Para isso, cada tipo de material biológico era processado inicialmente em meios de cultura específicos, os quais variavam entre Ágar Base acrescido de 5% de sangue ovino, Ágar MacConkey, Ágar Cled, Ágar Brain-Heart-Infusion (BHI) e caldo BHI, sendo estes os mais utilizados na rotina do laboratório, embora outros meios fossem preparados quando necessário, mediante demandas específicas, como é o caso do Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB), utilizado para as atividades que envolviam a diferenciação e o estudo de enterobactérias fermentadoras de lactose, como por exemplo *Escherichia coli* (figura 13). Além disso, também havia uma rotina de preparo do Ágar Müller-Hinton, utilizado para a realização de exames de antibiograma.



**Figura 13.** Cultivo de *Escherichia coli* em Ágar L-EMB.

Fonte: Fotografia cedida pelo M.V. Guilherme Valeriano – UFRPE (2024).

Após uma amostra biológica ser plaqueada no meio de cultura escolhido e incubada em estufa bacteriológica a 37°C, esperava-se de 24 a 72 horas e, havendo crescimento microbiano, era possível suceder com as demais etapas envolvendo o isolamento e a identificação dos microrganismos, como por exemplo, a caracterização morfotintorial através do método de coloração de Gram.

As amostras recebidas durante o período do estágio variaram entre urina, punção nodular, swab de lesão, swab otológico, sêmen e pelo. Conforme descrito na tabela 2, o tipo mais frequente de amostra biológica recebida durante este período foi urina, sendo a urocultura (figura 14) o exame predominante dentre os exames realizados.

**Tabela 2.** Amostras processadas durante o período de Estágio no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE.

<b>Amostra recebida</b>	<b>Espécie animal</b>	<b>Suspeita clínica</b>	<b>Exame realizado</b>	<b>Resultado da cultura</b>
Urina	Felino ( <i>Felis catus</i> )	Infecção do trato urinário (ITU)	Cultura bacteriana	Crescimento <i>Klebsiella</i> sp.
Urina	Cão doméstico ( <i>canis familiaris</i> )	ITU e Pielonefrite	Cultura bacteriana	Crescimento de <i>Pseudomonas</i> sp.
Urina	Cão doméstico ( <i>canis familiaris</i> )	Cistite bacteriana	Cultura bacteriana	Sem crescimento
Urina	Cão doméstico ( <i>canis familiaris</i> )	Cistite bacteriana	Cultura bacteriana	Sem crescimento
Punção nodular	Papagaio-verdadeiro ( <i>Amazona aestiva</i> )	Abscesso infeccioso	Cultura bacteriana	Sem crescimento
Punção nodular	Ganso-comum-ocidental ( <i>Anser anser</i> )	Osteomielite	Cultura bacteriana	Crescimento de <i>Bacillus</i> sp. e <i>Corynebacterium</i> sp.
Swab de lesão	Equino ( <i>Equus caballus</i> )	Dermatite alérgica por picada de ectoparasitas	Cultura bacteriana	Amostra contaminada
Swab de lesão	Cão doméstico ( <i>canis familiaris</i> )	Piodermite	Cultura bacteriana	<i>Staphylococcus</i> sp.
Swab otológico	Cão doméstico ( <i>canis familiaris</i> )	Infecção estafilocócica	Cultura bacteriana	<i>Staphylococcus</i> sp.
Swab otológico	Cão doméstico ( <i>canis familiaris</i> )	Infecção estafilocócica	Cultura bacteriana	Sem crescimento
Sêmen	Ovino ( <i>Ovis aries</i> )	Infecção por <i>Brucella</i> spp. e <i>Actinobacillus seminis</i>	Cultura bacteriana	Amostra contaminada
Pelo	Equino ( <i>Equus caballus</i> )	Dermatite alérgica por picada de ectoparasitas	Cultura fúngica	<i>Geotrichum</i> sp.

Fonte: elaborado pela autora (2024).



**Figura 14.** Realização de exame de urocultura a partir de amostra de urina

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Durante o período de estágio, foi possível visualizar alguns gêneros de bactérias Gram-positivas encontrados com maior frequência, como *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. Também foi comum o crescimento de agentes classificados como bacilos Gram-negativos, destacando-se as bactérias das famílias *Pseudomonadaceae* e *Enterobacteriaceae*. Havendo a confirmação de que se tratava de uma enterobactéria, uma outra etapa do fluxograma de processamento envolvia a realização de provas bioquímicas para a identificação do microrganismo.

Na rotina, foram preconizadas os seguintes testes e meios para a realização das provas bioquímicas: teste da Catalase; teste da Oxidase; Ágar Triple Sugar Iron (TSI); Ágar Citrato de Simmons; Ágar Lisina Descarboxilase (LIA); Caldo de Ureia; análise de produção de Sulfeto de Hidrogênio, Indol e presença de Motilidade no Meio SIM; prova de Vermelho de Metila (VM); prova de Vorges Proskauer (VP). Assim, a partir da realização destas provas, bem como da leitura e interpretação dos resultados dos testes realizados, era possível identificar a bactéria isolada a partir de determinada amostra recebida, emitir o laudo laboratorial e enviar ao médico veterinário solicitante.

Quanto à amostra de sêmen processada, esta foi coletada por meio de monta natural de um ovino reprodutor que apresentava distúrbios testiculares e impotência sexual do tipo *generandi*. Considerando fatores clínico-epidemiológicos do animal e da propriedade, as suspeitas clínicas eram infecções por *Brucella* spp. ou *Actinobacillus seminis*. O sêmen foi enviado ao laboratório para realização de cultura bacteriana e PCR (figura 15). A amostra foi

cultivada em Ágar Base acrescido de 5% de sangue ovino e Ágar MacConkey, em estufa à 37°C por 24 horas e em condições de anaerobiose e de microaerofilia, a fim de favorecer o crescimento dos microrganismos de interesse, considerando suas características etiológicas. Ao exame bacteriológico a amostra foi considerada como contaminada, visto que não foi possível isolar nenhum agente específico pois houve o crescimento de mais de quatro tipos de colônias bacterianas distintas, tendo em vista que a coleta foi realizada por monta natural, sendo provável a contaminação do material. As análises moleculares foram negativas para o gênero *Brucella* spp. e, por outro lado, não foi possível dar continuidade ao processamento de PCR para *Actinobacillus seminis*.



**Figura 15.** Transferência de amostra de DNA amplificado para cuba de eletroforese para execução da Técnica de Eletroforese em Gel de Agarose após realização de PCR.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Apesar de não ter sido o foco das atividades acompanhadas durante o mês de abril, também existe no LDIC uma importante rotina voltada para o diagnóstico micológico. Assim, no caso de uma amostra em que foi solicitado esse tipo de avaliação, o processamento envolvia a realização de exame direto, quando a suspeita clínica incluía dermatofitose, esporotricose ou malasseziose, seguido da cultura fúngica.

A depender do tipo de material enviado, a técnica para a execução do exame direto era a coloração da amostra através do método do Panótico Rápido, para as amostras de swab de lesão e swab otológico, ou a clarificação com KOH, para as amostras de pelo. Por outro lado, para a realização da cultura, as amostras eram plaqueadas em Ágar Mycosel, sendo esse o meio de cultura padronizado independentemente do tipo de amostra enviada, embora fosse possível também utilizar o Ágar Sabouraud em situações específicas para repiques de

culturas. Para além, alguns fungos patogênicos não se desenvolvem na presença de cicloheximida, um agente inibidor da síntese proteica, que está presente na composição do Ágar Mycosel no intuito de inibir o crescimento de fungos encontrados no ambiente.

Após o plaqueamento, as amostras eram incubadas em estufa micológica à 25°C por no mínimo sete dias, porém alguns fungos mais fastidiosos precisavam, em média, de quinze dias para crescimento. Havendo o crescimento, a leitura e a interpretação eram realizadas macro e microscopicamente, considerando as características morfológicas observadas nas culturas somado às características observadas em microscopia eletrônica e às informações clínicas repassadas pelo médico veterinário requisitante.

No caso da única amostra recebida para exame micológico, realizou-se a cultura fúngica em Ágar Mycosel. Ao exame micológico, através das características macroscópicas visualizadas, além das características microscópicas avaliadas a partir da Técnica de Fita, foi possível observar que houve o crescimento de *Geotrichum* sp., um fungo ambiental, não havendo, portanto, o crescimento de fungos de interesse clínico, como por exemplo os dermatófitos. Entretanto, é importante ressaltar que *Geotrichum* sp. pode ser um agente de relevância clínica a depender da região acometida, como é o caso de mucosas, o que não se aplica nesta situação visto que a amostra avaliada foi um fragmento de pelo.

Por fim, também foi possível acompanhar durante o período de ESO a busca para espiroquetas em microscopia de campo escuro a partir de uma amostra de urina proveniente de um cão com suspeita de leptospirose. Conforme recomendação, a coleta da urina foi feita por cistocentese, e o material foi avaliado após centrifugação, entretanto, o resultado do exame foi negativo, não tendo sido observada a presença de espiroquetas na urina do animal.

### **1.3.2 Rotina no Laboratório de Leptospirose**

#### **1.3.2.1 Cultivo, manutenção, avaliação e congelamento de *Leptospira* spp.**

Durante o período de estágio, as atividades com *Leptospira* spp. foram centralizadas na realização da técnica de Soroaglutinação Microscópica. Para isso, havia uma rotina de trabalho envolvendo a manutenção e a avaliação das culturas de *Leptospira* spp. utilizadas como antígenos para a realização do diagnóstico sorológico. As bactérias eram cultivadas e mantidas em meios líquidos em estufa bacteriológica entre 28°C a 30°C no Laboratório de Leptospirose do LDIC (figura 16). Para o cultivo, era utilizado o meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) suplementado com Difco *Leptospira* Enrichment EMJH e o meio EMJH com coquetel antimicrobiano (STAFF), o qual era empregado em culturas

com elevada contaminação, visto que é um meio composto por substâncias antifúngicas, antimicrobianas e antineoplásicas, como sulfametoxazol, trimetropim, anfotericina B, fosfomicina e 5-fluorouracil, servindo portanto como um inibidor do crescimento de microrganismos contaminantes que reduzem o potencial de crescimento de *Leptospira* spp. devido à competição por substrato.



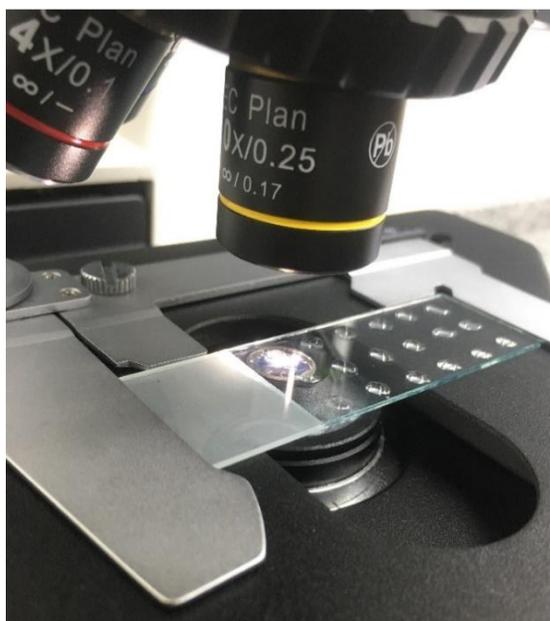
**Figura 16.** Culturas vivas de *Leptospira* spp. mantidas em estufa bacteriológica.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Para o preparo, o meio EMJH era pesado em uma balança de precisão e diluído em água destilada, e em seguida a solução era esterilizada em autoclave por 15 minutos a 121°C. Posteriormente, em cabine de fluxo laminar, adicionava-se ao meio o suplemento Difco *Leptospira* Enrichment EMJH, e em seguida toda a mistura era distribuída em tubos Falcon nos quais as culturas eram adicionadas.

Toda a manipulação das culturas era realizada sempre dentro da cabine de fluxo visando impedir as contaminações, considerando que a *Leptospira* spp. possui um crescimento fastidioso. A fim de promover a manutenção e viabilidade das estirpes de referência utilizadas para o diagnóstico sorológico, semanalmente realizava-se a avaliação das culturas. Para isso, era feito o preparo de lâminas de microscopia com uma alíquota de cada cultura (figura 17), e assim todas eram avaliadas em um microscópio de campo escuro, visto que são bactérias que não coram com o método de Gram, limitando que sejam visualizadas em microscopia comum. A avaliação era feita considerando os seguintes parâmetros:

quantidade de *Leptospira* spp., grau de contaminação e grau de aglutinação, de modo que todos os critérios eram avaliados numa escala de 0 a 4. Assim, a partir do acompanhamento do crescimento, da morfologia e da qualidade das estirpes, também eram realizados repiques quando necessário, a fim de promover a manutenção das culturas.



**Figura 17.** Alíquotas de culturas de *Leptospira* spp. em lâmina de microscopia para avaliação em microscópio de campo escuro.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

Nas avaliações, nos casos de bom crescimento de *Leptospira* spp. e pouca contaminação (4:1), eram realizados dois novos repiques em meio líquido EMJH na diluição de 1:10. Quando era observado bom crescimento de *Leptospira* spp. porém com relevante contaminação por outras bactérias (4:2, 4:3, 4:4), a cultura era submetida à filtração. Contudo, quando era visto pouco crescimento de *Leptospira* spp. (*Leptospira* spp. < 4) e um importante grau de contaminação, era feito o repique em meio líquido EMJH suplementado com coquetel STAFF.

Para a manutenção de culturas de *Leptospira* spp. de referência, era realizado o repique com base nas informações obtidas com as avaliações semanais. Porém, considerando que cada repique *in vitro* promove uma diminuição na virulência da bactéria, padronizava-se um limite de até 32 repiques. Por esse motivo, as culturas de referência só eram repicadas de acordo com a demanda e o grau de contaminação observado.

Também foi possível acompanhar o protocolo de manutenção de culturas de *Leptospira* spp. através da criopreservação. Cerca de 7 a 10 dias após o repique, as culturas

encontram-se na fase exponencial (fase Log) de crescimento, geralmente apresentando boa atividade metabólica, boa movimentação e livre de contaminantes. Assim, nesse estado algumas estirpes eram acondicionadas em criotubos e congeladas em nitrogênio líquido a -196°C (figura 18), contando com o dimetilsulfóxido (DMSO) como crioprotetor. Todos os criotubos eram devidamente identificados quanto ao sorovar em questão, data do repique realizado e número de passagens *in vitro*. Para o descongelamento, era retirado um tubo para descongelar naturalmente, e posteriormente metade da amostra era inoculada em meio EMJH e a outra metade em EMJH com STAFF.



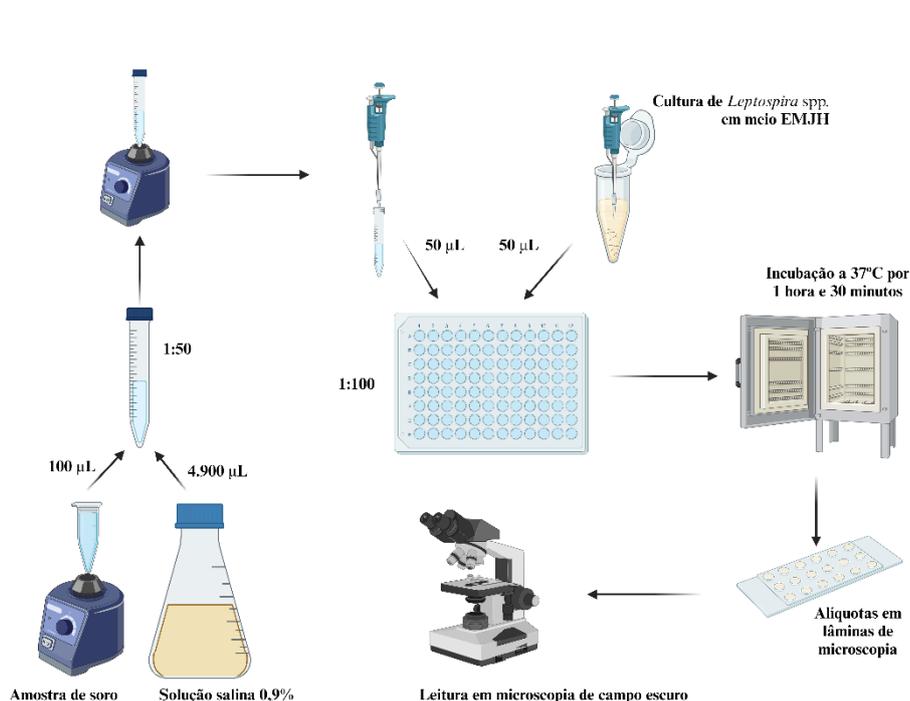
**Figura 18.** Estirpes de *Leptospira* spp. armazenadas em nitrogênio líquido a -196°C.

Fonte: Fotografia cedida pela M.V. Eduarda Faria – UFRPE (2024).

### 1.3.2.2 Soroaglutinação Microscópica (SAM)

Durante o período de ESO, as atividades acompanhadas envolvendo o diagnóstico sorológico da leptospirose possibilitaram um importante treinamento com relação à execução da técnica de SAM, para a qual é necessário o preparo adequado do antígeno e do soro do animal a ser testado, seguido da incubação e posterior leitura e interpretação dos resultados.

As culturas utilizadas como antígenos eram as culturas de referência cultivadas e avaliadas semanalmente no LDIC, sendo distintas sorologicamente e mantidas livres de contaminação e aglutinações, com o objetivo de impedir erros na interpretação dos resultados. Para a execução da prova sorológica, cujas etapas estão ilustradas na figura 19, foram utilizados como reagentes amostras de soro, baterias de culturas de *Leptospira* spp. em meio EMJH e solução salina 0,9%.



**Figura 19.** Etapas para a realização da SAM.

Fonte: Arquivo pessoal, adaptado de Biorender® (2024).

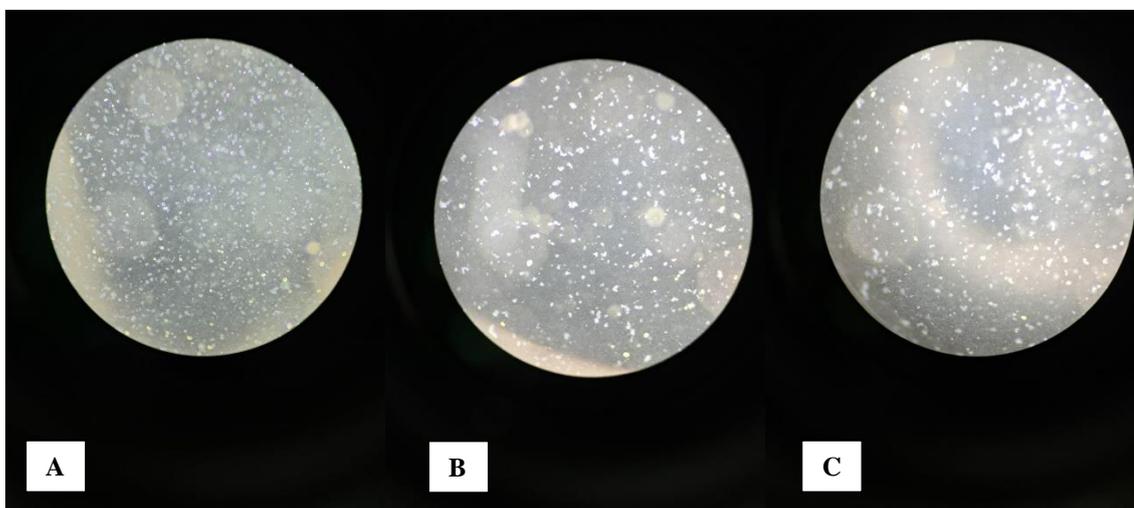
As amostras de soro a serem processadas eram retiradas do congelador, descongeladas naturalmente e logo em seguida homogeneizadas em vórtex. Para cada amostra de soro a ser analisada, era identificado e numerado um tubo de ensaio correspondente. Em cada tubo de ensaio era adicionado 4.900µL de solução salina 0,9% estéril e tamponada, e em seguida adicionava-se 100µL do soro do animal, resultando, portanto, uma diluição inicial de 1:50. Esse mesmo protocolo foi repetido para todas as amostras testadas para triagem sorológica.

Após o preparo de cada diluição de 1:50, realizava-se o preparo da placa de microaglutinação. Nos poços de cada linha horizontal da placa eram pipetados 50µL de soro diluído (1:50) referente às amostras-teste, e em seguida eram pipetados 50µL do antígeno, de modo que ao final do processo cada poço continha 100µL, resultando, assim, em uma diluição final de 1:100, utilizada como ponto de corte. Além dos poços contendo soro e suspensão antigênica, também eram preparados poços para o controle negativo, composto por 50µL da suspensão antigênica e 50µL de solução salina.

As leituras para interpretação da triagem ocorreram através de microscopia de campo escuro, após incubação das placas por uma hora e meia em estufa bacteriológica à 37°C. Consideravam-se reagentes na triagem as amostras que apresentavam aglutinação entre antígeno e anticorpo igual ou superior a 50% por campo diante da avaliação microscópica

(Pinto-Ferreira *et al.*, 2019), considerando também a quantidade de bactérias livres em comparação com os respectivos controles negativos, sendo ideal que essa quantidade estivesse diminuída à medida que as aglutinações estivessem presentes.

Através deste protocolo era possível identificar os sorovares reagentes nas provas de triagem para dar sequência às provas de titulação seriada, que foram realizadas a partir do preparo das seguintes diluições: 1:200, 1:400 e 1:800 (figura 20), sendo o maior título correspondente ao sorovar diagnosticado através da sorologia para as amostras testadas. Assim, ao longo do mês de abril, a vivência de estágio possibilitou a realização de 42 provas de SAM, todas executadas a partir de amostras de soro sanguíneo de cães atendidos no Hospital Veterinário Universitário da UFRPE.



**Figura 20.** Reação de aglutinação em diferentes titulações. (A) Diluição 1:200. (B) Diluição 1:400. (C) Diluição 1:800.

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

## **1.4 Descrição das atividades acompanhadas no LaITLácteos**

### **1.4.1 Análises físico-químicas e microbiológicas de leites e derivados lácteos**

Durante o período de vivência no LaITLácteos foi possível acompanhar diversas análises físico-químicas e microbiológicas de leites e produtos derivados, visto que o laboratório realiza o recebimento e a análise de amostras oriundas de estabelecimentos de leite e derivados de todo o estado da Bahia. O fluxograma inicial para as análises inclui o registro de recebimento, indicando se é uma amostra proveniente da ADAB ou de empresas privadas, seguido do registro da temperatura de recebimento do produto.

A depender do tipo de produto, as análises físico-químicas realizadas no laboratório incluem: índice crioscópico; água adicionada; determinação do Extrato Seco Total (EST),

Extrato Seco Desengordurado (ESD) e Matéria Gorda no Extrato Seco (MGES); testes enzimáticos para fosfatase e peroxidase; teor de lactose, proteínas, gordura, umidade, sais, cinzas e alcalinidade das cinzas; titulação da acidez; estabilidade ao alizarol 72%; solubilidade no éter etílico 2%; e densidade relativa a 15°C, seguindo as recomendações oficiais do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) (Brasil, 2022).

Já com relação às análises microbiológicas, é possível realizar a avaliação presuntiva da presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes, bem como sua contagem; contagem de enterobactérias; contagem de bactérias ácido-lácticas (BAL); contagem de estafilococos coagulase positivo; contagem de bolores e leveduras e; pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Para cada tipo de produto, há um protocolo de acordo com o Manual de Métodos Oficiais para Análises de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura e Pecuária (Brasil, 2022), designando os tipos de análises microbiológicas que serão realizadas dentre as mencionadas.

Nesse sentido, considerando que para cada tipo de produto podem ser realizadas diversas avaliações seguindo as recomendações técnicas, a descrição e o quantitativo das análises físico-químicas e microbiológicas acompanhadas durante o período de 15 de maio a 28 de junho de 2024 está descrita nas tabelas 3 e 4, respectivamente, enquanto que no gráfico 1 é possível visualizar a variedade de produtos analisados durante este período.

**Tabela 3.** Análises físico-químicas acompanhadas durante o período de Estágio no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA.

Análises físico-químicas	Quantidade
Umidade	4
Gordura	4
Teor de sais	2
Teor de lactose	2
Teor de proteínas	2
Densidade	2
Ponto de congelamento	2
Água adicionada	2
ESD	2
<b>Total</b>	<b>22</b>

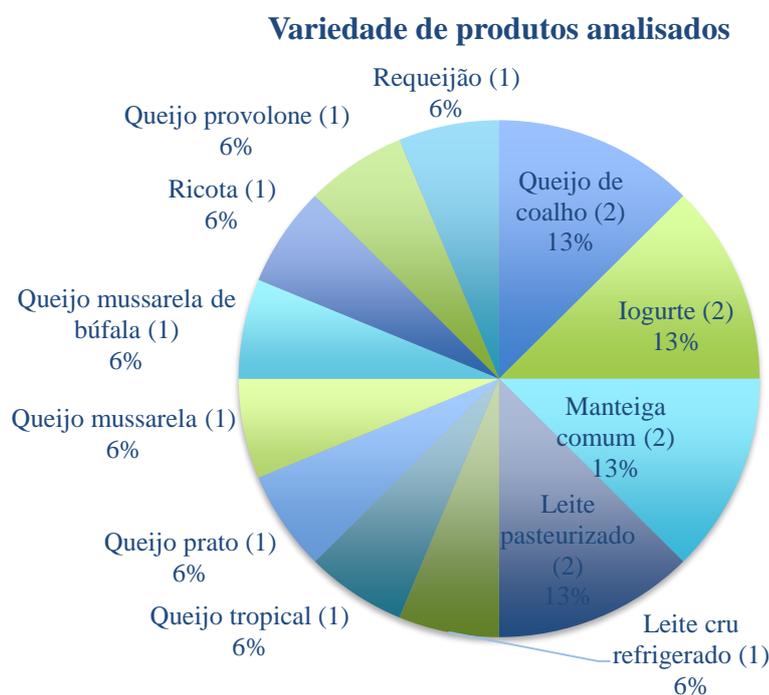
Fonte: elaborado pela autora (2024).

**Tabela 4.** Análises microbiológicas acompanhadas durante o período de Estágio no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA.

Análises microbiológicas	Quantidade
Presença de coliformes (avaliação presuntiva)	9
Contagem de coliformes totais	9
Contagem de coliformes termotolerantes	9
Contagem de estafilococos coagulase positivo	8
Contagem de bactérias ácido-lácticas	2
Contagem de enterobactérias	2
Contagem de bolores e leveduras	3
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	7
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6
<b>Total</b>	<b>55</b>

Fonte: elaborado pela autora (2024).

**Gráfico 1.** Variedade de produtos analisados durante o período de Estágio no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA.



Fonte: elaborado pela autora (2024).

Durante o estágio, procurou-se dar ênfase ao acompanhamento das análises microbiológicas, sendo possível utilizar o leite pasteurizado, o queijo coalho e o iogurte como exemplos de produtos cujas análises preconizadas são capazes de explicar de forma geral

todos os tipos de avaliações microbiológicas que são feitas no laboratório, possibilitando assim uma descrição completa das avaliações realizadas nos produtos durante o período de ESO.

Para a análise microbiológica das amostras de leite pasteurizado, de acordo com a Instrução Normativa N°76, de 26 de novembro de 2018 e a Instrução Normativa N°58, de 6 de novembro de 2019 do MAPA, a pesquisa realizada foi a contagem de bactérias da família *Enterobacteriaceae* (Brasil, 2018; Brasil, 2019). A quantificação foi realizada pelo método de contagem em placas, e o meio de cultivo utilizado foi o ágar Bile Vermelho Violeta Glicose (VRBG). O processamento foi realizado a partir da diluição seriada da amostra em água peptonada 0,1%, seguida do plaqueamento em profundidade com sobrecamada em meio VRBG, incubação a 35°C por 24 horas e, por fim, contagem das colônias e cálculo dos resultados, de acordo com Da Silva *et al.* (2010).

Com relação às amostras de queijo coalho, determinadas pela Portaria N°146 de 7 de março de 1996 do MAPA, as análises microbiológicas realizadas foram a avaliação presuntiva da presença de coliformes, seguida da contagem de coliformes totais e termotolerantes, bem como contagem de estafilococos coagulase positivo, pesquisa de *Listeria monocytogenes* e pesquisa de *Salmonella* spp. (Brasil, 1996).

Para a avaliação da presença de coliformes nas amostras, realizou-se a diluição seriada da amostra inicial em água peptonada 0,1%, seguida da inoculação em Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), sendo este um teste presuntivo. O LST contém lactose e, após 48 horas de incubação a 35°C, a observação de crescimento com produção de gás a partir da lactose foi considerada suspeita da presença de coliformes (Da Silva *et al.*, 2010). Devido à suspeita, a análise prosseguiu com a inoculação e incubação por 24 horas a 35°C em caldo Verde Brilhante (VB) e a 45,5°C em caldo *Escherichia coli* (EC), respectivamente, levando à interpretação de resultados negativos em ambos.

Para avaliar a presença de estafilococos coagulase positiva, realizou-se a diluição seriada da amostra em água peptonada 0,1%, seguida do plaqueamento em ágar Baird Parker, um meio de cultura seletivo para o isolamento e quantificação de agentes como *S. aureus*. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas, e em seguida foram selecionadas para contagem as placas contendo de 20 a 200 colônias típicas de *S. aureus* (Da Silva *et al.*, 2010).

Já com relação à análise e contagem de bolores e leveduras, a avaliação iniciou-se com a diluição seriada da amostra em água peptonada 0,1%, seguida do plaqueamento em Ágar Dicloran Rosa Bengala Cloranfenicol Base (DRBC), incubação a 25°C por 5 dias e posterior leitura e avaliação (Da Silva *et al.*, 2010).

Foi realizada ainda a pesquisa de *L. monocytogenes*, para qual a amostra passou por um enriquecimento primário em Caldo Half-Fraser, com incubação a 30°C por 24 horas, e um enriquecimento secundário em Caldo Fraser, com incubação a 35°C. Em seguida, realizou-se um plaqueamento seletivo diferencial em ágar Ágar Listeria Ottaviani & Agosti (ALOA), específico para a detecção e contagem de espécies do gênero *Listeria* spp., seguido da incubação da amostra a 37°C por 24 horas. Mais um plaqueamento foi realizado também em um outro meio de cultivo seletivo, de livre escolha do laboratório, de acordo com a metodologia seguida. Assim, no caso do LaITLácteos, o meio utilizado foi o ágar PALCAM, ocorrendo a incubação a 35°C por 48h (Da Silva *et al.*, 2010).

Por fim, também foi realizada a pesquisa de *Salmonella* spp., sendo executado inicialmente um pré-enriquecimento em caldo não seletivo, neste caso a água peptonada tamponada 1%, a 37°C por 18 horas, e também um enriquecimento em caldo seletivo, utilizado para promover o crescimento preferencial de células de *Salmonella*, por 24 horas. Recomenda-se nesta etapa a utilização de dois meios de cultivo diferentes, portanto foram utilizados o caldo Rappaport-Vassiliadis de Soja (RVS) e o caldo Tetrionato (TT), incubados a 41,5 °C por 24 horas e a 37°C por 24 horas, respectivamente. Foi realizado também o plaqueamento seletivo diferencial em três meios de cultivo distintos, seguindo a recomendação de incubação a 37°C por 24 horas, sendo empregados nesta etapa o ágar Entérico de Hectoen (HE), o ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e o ágar VB (Da Silva *et al.*, 2010).

Com relação às amostras de iogurte, segundo a Instrução Normativa N° 46 de 23 de outubro de 2007, os critérios microbiológicos analisados foram a avaliação da presença e a contagem de coliformes totais e termotolerantes, bem como a contagem de bolores e leveduras, categorias que seguiram a mesma metodologia descrita para o queijo coalho. Porém, além destas, para complementar a avaliação realizou-se também a contagem de BAL, de acordo com as normas técnicas (Brasil, 2007). Para isso, foram feitas diluições seriadas em água peptonada 0,1%, seguida do plaqueamento em profundidade com sobrecamada em ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e posterior incubação por 32°C durante 48h, seguido por fim da leitura (Da Silva *et al.*, 2010).

#### **1.4.2. Outras atividades desenvolvidas**

Além das atividades da rotina, o LaITLácteos desenvolve projetos de extensão voltados para a assistência técnica aos produtores rurais do estado da Bahia, além de projetos

de pesquisa executados pelos alunos de pós-graduação. Dentre estes projetos, foi possível acompanhar durante o período de estágio um experimento de mestrado desenvolvido dentro da linha de pesquisa sobre mastite, intitulado “Potencial antimicrobiano dos extratos da *Moringa oleifera* e *Mimosa tenuiflora* frente a *Staphylococcus aureus* multirresistente nos isolados de leite mastítico na Bahia”.

O experimento é realizado pela discente de mestrado Maria Fernanda Barreto da Hora Lopes, sob orientação do Prof. Dr. José Givanildo da Silva, e tem como objetivo estudar o potencial antimicrobiano das plantas mencionadas frente a isolados de *S. aureus* multirresistente, bem como auxiliar na produção de novos sanitizantes para prevenção e controle da mastite e consequente melhoria na qualidade do leite bovino obtido na Bahia.

Assim, durante os meses de maio e junho, foi possível acompanhar a execução de parte das atividades previstas no cronograma inicial do experimento, com ênfase nas análises microbiológicas das amostras de leite bovino oriundas de coletas em propriedades rurais da Bahia, resultando no total de 320 amostras. As análises incluíram a realização de cultura microbiológica em Ágar Base enriquecido com 5% de sangue ovino e Ágar L - EMB, seguida de identificação macroscópica das colônias em placa e caracterização morfotintorial através do método de coloração de Gram para identificação dos agentes em microscopia. Nesta etapa, observou-se a identificação de *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp., *E. coli* e *Micrococcus* sp. Além disso, foram realizadas provas bioquímicas, como provas da catalase e coagulase, além do cultivo em Ágar Sal Manitol e Ágar Dnase.

A partir dos isolados de *Staphylococcus* sp. obtidos, foi possível acompanhar também a realização de exames de antibiograma por meio do teste de susceptibilidade a dez antimicrobianos, sendo eles tetraciclina (30µg), gentamicina (10µg), vancomicina (30µg), cefoxitina (30µg), eritromicina (15µg), penicilina G (10 U), ampicilina (10µg), oxacilina (1µg), ceftiofur (30µg) e amoxicilina + clavulanato de potássio (30µg). Decorrido o tempo de incubação em incubadora D.B.O, foi realizada a leitura e medição dos halos inibitórios formados, seguida da interpretação do teste com base no Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)®.

## **1.5 Discussão das atividades acompanhadas**

### **1.5.1 Discussão das atividades acompanhadas no LDIC – UFRPE**

Apesar da técnica de RIFI representar a maior porcentagem (71,92%) dentre as atividades acompanhadas, devido ao grande número de amostras que podem ser processadas

simultaneamente durante a execução da técnica, a rotina de estágio teve como foco a realização do teste de SAM (20,69%), totalizando 42 amostras de soro sanguíneo analisadas, além dos diagnósticos microbiológicos, sobretudo para exames bacteriológicos (5,42%), representando 11 amostras processadas. A ênfase nestes diagnósticos justifica-se pelas aplicações práticas deste trabalho, possibilitando a interpretação clínico-epidemiológica de diversas enfermidades que acometem os animais domésticos, sendo muitas delas de caráter zoonótico, como a leptospirose.

A leptospirose está distribuída mundialmente, sendo uma doença causada por bactérias do gênero *Leptospira*, capazes de infectar tanto animais quanto seres humanos (Martin *et al.*, 2019; Sohn-Hausner *et al.*, 2023). A relação entre o diagnóstico sorológico de *Leptospira* spp. em animais e o controle e a prevenção da leptospirose em humanos é significativa e de importância clínico-epidemiológica, sendo a SAM a técnica preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) para diagnóstico indireto da leptospirose, sobretudo em regiões endêmicas, como é o caso do estado de Pernambuco (Ferreira *et al.*, 2021).

Animais infectados podem excretar *Leptospira* spp. na urina, contaminando solo, água e alimentos, o que aumenta o risco de transmissão acidental para humanos, conforme abordado por Pinheiro *et al.* (2023) e corroborado por autores como Gonçalves *et al.* (2017) e Rodamilans *et al.* (2020) ao levantarem aspectos relacionados à transmissibilidade da doença especialmente em áreas rurais e periurbanas, onde o contato da população com animais é mais frequente, incluindo espécies domésticas e silvestres que atuam como reservatórios. Deste modo, o diagnóstico sorológico em animais permite traçar um conhecimento acerca de quais espécies comportam-se como sentinela da enfermidade aos humanos, a exemplo da espécie canina, sendo essa uma ferramenta importante para a vigilância epidemiológica da leptospirose em áreas endêmicas, perspectiva discutida por Mazzotta *et al.* (2022) e Sohn-Hausner *et al.* (2023).

Nesse sentido, a SAM funciona como um instrumento para a identificação de animais reservatórios de *Leptospira* spp., auxiliando na adoção de medidas de controle e prevenção a partir do entendimento sobre o comportamento da enfermidade na esfera soropidemiológica (Lelu *et al.*, 2016; Meny *et al.*, 2019). Estudos como o de Magalhães *et al.* (2023) discutem que, em regiões endêmicas, a leptospirose não controlada comporta-se como causa e consequência de variáveis socioeconômicas precárias, ocasionando custos com a saúde pública, impacto na produtividade, prejuízos na produção agropecuária e desequilíbrios nos

ecossistemas. Por esse motivo, o controle da doença em animais domésticos contribui para a redução dessas perdas, promovendo o equilíbrio ambiental, a saúde das comunidades e a estabilidade econômica (De Oliveira *et al.*, 2024).

Além das práticas com o diagnóstico sorológico, a rotina de ESO proporcionou também o contato com exames microbiológicos, sendo importante destacar que a precisão no diagnóstico laboratorial depende de múltiplos fatores analíticos e pré-analíticos, conforme abordado por Plebani (2006), como qualidade da amostra enviada ao laboratório e interpretação correta dos resultados, visto que os erros de coleta ou a contaminação da amostra podem impactar na eficácia do diagnóstico e, conseqüentemente, no contexto clínico quanto ao manejo adequado das doenças infecciosas em animais. Esse contexto influencia diretamente na eficácia do tratamento das doenças e no ciclo de transmissão destas, o que pode acarretar conseqüências inclusive na saúde pública (Quinn *et al.*, 2018).

De acordo com Koneman *et al.* (2018), as etapas de cultivo e incubação de amostras são críticas na rotina de laboratório, visto que a ausência ou presença de crescimento microbiano determinará as etapas subseqüentes do processo diagnóstico, portanto, a escolha do meio de cultivo a ser utilizado deve ser feita com cautela, bem como o protocolo de incubação, pois direcionam o diagnóstico laboratorial a partir do entendimento sobre quais os gêneros e as espécies de microrganismos capazes de crescer em cada meio de cultura.

Tratando-se do isolamento de uma bactéria, uma vez identificada, realiza-se o exame de antibiograma para determinar a sensibilidade deste microrganismo a diferentes antibióticos, etapa que fornece um perfil de susceptibilidade que atua como guia nas decisões terapêuticas para cada caso, levando em consideração a relevância da resistência antimicrobiana (RAM) como um dos maiores desafios atuais na medicina, conforme destacado por Arias; Carrilho (2012) e Palma; Tilocca; Roncada (2020). Ela ocorre quando bactérias, vírus, fungos e parasitas evoluem para resistir aos efeitos dos medicamentos que antes eram eficazes contra eles, como antibióticos, antivirais, antifúngicos e antiparasitários (Da Costa; Junior, 2017).

Na medicina veterinária, incluindo a prática agropecuária, o uso inadequado e indiscriminado desses medicamentos tem um impacto significativo, não apenas na saúde animal, mas também na saúde humana e no meio ambiente, pois pode levar à seleção de cepas resistentes que podem ser transferidas para a população humana por meio do consumo de produtos de origem animal ou pelo contato direto com animais infectados (Caneschi *et al.*, 2023). Nesse sentido, o trabalho com o isolamento, a identificação e o estudo do perfil de

RAM de microrganismos patogênicos aos animais domésticos apresenta-se como fundamental dentro do contexto da saúde pública, discussão levantada por Marques; Dos Santos; Costa (2013), ao abordarem as implicações da RAM na medicina veterinária e humana.

Deste modo, as consequências da RAM podem resultar em ineficácia dos tratamentos contra infecções, levando ao aumento da mortalidade e morbidade, bem como dos custos com a saúde, além da ocorrência de surtos de enfermidades causadas por patógenos resistentes na saúde humana e animal (Palma; Tilocca; Roncada, 2020). Por esse motivo, autores como Lloyd; Page (2018), Hernando-Amado *et al* (2019) e Mudenda *et al.* (2023) defendem a adoção de práticas responsáveis no uso de antimicrobianos, aliadas a estratégias de controle e prevenção, como mecanismo crucial para mitigar o impacto desse problema e proteger a saúde pública e animal a longo prazo.

Nessa perspectiva, os laboratórios de microbiologia veterinária desempenham um papel crucial no monitoramento da RAM, visto que, nos animais, o diagnóstico precoce das enfermidades causadas por estes microrganismos permite intervenções que podem prevenir a transmissão para os humanos (Hardefeldt *et al.*, 2018). Além disso, trabalhos como o de Hassani *et al.* (2022) levantam a perspectiva de que o trabalho de médicos veterinários na rotina laboratorial microbiológica também contribui significativamente para a segurança alimentar por meio da identificação e do controle de patógenos com potencial de resistência, como *Salmonella* spp. (Moreira *et al.*, 2013), *Staphylococcus* spp. (Silva; Alcântara; Mota, 2018) e *Listeria monocytogenes* (Markovich *et al.*, 2024), dentre outros, que podem inclusive contaminar os alimentos de origem animal, incluindo leite e derivados lácteos.

### **1.5.2 Discussão das atividades acompanhadas no LaITLácteos - UFBA**

Assim como na rotina laboratorial acompanhada no LDIC, a vivência no LaITLácteos também proporcionou uma experiência prática em microbiologia veterinária, neste caso aplicada à inspeção de leite e produtos derivados, em conformidade com as normativas técnicas seguidas. Nessa perspectiva, as técnicas abordadas como exemplos, acerca das avaliações do leite pasteurizado, queijo coalho e iogurte, refletem como os resultados das análises microbiológicas possuem relação direta com a segurança alimentar e a prevenção de enfermidades transmitidas por alimentos, considerando o alto consumo destes produtos pela população humana (Júnior *et al.*, 2020).

O leite pasteurizado é um alimento muito presente na dieta dos brasileiros e considerado de alto valor nutricional (Salvador *et al.*, 2012). Pelo mesmo motivo, devido ao

seu alto percentual de água, carboidratos, lipídeos e proteínas, é um produto muito suscetível à contaminação microbiana (Silva *et al.*, 2022). De modo geral, os estudos desenvolvidos no Brasil apontam que a contaminação do leite pasteurizado por altas cargas de microrganismos patogênicos tem sido atribuída à deficiência no manejo e higiene dos animais durante a ordenha, aos elevados índices de mastite, aos descuidos com a desinfecção e higiene dos utensílios e equipamentos e à precariedade no treinamento da equipe que trabalha na produção, aspectos amplamente discutidos por Guerreiro *et al.* (2005), Silva *et al.* (2008), Luz *et al.* (2011) e Salvador *et al.* (2012).

Nesse contexto, a pasteurização é um tratamento térmico que tem como finalidade destruir bactérias patogênicas presentes no leite, oriundas, por exemplo, do processo de ordenha (Tamanini *et al.*, 2007). Entretanto, embora esse processo consiga eliminar uma grande quantidade de bactérias, ele não será capaz de destruir a totalidade dos microrganismos presentes, pois não possui a capacidade de esterilizar o alimento (Silva *et al.*, 2022).

Por esse motivo, para a avaliação microbiológica do leite pasteurizado, a pesquisa a ser realizada é a contagem de bactérias da família *Enterobacteriaceae* (Brasil, 2018; Brasil, 2019). Salvador *et al.* (2012) discutem que a quantidade encontrada após o processo de pasteurização é influenciada pela quantidade de microrganismos presentes no leite cru, ainda antes do tratamento térmico, ou seja, quando presentes em níveis de risco, estes patógenos atuam como indicativo de um inadequado manejo higiênico-sanitário na produção, visto que são microrganismos comumente encontrados no trato gastrointestinal dos animais (Reis *et al.*, 2013).

O queijo coalho, por sua vez, é o produto obtido pela coagulação do leite por meio do coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas, devendo ser comercializado normalmente com até 10 dias de fabricação (Brasil, 1996). Na região Nordeste do Brasil, este produto movimenta um importante valor socioeconômico, sendo fabricado de forma artesanal, majoritariamente por pequenos e médios laticínios e produtores do segmento da agricultura familiar, sendo comercializado sobretudo em feiras livres (Santana *et al.*, 2008; Bezerra *et al.*, 2017).

Apesar da legislação brasileira estabelecer que o leite utilizado como matéria-prima para a fabricação de queijos seja submetido à pasteurização ou tratamento térmico equivalente (Brasil, 1996), cerca de 85% da produção do queijo coalho não segue este critério, conforme

dados levantados por Sousa *et al.* (2014), o que representa um risco para o consumidor devido à possibilidade da transmissão de microrganismos patogênicos através deste produto.

Segundo a Portaria Nº 146, de 7 de março de 1996, que estabelece o Regulamento Técnico para a Produção, Identidade e Qualidade do queijo coalho, o teor de umidade máximo permitido para este produto é de 60%, classificando-o como um queijo de média a alta umidade (Brasil, 1996). Nesse sentido, considerando o alto teor de umidade e consequentemente aumento da atividade de água, há um favorecimento para a multiplicação de microrganismos (Andrade, 2006), incluindo espécies patogênicas ao ser humano e associadas a surtos de infecção de origem alimentar, como *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., bolores e leveduras (Da Silva *et al.*, 2010).

A análise microbiológica destes patógenos está diretamente associada aos indicadores higiênico-sanitários na produção do queijo coalho, apontando para a necessidade do controle de inspeção com relação à elaboração, armazenamento, transporte e comercialização deste alimento, visando garantir a segurança dos consumidores (Santana *et al.*, 2008; Bezerra *et al.*, 2017), aspecto também apontado por diversos outros autores, como Sousa *et al.* (2014), Dias *et al.* (2015), Santos *et al.* (2019) e Santos *et al.* (2020).

Com relação ao iogurte, este é um produto obtido por coagulação e diminuição do pH do leite pasteurizado ou esterilizado através de um processo de fermentação mediante a ação de cultivos de bactérias lácteas que possuem atividade simbiótica entre si, atuando como probióticos (Brasil, 2007; Rocha *et al.*, 2008). Nesse sentido, esses produtos não devem passar por tratamento térmico após serem produzidos, pois caso contrário pode haver uma destruição dos microrganismos de interesse (Sousa *et al.*, 2022).

Devido aos seus benefícios à saúde, acompanhado do seu elevado teor nutricional, além da boa palatabilidade, a procura e o consumo do iogurte no Brasil têm se intensificado ao decorrer dos anos (Da Silva *et al.*, 2012), o que ressalta também a necessidade de intensificação no rigor das análises microbiológicas do produto, a fim de garantir que microrganismos patogênicos, como coliformes, bolores e leveduras não causem riscos à saúde humana (Gallina *et al.*, 2018; Moraes *et al.*, 2002).

Além disso, conforme explanado por Reis *et al.* (2014), o controle microbiológico nos leites fermentados também fornece informações com relação ao processamento destes alimentos, visto que fatores como teor de acidez e de oxigênio dissolvido, interação entre as espécies bacterianas, temperatura de incubação e condições de estocagem podem influenciar

na multiplicação dos microrganismos e, conseqüentemente, alterar a carga microbiana presente (Zacarchenco; Massaguer-Roig, 2004; Farias *et al.*, 2016).

Nesse sentido, sabe-se que a tecnologia de produção dos iogurtes, por ser baseada na fermentação do leite como forma de estender o prazo de validade do produto, ocasiona a formação de ácidos, como o ácido láctico, um resultado da fermentação da lactose pelas BAL, responsáveis pela diminuição do pH do iogurte e por contribuir no desenvolvimento do sabor e textura (Farias *et al.*, 2016). Devido aos benefícios trazidos pelas BAL à saúde humana, é importante manter o controle de qualidade dos iogurtes e demais leites fermentados com relação à contagem destes microrganismos (Sousa *et al.*, 2022), obedecendo a concentração mínima estabelecida pela legislação vigente no país. Assim, de acordo com o MAPA, espera-se que a contagem de BAL presentes em iogurtes, como produto final, apresente uma concentração mínima de  $10^7$  UFC/mL (Brasil, 2007).

A importância das análises descritas está associada ao fato de que, no Brasil, a produção de laticínios assume um relevante papel socioeconômico por ser uma das principais fontes de renda para as famílias que vivem no meio rural (Reis *et al.*, 2013). Além disso, considerando a expansão da produção leiteira na região Nordeste, bem como a alta procura do mercado consumidor por produtos lácteos devido aos seus benefícios nutricionais, destaca-se a importância de médicos veterinários capacitados para promover assistência técnica aos produtores rurais e garantir a qualidade dos produtos que chegam ao consumidor, sendo esta uma responsabilidade associada à saúde animal e à saúde humana, considerando que a inspeção destes produtos é responsável pela avaliação da sanidade animal associada à garantia da segurança alimentar e da prevenção de doenças zoonóticas transmitidas por alimentos de origem animal (Júnior *et al.*, 2020).

## **CAPÍTULO II**

**LEVANTAMENTO SOROLÓGICO DE *Leptospira* spp. EM CÃES (*Canis familiaris*)  
ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIO (HVU) DA UFRPE,  
PERNAMBUCO, BRASIL**

## 2.1 Resumo

A leptospirose é uma importante enfermidade infecciosa de caráter cosmopolita e zoonótico causada por bactérias do gênero *Leptospira*, cuja epidemiologia está interligada por fatores multivariados envolvendo a interface humanos-animais-ambiente. Considerando o alto nível de exposição ambiental do cão doméstico (*Canis familiaris*) às estirpes antigenicamente distintas de *Leptospira* spp., estes animais quando infectados apresentam-se como hospedeiros de manutenção da bactéria no ambiente, mesmo em casos assintomáticos. Nesse sentido, dentro de um contexto de levantamento soroepidemiológico, este trabalho tem como objetivo verificar através da técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em amostras de soro de cães atendidos no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado no bairro de Dois Irmãos, Pernambuco, Brasil. Além disso, espera-se discutir sobre a capacidade desenhada por estes animais em atuar como hospedeiros de manutenção deste microrganismo, compreendendo as particularidades da região como uma área endêmica para leptospirose. Assim, através da técnica de SAM, uma coleção de culturas vivas de *Leptospira* spp. incluindo 25 variantes sorológicas foi utilizada a fim de identificar os sorovares reagentes, adotando a diluição de 1:100 como ponto de corte. Das 42 amostras de soro processadas, 8 (19,05%) não reagiram para anticorpos anti-*Leptospira* spp. em nenhum dos sorovares testados, enquanto 34 amostras (80,95%) apresentaram titulação maior ou igual a 1:100, reagindo para pelo menos um sorovar. 16 animais foram reagentes para o sorovar Butembo, sendo este o mais frequente (47,06%), seguido de 14 animais reagentes para o sorovar Hebdomadis (41,18%) e 13 animais para a sorovariante Louisiana (38,34%). Os resultados estão alinhados com os achados de outros estudos que têm evidenciado a crescente ocorrência de diferentes sorovares de *Leptospira* spp. na espécie canina, incluindo estirpes consideradas incidentais para os cães, sendo este um possível indicativo da circulação de sorovariantes interespecies. Portanto, considerando a complexidade epidemiológica da leptospirose, é necessário continuar elucidando o papel dos cães hospedeiros de *Leptospira* spp. como um importante elo na cadeia de transmissão para os humanos, sendo a SAM uma valiosa ferramenta para verificar a soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. circulantes a nível regional.

**Palavras-chaves:** Canina; Leptospirose; Reservatório; Soroaglutinação Microscópica; Sorovar.

## Abstract

Leptospirosis is an important cosmopolitan and zoonotic infectious disease caused by bacteria of the genus *Leptospira*, whose epidemiology is interconnected by multifactorial factors involving the human-animal-environment interface. Considering the high level of environmental exposure of domestic dogs (*Canis familiaris*) to antigenically distinct strains of *Leptospira* spp., these animals, when infected, serve as maintenance hosts for the bacteria in the environment, even in asymptomatic cases. In this context of seroepidemiological survey, this study aims to verify the frequency of anti-*Leptospira* spp. antibodies using the Microscopic Agglutination Test (MAT) in serum samples from dogs treated at the Hospital Veterinário Universitário (HVU) of Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), located in the Dois Irmãos neighborhood, Pernambuco, Brazil. Additionally, we aim to discuss the role of these animals as maintenance hosts of this microorganism, considering the specificities of the region as an endemic area for leptospirosis. Thus, a collection of live cultures of *Leptospira* spp., including 25 serological variants, was used with the MAT technique to identify reactive serovars, adopting a 1:100 dilution as the cut-off point. Out of 42 processed serum samples, 8 (19.05%) showed no reaction to anti-*Leptospira* spp. antibodies in any of the tested serovars, while 34 samples (80.95%) had titers equal to or greater than 1:100, reacting to at least one serovar. Sixteen animals were reactive to the Butembo serovar, which was the most frequent (47.06%), followed by 14 animals reactive to the Hebdomadis serovar (41.18%), and 13 animals to the Louisiana serovariant (38.34%). These results are consistent with findings from other studies that have shown the increasing occurrence of different *Leptospira* spp. serovars in the canine species, including strains considered incidental to dogs, suggesting a possible indication of interspecies serovariant circulation. Therefore, considering the epidemiological complexity of leptospirosis, it is necessary to continue elucidating the role of dogs as hosts of *Leptospira* spp., an important link in the transmission chain to humans. The MAT remains a valuable tool for assessing the regional seroprevalence of circulating anti-*Leptospira* spp. antibodies.

**Keywords:** Canine; Leptospirosis; Microscopic Agglutination Test; Reservoir; Serovar.

## 2.2 Introdução

A leptospirose é uma zoonose de caráter ocupacional que acomete o ser humano e todas as espécies de animais domésticos e silvestres (Clazer *et al.*, 2015; Belaz *et al.*, 2023). Trata-se de uma enfermidade de distribuição mundial responsável por cerca de 60.000 mortes por ano, causando um importante impacto socioeconômico, embora seja considerada uma doença tropical negligenciada (Di Azevedo *et al.*, 2023; Sohn-Hausner *et al.*, 2023).

A doença é causada por espiroquetas patogênicas pertencentes ao gênero *Leptospira*, filo Spirochaetes, ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae (Di Azevedo; Lilenbaum, 2021). O gênero *Leptospira* apresenta-se com uma complexa variabilidade molecular e sorológica, o que permite classificar as espécies como saprófitas, intermediárias e patogênicas (Oliveira, 2009; Fernandes *et al.*, 2018). Além disso, de acordo com as semelhanças de reatividade a anticorpos, estas espécies são divididas em diversos sorovares, que por sua vez estão agrupados em sorogrupos de acordo com a similaridade antigênica de seus lipopolissacarídeos (LPS) de membrana, os quais podem provocar reações de aglutinação *in vitro* (Loureiro *et al.*, 2013; Di Azevedo *et al.*, 2023).

Assim como a etiologia, a epidemiologia da leptospirose também é complexa e está interligada por condições multifatoriais no contexto da Saúde Única (Silva *et al.*, 2018). Características como climas tropical e subtropical, índices pluviométricos elevados, ocorrência de enchentes, acúmulo de lixo, condições precárias de saneamento básico e proximidade com animais sinantrópicos são caracterizadas como fatores de risco para a manutenção da bactéria no ambiente e a ocorrência de novos casos de leptospirose (Scandura *et al.*, 2020; Farias *et al.* 2022).

Apesar de ser negligenciada no Brasil, a leptospirose é endêmica no país e encontra-se amplamente difundida nas formas urbana, rural e silvestre (Belaz *et al.*, 2023). Nesse sentido, considerando os fatores de risco específicos para cada região, sabe-se que o elevado índice pluviométrico anual da cidade de Recife está associado aos períodos sazonais de exposição da população às enchentes (De Paula *et al.*, 2024). Essa condição predispõe a ocorrência da leptospirose de forma epidêmica nos períodos de chuva, sobretudo, nas áreas com precárias condições de saneamento básico e nas quais predominam desigualdades socioeconômicas, pois estes são agravos que favorecem a disseminação da bactéria contaminando água e solo, e assim pondo em risco a saúde animal e humana (Magalhães *et al.*, 2023).

Embora a leptospirose seja comumente associada apenas aos roedores, os animais silvestres, de produção e de companhia também são suscetíveis à doença (Vieira; Pinto;

Lilenbaum, 2018; Di Azevedo *et al.*, 2022; Aymée; Mendes; Lilennbaum, 2024). Nesse cenário, a espécie canina possui uma importante participação no ciclo epidemiológico da enfermidade, devido ao seu alto nível de exposição ambiental a estirpes antigênicamente distintas de *Leptospira* spp., bem como à proximidade destes animais com o homem, fazendo com que os cães apresentem-se como uma espécie sentinela quanto ao risco de infecção à população humana (Castro *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2018; Da Costa *et al.*, 2021).

Nessa perspectiva, destaca-se a relevância do diagnóstico sorológico para a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. nestes animais, sendo preconizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) a SAM para o diagnóstico em humanos e em animais (Ferreira *et al.*, 2021). Essa técnica possui uma alta especificidade e capacidade de indicar o sorogrupo circulante, embora para a sua interpretação seja necessário considerar fatores como protocolo vacinal, período de janela imunológica, cronicidade da infecção e particularidades regionais (Loureiro *et al.*, 2013).

Sendo assim, dentro de um contexto de levantamento soroepidemiológico, este trabalho tem como objetivo verificar através da técnica de SAM a frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em amostras de soro de cães atendidos no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), localizado no bairro de Dois Irmãos, Pernambuco, Brasil. Além disso, discutir sobre a capacidade desenhada por estes animais em atuar como hospedeiros de manutenção deste microrganismo, compreendendo as particularidades da região como uma área endêmica para leptospirose.

## **2.3 Material e Métodos**

### **Comitê de Ética**

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRPE sob número de licença 2180100522.

### **Coleta de amostras biológicas**

Foram coletadas por conveniência não probabilística 42 amostras de sangue de cães (*Canis familiares*) atendidos no HVU da UFRPE, sem preferência por sexo, raça, idade ou situação vacinal. Antes das coletas, foi aplicado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) que foi assinado pelos tutores em duas cópias.

As amostras de sangue foram coletadas através de punção das veias jugular, cefálica ou safena. Após a obtenção do sangue, o material foi repassado para tubos de coleta contendo ativador de coágulo. No Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE, as amostras

foram centrifugadas a 2000g por 5 minutos. Em seguida, após a retração do coágulo, realizou-se a passagem de alíquotas de soro sanguíneo para tubos tipo Eppendorf® devidamente identificados e numerados. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em freezer a -20°C, onde permaneceram até o momento de realização do diagnóstico sorológico conforme descrito por Freire *et al.* (2007).

### Prova sorológica para detecção de anticorpos Anti-*Leptospira* spp.

A prova sorológica preconizada pela OMS e pela OMSA para a detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. é a SAM. No presente estudo, o teste foi realizado de acordo com Loureiro *et al.* (2014) e Cunha *et al.* (2022), utilizando-se uma coleção de culturas vivas de *Leptospira* spp. que incluiu os seguintes sorovares: Tarassovi, Copenhageni, Grippothyposa, RGA, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Mini, Louisiana, Pomona, Wolffi, Shermani, Guaricura, Patoc, Panama, Celledoni, Bratislava, Javanica, Hebdomadis, Butembo, Batavie, Verdun, Hardjoprajitno, Hardjobovis, Autumnalis e Djasiman.

## 2.4 Resultados

Das 42 amostras de soro sanguíneo processadas, 8 (19,05%) não reagiram para anticorpos anti-*Leptospira* spp. para nenhum dos sorovares testados, enquanto as outras 34 amostras (80,95%) apresentaram titulação maior ou igual a 1:100, reagindo para pelo menos um sorovar, conforme disposto na tabela 5. Com exceção do sorovar Hardjobovis, observou-se que todos os outros 24 sorovares testados foram detectados nas amostras.

**Tabela 5.** Resultado do teste de Soroaglutinação Microscópica para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em amostra de soro sanguíneo de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFRPE.

Animais	Título			
	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800
1	-	-	-	-
2	AUT, HEB, ICT, JAV, LOU, MIN, PAN, POM, RGA	-	-	-
3	AUT, BAT, BRA, BUT, GRI, HP, HEB, ICT, JAV, LOU, MIN, PAN, RGA, SHE, TAR	-	-	-
4	HEB, ICT, JAV, LOU, MIN, TAR	-	-	-
5	AUT, HEB, JAV, LOU, MIN, TAR	-	-	-
6	HEB, RGA	-	-	-
7	HEB, JAV	-	-	-
8	DJA, HP, RGA, TAR, VER	-	-	-
9	AUT, GUA, PAN, RGA	-	-	-

10	HP, MIN, PAN, POM, RGA, TAR, WOL	-	-	-
11	BUT, DJA, HP, MIN, PAN, POM, TAR, VER, WOL	-	-	-
12	BAT, HEB, LOU, MIN, PAN, POM, TAR, WOL	-	-	-
13	DJA, HP, ICT, JAV, LOU, MIN, POM	-	-	-
14	POM	-	-	-
15	GUA, HEB, MIN, POM, WOL	HEB	-	-
16	HEB, JAV, VER	HEB	-	-
17	BAT, BUT, HEB, ICT, LOU, PAT, RGA	HEB	-	-
18	AUT, CAN, DJA, GUA, HEB, HP, ICT, LOU, MIN, PAN, TAR, VER, WOL	HEB	-	-
19	AUT, BAT, BRA, BUT, COP, DJA, HP, HEB, JAV, MIN, POM, VER, WOL	MIN	DJA	COP
20	BAT, BUT, DJA, HEB, HP, JAV, RGA	HEB	-	-
21	CAN, LOU, WOL	CAN	-	-
22	BUT	-	-	-
23	BUT, WOL	-	-	-
24	BUT, WOL	WOL	-	-
25	BUT, CEL, LOU	CEL	-	-
26	CEL, GRI, ICT, JAV, LOU, WOL	CEL	WOL	-
27	BUT	-	-	-
28	BUT, VER, WOL	-	-	-
29	BUT, CEL, WOL	CEL	-	-
30	-	-	-	-
31	BUT	BUT	-	-
32	-	-	-	-
33	HEB, MIN, RGA	-	-	-
34	BUT	-	-	-
35	ICT	-	-	-
36	BUT, JAV, LOU	-	-	-
37	-	-	-	-
38	-	-	-	-
39	BUT, LOU	-	-	-
40	-	-	-	-
41	-	-	-	-
42	-	-	-	-

AUT: Autumnalis; BAT: Batavie; BRA: Bratislava; BUT: Butembo; CAN: Canicola; CEL: Celledoni; COP: Copenhageni; DJA: Djasiman; GRI: Grippytyphosa; GUA: Guaricurus; HEB: Hebdomadis; HP: Hardjoprajitno; ICT: Icterohaemorrhagiae; JAV: Javanica; LOU: Louisiana; MIN: Mini; PAN: Panama; PAT: Patoc; POM: Pomona; RGA: RGA; SHE: Shermani; TAR: Tarassovi; VER: Verdum; WOL: Wolffi. Fonte: elaborado pela autora (2024).

Desse modo, foi possível verificar que 16 animais foram reagentes para o sorovar Butembo, sendo este o mais frequentemente detectado (47,06%), seguido de 14 animais reagentes para Hebdomadis (41,18%) e 13 animais reagentes para Louisiana (38,34%). Além disso, 12 animais foram reagentes para a sorovarietade Mini (35,29%), 12 para Wolffii (35,29%), 11 para Javanica (32,25%), 9 para o RGA (26,47%), 8 para o Hardjoprajitno (23,53%), 8 para o Icterohaemorrhagiae (23,53%), 8 para o Pomona (23,53%), 8 para o Tarassovi (23,53%), 7 para o Panama (20,59%), 6 para o Verdun (17,65%), 6 para o Djasiman (17,65%), 6 para o Autumnalis (17,65%), 5 para o Batavie (14,71%), 3 para o Celledoni (8,82%), 3 para o Guaricurus (8,82%), 2 para o Bratislava (5,88%), 2 para o Canicola (5,88%), 2 para o Grippytyphosa (5,88%), 1 animal reagente para o Patoc (2,94%), 1 para o sorovar Shermani (2,94%) e, por fim, 1 para o sorovar Copenhageni (2,94%).

## 2.5 Discussão

A SAM é a técnica preconizada pela OMS e pela OMSA para o diagnóstico laboratorial de leptospirose, sobretudo para inquéritos sorológicos em regiões endêmicas, como é o caso do estado de Pernambuco (Ferreira *et al.*, 2021). Através desse método, trabalhos já publicados ao longo dos anos têm conseguido estabelecer referências com relação aos sorovares mais prevalentes encontrados na espécie canina, os quais têm variado a depender do local onde os estudos são realizados, sinalizando para a importância de discutir a leptospirose considerando as diferenças soropidemiológicas a nível regional (Belaz *et al.*, 2023).

Segundo Silva *et al.* (2018), os valores de soroprevalência para leptospirose canina no Brasil variam de 6,6% a 85%, enquanto para Pinto-Ferreira *et al.* (2019) os valores a nível nacional têm variado entre 2,66% a 59,25%. Os resultados obtidos no presente estudo encaixam-se nos intervalos de referência mencionados, indicando uma soroprevalência de 80,95% para a população de cães avaliados neste trabalho, provenientes de municípios da Região Metropolitana do Recife.

Embora a soroprevalência encontrada seja alta, a interpretação do teste de SAM deve ser feita com cautela. Isso porque, considerando as particularidades técnicas do teste e seu caráter indireto, a possibilidade de reação cruzada entre os sorovares de um mesmo sorogrupo ou até mesmo de sorogrupos distintos é evidente, visto que há similaridades antigênicas entre as estirpes de *Leptospira* spp. (Rodrigues, 2008; Belaz *et al.*, 2023).

Sobretudo na avaliação da diluição de 1:100, a sorologia deste estudo revelou resultados nos quais são detectados anticorpos aglutinantes contra vários sorovares diferentes, pertencentes a sorogrupos iguais e também distintos, o que está de acordo com a possibilidade da existência de reação cruzada mencionada por trabalhos como o de Rodrigues (2008), que utilizou 29 amostras de soro de cães para a realização da SAM e, na maioria das reações, um mesmo soro produziu a aglutinação de *Leptospira* spp. em mais de um sorovar. Além disso, uma baixa titulação de anticorpos (100 e 400) para alguns sorovares foi encontrada nessas reações, sendo mais uma evidência de reação cruzada.

A depender da interação com a espécie acometida, os diferentes sorovares de *Leptospira* spp. podem ser classificados como adaptados ou incidentais (Loureiro *et al.*, 2013). Com relação aos cães, por exemplo, o sorovar Canicola (sorogrupo Canicola) é o sorovar adaptado, enquanto os bovinos são adaptados ao sorovar Hardjo (sorogrupo Sejroe), os equinos aos sorovar Bratislava (sorogrupo Australis) e os suínos ao sorovar Pomona (sorogrupo Pomona) (Di Azevedo *et al.*, 2023). Por outro lado, o sorovar Icterohaemorrhagiae (sorogrupo Icterohaemorrhagiae) é definido como incidental para todas as espécies mencionadas e também para a espécie humana, sendo adaptado apenas aos roedores sinantrópicos, como o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) (Scandura *et al.*, 2020; Sant'Anna *et al.*, 2021).

Dentro do sorogrupo Icterohaemorrhagiae, além do sorovar do mesmo nome, também estão presentes outras estirpes que possuem como principais hospedeiros de manutenção o *Rattus norvegicus* (Sohn-Hausner *et al.*, 2023). Estes animais albergam a bactéria em seus túbulos renais, eliminando-a no ambiente de forma intermitente através da urina, podendo contaminar a água e os alimentos oferecidos aos cães (De Paula *et al.*, 2024), através de utensílios como comedouros e bebedouros também utilizados no manejo dos animais, sobretudo quando deixados expostos (Aguiar *et al.*, 2007).

Considerando que os sorovares RGA, Icterohaemorrhagiae, Verdun e Copenhageni estão inclusos dentro do sorogrupo Icterohaemorrhagiae e neste estudo apresentaram frequências de 26,47%, 23,54%, 17,65% e 2,94%, respectivamente, é importante considerar a possibilidade de influência dos fatores de risco mencionados, a fim de avaliar a possibilidade dos cães estarem tendo contato com *Leptospira* spp. através de água e/ou alimentos contaminados. Nesse sentido, a ocorrência de reações de aglutinação para os sorovares Batavie e Grippothyphosa também são possíveis indicativos da importância dos roedores no ciclo epidemiológico da leptospirose. Segundo Fernandes *et al.* (2018), estes animais também

são considerados hospedeiros de manutenção destas variáveis sorológicas, que foram encontradas neste estudo nas prevalências de 14,71% e 5,88%, respectivamente.

Embora nenhum dos animais tenha apresentado no momento da coleta de sangue sinais clínicos de doença aguda, os achados mencionados ainda são relevantes, pois deve-se considerar que a sensibilidade da técnica de SAM pode diminuir a depender de variáveis como protocolo vacinal e período de janela imunológica, sendo este um fator importante para a interpretação da sorologia. Ainda assim, é possível ressaltar também a relevância da técnica como método de triagem, sobretudo para animais provenientes de áreas endêmicas, considerando que a titulação pode indicar exposição do animal à bactéria, revelando aspectos associados ao ambiente, ou uma infecção ativa (Sant'Anna *et al.*, 2019).

Variáveis sorológicas geralmente associadas aos equídeos, como Bratislava (sorogrupo Australis) e Pomona (sorogrupo Pomona) também foram identificados no presente estudo nas prevalências de 23,53% e 5,88%, respectivamente. Com relação a Pomona, sabe-se que os suínos são os principais hospedeiros de manutenção deste sorovar, que foi reagente no soro de oito animais (8/42). Estudos recentes, como o de Pinheiro *et al.* (2023), também relatam a ocorrência deste sorovar em amostras de soro sanguíneo de gatos (*Felis catus*) e levantam a hipótese dos felinos terem tido contato com suínos, o que possivelmente favoreceu a transmissão de *Leptospira* spp. interespecie.

Além disso, a espécie bovina é hospedeira de manutenção do sorogrupo Sejroe, conforme discutido por Aymée; Mendes; Lilenbaum (2024). Nesse sentido, os resultados obtidos com relação às frequências dos sorovares Wolffi (35,29%), Hardjoprajitno (23,53%) e Guaricurus (8,82%), todos pertencentes ao sorogrupo mencionado, estão de acordo com os resultados de Batista *et al.* (2004), Aguiar *et al.* (2007) e De Vasconcelos (2023), que reforçam a hipótese de transmissão de sorovares entre as espécies bovina e canina. É importante salientar que em alguns municípios da Região Metropolitana do Recife é muito comum a presença de equinos, asininos, bovinos e suínos circulando no ambiente urbano e mantendo proximidade com os cães, ou ainda vivendo em criações consorciadas, sendo esse um possível indicativo da circulação de sorovares interespecíes (Batista *et al.*, 2004; Pinto-Ferreira *et al.*, 2019).

Ademais, nos trabalhos de soroprevalência em cães, o sorovar Canicola é citado como um dos mais prevalentes, considerando que é o sorovar adaptado aos cães (Di Azevedo; Lilenbaum, 2021), porém, diferente do esperado, apenas duas amostras (5,88%) de soro foram reagentes para este sorovar, demonstrando uma baixa frequência na região analisada. Este

achado foi semelhante aos resultados de Alves *et al.* (2000) e Batista *et al.* (2004), que realizaram estudos sorológicos na cidade de Patos, no estado da Paraíba, e não encontraram cães reagentes para o sorovar Canicola. Resultados similares foram descritos mais recentemente por Lopes *et al.* (2022), em um estudo realizado em Botucatu, no estado de São Paulo, no qual o sorovar Canicola esteve presente em uma prevalência de 9,54%, ficando atrás dos sorovares Castellonis (28,68%), Autumnalis (19,12%), Pyrogenes (17,65%) e Icterohaemorrhagiae (11,03%), o que corrobora para a hipótese sobre a circulação de sorovares interespecies.

Como discutido por Fernandes *et al.* (2018), os estudos de soroprevalência na espécie canina têm evidenciado a crescente ocorrência de outros sorovares de *Leptospira* spp. em cães, além dos que já eram frequentemente encontrados, o que pode ser explicado por diversas hipóteses, dentre elas o fator relacionado ao contato, proximidade ou co-habitação dos cães com outras espécies de animais domésticos e silvestres, que podem atuar como reservatórios para sorovares não adaptados à espécie canina (De Vasconcelos, 2023), como evidenciados nos resultados expostos. Assim, está cada vez mais embasada a evidência de que a transmissão entre hospedeiros de manutenção é eficiente e importante do ponto de vista epidemiológico em centros urbanos, não devendo ser negligenciada.

De todo modo, os achados são semelhantes com os resultados obtidos em um estudo conduzido por Sant'anna *et al.* (2019) com 131 cães portadores assintomáticos de *Leptospira* spp., no qual foi evidenciado que o sorogrupo Icterohaemorrhagiae foi o mais predominante, representando 92,7% das amostras soropositivas. Este é um importante indicativo de que, embora não seja uma novidade a prevalência de cães assintomáticos atuando como reservatórios urbanos de *Leptospira* spp., a relação entre a espécie canina e os sorovares precisa ser continuamente investigada a fim de compreender o ciclo epidemiológico da enfermidade dentro de contextos regionais, com o objetivo de correlacioná-lo com as diversas formas de manifestação clínica da doença, bem como os fatores de risco intrínsecos nesta.

Os seres humanos são hospedeiros acidentais e terminais dentro da cadeia de transmissão da leptospirose, não atuando como reservatórios, diferente dos cães, que representam um elo na transmissão da doença para o homem (Silva *et al.*, 2018). Isso ocorre porque mesmo quando detectados em cães saudáveis ou assintomáticos, alguns sorovares são capazes de gerar doença clínica em humanos. Ou seja, uma infecção subclínica em cães, levando à eliminação de *Leptospira* spp. no ambiente, pode ser capaz de gerar a doença na espécie humana, evidenciando assim um risco zoonótico (Griebsch *et al.*, 2024).

Belaz *et al.* (2023) discutem ainda que os sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni estão relacionados a casos clínicos mais graves em humanos infectados por *Leptospira* spp, e ambos foram encontrados neste trabalho em soroprevalências relevantes. Esta é mais uma evidência relacionada ao potencial da espécie canina em atuar como sentinela quanto ao risco de infecção à população humana, visto que os cães, em comparação com os humanos, estão mais expostos a fontes de infecção ambientais que os colocam em contato com leptospiros patogênicas (Ricardo *et al.*, 2024).

Além disso, segundo o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP, 2020), as mudanças climáticas estão aumentando a duração, intensidade e frequência das precipitações, o que impacta nas consequências das enchentes, caracterizadas como um fator agravante para a ocorrência da leptospirose animal e humana em cidades como Recife. Por esse motivo, sobretudo no atual contexto de mudanças climáticas intensificadas por ações antrópicas, discussão abordada por De Paula *et al.* (2024), os resultados aqui obtidos devem ser interpretados também sob a perspectiva preventiva, podendo auxiliar profissionais de saúde a traçar estratégias de controle, vigilância e prevenção voltadas para regiões vulneráveis às enchentes e demais desastres ambientais.

## **2.6 Conclusão**

Através da Soroaglutinação Microscópica foi possível verificar uma alta soroprevalência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. entre a população de cães avaliados no presente estudo, provenientes de municípios da Região Metropolitana do Recife, e assim demonstrar também a complexidade da cadeia epidemiológica desta enfermidade. Nesse sentido, é necessário continuar elucidando o papel dos cães hospedeiros de *Leptospira* spp. como um importante elo na cadeia de transmissão para os humanos, compreendendo o ciclo epidemiológico da leptospirose associada aos sorovares mais frequentes a nível regional. Essa percepção também proporciona um embasamento para que sejam traçadas medidas preventivas, visto que as investigações soropidemiológicas envolvendo a sanidade das espécies domésticas têm relação direta com a saúde humana, além de corroborar também com a saúde ambiental, sendo, portanto, uma questão de Saúde Única.

## **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O Estágio Supervisionado Obrigatório é essencial para unir os aprendizados teóricos adquiridos ao longo da graduação em Medicina Veterinária com os aprendizados práticos

vivenciados no cotidiano profissional. Somado a isso, a rotina de estágio possibilita um contato mais próximo com profissionais mais experientes, o que contribui para o amadurecimento do estudante que está saindo para o mercado de trabalho ou dando continuidade à carreira acadêmica.

Durante o estágio no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE foi possível aprofundar os conhecimentos na ampla variedade de doenças infecciosas que acometem as espécies animais, sendo muitas delas de caráter zoonótico, o que destaca a importância de uma atuação profissional que também seja atenta à saúde pública. Além disso, foi possível adquirir mais prática com relação ao ambiente de laboratório, o que serviu como base para a continuação do ESO, que foi realizada no Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da UFBA. Esta etapa incentivou uma compreensão prática sobre a importância do médico veterinário na inspeção de alimentos de origem animal, pois através desta área de atuação é possível garantir a segurança dos produtos que chegam ao consumidor e, conseqüentemente, assegurar a saúde humana. Assim, destaca-se o aprendizado adquirido com ênfase em Medicina Veterinária Preventiva, por meio do elo entre doenças infecciosas, produção animal e inspeção de produtos lácteos.

#### 4. REFERÊNCIAS

AGUIAR, D. M. D. *et al.* Fatores de risco associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em cães do município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 70-76, 2007.

ANDRADE, A. A. **Estudo do perfil sensorial, físico-químico e aceitação de queijo de coalho produzido no estado do Ceará**. 2006. 104f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

ARIAS, M. V. B.; CARRILHO, C. M. D. D. M. Resistência antimicrobiana nos animais e no ser humano. Há motivo para preocupação? **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 775-790, 2012.

AZEREDO, D. O. S. *et al.* Estudo soro-epidemiológico da leptospirose canina de amostras coletadas em bairros residenciais de Cruz das Almas-BA, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Science/Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 30, n. 2, 2023.

AYMÉE, L.; MENDES, J.; LILENBAUM, W. Bovine Genital Leptospirosis: An Update of This Important Reproductive Disease. **Animals**, v. 14, n. 2, p. 322, 2024.

BELAZ, L. D. *et al.* Spatial analysis of leptospirosis and toxoplasmosis seroprevalence in the canine population in an area of socioeconomic and environmental vulnerability. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 75, p. 623-632, 2023.

BEZERRA, D. E. L. *et al.* Avaliação microbiológica de queijo de coalho comercializado na feira livre de Sousa-Paraíba. **Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, v. 37, p. 85-91, 2017.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 46, de 23 de outubro de 2007. Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**. Brasília-DF, nº 205, p. 4, 23 out. 2007. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 58, de 6 de novembro de 2019. Altera a Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**. Brasília - DF, nº 216, p. 18, 7 nov. 2018. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 76, de 26 de novembro de 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. **Diário Oficial da União**. Brasília - DF, nº 230, p. 9, 30 nov. 2018. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos Oficiais para Análise de Produtos de Origem Animal** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, 2022.

BRASIL. Portaria Nº 146, de 7 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**. Brasília - DF, nº44, 11 mar. 1996.

CANESCHI, A. *et al.* O uso de antibióticos e a resistência antimicrobiana na medicina veterinária, um fenômeno complexo: Uma revisão narrativa. **Antibióticos**, v. 12, n. 3, p. 487, 2023.

CASTRO, J. R. de *et al.* Sorovares de *Leptospira* spp. predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 217-222, 2011.

CLAZER, M. *et al.* Leptospirose e seu aspecto ocupacional - revisão de literatura. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 18, n. 3, p. 191-198, jul./set. 2015.

CUNHA, G. R. *et al.* Serological survey of anti-*Leptospira* spp. antibodies in individuals with animal hoarding disorder and their dogs in a major city of Southern Brazil. **Veterinary Medicine and Science**, v. 8, n. 2, p. 530-536, 2022.

DA COSTA, A. L. P.; JUNIOR, A. C. S. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DA COSTA, R. S. *et al.* Persistent high leptospiral shedding by asymptomatic dogs in endemic areas triggers a serious public health concern. **Animals**, v. 11, n. 4, p. 937, 2021.

DA SILVA, M. C. D. *et al.* Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 2, p. 214-221, 2010.

DA SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. e.d. São Paulo: Livraria Varela, 2010.

DE OLIVEIRA, D. *et al.* Fatores associados à soropositividade diferencial para *Leptospira interrogans* e *Leptospira kirschneri* em um ambiente urbano de alta transmissão de leptospirose no Brasil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 18, n. 5, p. e0011292, 2024.

DE PAULA, D. S. *et al.* Impacto das Mudanças Climáticas e a Pandemia na Ocorrência de Casos de Leptospirose no Estado do Rio de Janeiro. **Fronteira: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 13, n. 1, p. 21-39, 2024.

DE VASCONCELOS, T. C. B. *et al.* Serological survey of leptospirosis in horses with historical displacement through different geographic regions in Brazil. **Medicina Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 56-60, 2023.

DIAS, J. D. N. *et al.* Avaliação das condições higiênico-sanitárias de leite cru e queijo coalho comercializados em mercados públicos no norte do Piauí. **Saúde e Pesquisa**, v. 8, n. 2, p. 277-284, 2015.

DI AZEVEDO, M. I. N. *et al.* Molecular Epidemiology of Pathogenic *Leptospira* spp. Infecting Dogs in Latin America. **Animals**, v. 13, n. 15, p. 2422, 2023.

DI AZEVEDO, M. I. N. *et al.* The same strain leading to different clinical outcomes: The enigma behind the canine leptospirosis. **Microbial Pathogenesis**, v. 165, p. 105500, 2022.

DI AZEVEDO, M. I. N.; LILENBAUM, W. An overview on the molecular diagnosis of animal leptospirosis. **Letters in Applied Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 496-508, 2021.

FARIAS, A. N. *et al.* Perfil epidemiológico da leptospirose e sua distribuição espacial na região metropolitana de Recife, 2018 e 2019. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 101972, 2022.

FARIAS, P. K. S. *et al.* Contagem de bactérias lácticas em iogurtes comerciais. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, p. 38-44, 2016.

FERNANDES, A.R.F. *et al.* Soropositividade e fatores de risco para leptospirose, toxoplasmose e neosporose na população canina do Estado da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 957-966, 2018.

FREIRE, I. M. A. *et al.* Distribuição dos serovares de leptospira em caninos clinicamente suspeitos no Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 14, n. 2, 2007.

GALLINA, D. A. *et al.* Iogurte probiótico com polpa de frutas vermelhas: caracterização físico química e microbiológica, aceitabilidade sensorial e viabilidade dos probióticos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 4, p. 196-208, 2018.

GOMES, L. R. *et al.* Clinical-pathological alterations, serological and molecular diagnosis in dogs with suspected leptospirosis. **Semina: Ciência Agrária Londrina**, v. 44, n. 2, p. 823-840, 2023.

- GONÇALVES, D. D. *et al.* A serological survey of agents causing leptospirosis and toxoplasmosis in *Rattus rattus* in the city of Umuarama, northwest Paraná, Brazil, Noroeste do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 239-248, 2017.
- GRIEBSCH, C. *et al.* Serological evidence of exposure of healthy dogs to *Leptospira* in Sydney, New South Wales, Australia. **Australian Veterinary Journal**, 2024.
- GUERREIRO, P. K. *et al.* Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p. 216-222, 2005.
- HARDEFELDT, L. Y. *et al.* Antimicrobial susceptibility testing by Australian veterinary diagnostic laboratories. **Australian veterinary journal**, v. 96, n. 4, p. 142-146, 2018.
- HASSANI, S. *et al.* High prevalence of antibiotic resistance in pathogenic foodborne bacteria isolated from bovine milk. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 3878, 2022.
- HERNANDO-AMADO, S. *et al.* Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. **Nature microbiology**, v. 4, n. 9, p. 1432-1442, 2019.
- JÚNIOR, J. C. R. *et al.* Perfil do consumidor brasileiro e hábitos de consumo de leite e derivados. **Archives of Veterinary Science**, v. 25, n. 2, p. 21-30, 2020.
- KONEMAN, E. W. *et al.* **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 7. e.d. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
- LELU, M. *et al.* Seroepidemiology of leptospirosis in dogs from rural and slum communities of Los Rios Region, Chile. **BMC veterinary research**, v. 11, p. 1-9, 2015.
- LOUREIRO, A. P. *et al.* Laboratorial diagnosis of animal leptospirosis. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 119-126, 2013.
- LLOYD, D. H.; PAGE, S. W. Antimicrobial stewardship in veterinary medicine. **Antimicrobial resistance in bacteria from livestock and companion animals**, p. 675-697, 2018.
- MACHADO, D. N. *et al.* Detecção e avaliação do perfil de sensibilidade antimicrobiana de enterobactérias isoladas de periquitos cara-suja (*Pyrrhura griseipectus*) em cativeiro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 6, p. 1732-1736, 2016.
- MAGALHÃES, A. R. *et al.* Neglected tropical diseases risk correlates with poverty and early ecosystem destruction. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 12, n. 1, p. 32, 2023.
- MARKOVICH, Y. *et al.* Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance of *Listeria* spp. in Spain. **Veterinary Microbiology**, v. 293, p. 110086, 2024.
- MARTIN, P. L. *et al.* Diagnosis of canine leptospirosis: evaluation of two PCR assays in comparison with the microagglutination test. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 39, p. 255-262, 2019.

- MARQUES, G. R.; DOS SANTOSI, A. C. C.; COSTA, M. T. Resistência bacteriana na medicina veterinária e sua relação com a saúde pública. **Veterinaria e zootecnia**, v. 30, p. 1-12, 2023.
- MAZZOTTA, E. *et al.* Are small animal practitioners occupationally exposed to leptospirosis? Results of a serological survey. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 3, p. 1797, 2022.
- MENY, P. *et al.* Seroprevalence of leptospirosis in human groups at risk due to environmental, labor or social conditions. **Revista Argentina de microbiologia**, v. 51, n. 4, p. 324-333, 2019.
- MORAES, C. M. *et al.* Qualidade microbiológica do iogurte comercializado na cidade de Pelotas. **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. 2002. p. 161.
- MOREIRA, N. *et al.* Os mecanismos de resistência bacteriana da Salmonella sp. frente à utilização de antibióticos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, 2013.
- MUDENDA, S. *et al.* Global strategies to combat antimicrobial resistance: a one health perspective. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 14, n. 8, p. 271-328, 2023.
- OLIVEIRA, D. S. C. **Desigualdades intraurbanas de leptospirose no Recife**. 2009. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.
- PALMA, E.; TILOCCA, B.; RONCADA, P. Resistência antimicrobiana em medicina veterinária: Uma visão geral. **Revista internacional de ciências moleculares**, v. 21, n. 6, p. 1914, 2020.
- PINHEIRO, T. S. *et al.* Insights on seroprevalence of leptospirosis in dogs and cats from people with animal hoarding disorder profile in a semiarid region of Brazil. **Ciência Rural**, v. 53, p. 20220263, 2023.
- PINTO-FERREIRA, F. *et al.* Epidemiological relevance of dogs for the prevention of Toxoplasma gondii, Neospora caninum and Leptospira spp. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, p. 383-394, 2019.
- PLEBANI, M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 44, n. 6, p. 750-759, 2006.
- QUINN, P.J. *et al.* **Microbiologia veterinária: essencial**. Porto Alegre: Grupo A, 2018.
- REIS, D. L. D. *et al.* Qualidade e segurança microbiológica de derivados lácteos fermentados de origem bovina produzidos no Distrito Federal, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 6, p. 3161-3172, 2014.
- RICARDO, T. *et al.* Seroprevalence of pathogenic Leptospira serogroups in asymptomatic domestic dogs and cats: systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, p. 1301959, 2024.

RODAMILANS, G. M. *et al.* Leptospira interrogans em cobras jiboias selvagens de fragmentos de floresta periurbana do Nordeste do Brasil. **Acta trópica**, v. 209, pág. 105572, 2020.

RODRIGUES, A. M. A. **Leptospirose canina: diagnóstico etiológico, sorológico e molecular e avaliação da proteção cruzada entre os sorovares icterohaemorrhagiae e copenhageni**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SALVADOR, F. C. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e região. **Revista F@ ciência**, v. 9, n. 5, p. 30-41, 2012.

SANTANA, R. F. *et al.* Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 1517-1522, 2008.

SANT'ANNA, R. *et al.* Asymptomatic leptospiral infection is associated with canine chronic kidney disease. **Comparative Immunology, Microbiology and infectious diseases**, v. 62, p. 64-67, 2019.

SANT'ANNA, R. C. *et al.* Persistent high leptospiral shedding by asymptomatic dogs in endemic areas triggers a serious public health concern. **Animals**, v. 11, n. 4, p. 937, 2021.

SANTOS, N. C. *et al.* Perfil instrumental de textura e avaliação microbiológica de queijo coalho comercializado em feira livre. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, 2020.

SANTOS, N. S. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo coalho comercializados em Maceió-AL. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 7, p. 9271-9281, 2019.

SCANDURA, S. C. *et al.* Pesquisa sorológica de sorovares de leptospiros que mais frequentemente infectam e causam doença em cães com suspeita clínica de leptospirose. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 9391-9403, 2020.

SILVA, A. L. F. S. *et al.* Detecção de Enterobacteriaceae em leite pasteurizado e avaliação da atividade proteolítica. **Open Science Research**, v. 5, p. 326-336, 2022.

SILVA, E. R. D. F. S. *et al.* Análise sociodemográfica e ambiental para ocorrência de anticorpos antiLeptospira em cães de Teresina, Piauí, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, p. 1403-1414, 2018.

SILVA, J. G.; ALCÂNTARA, A. M.; MOTA, R. A. Bovine mastitis caused by Staphylococcus spp. Methicillin-resistant: Literature review. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 223-228, 2018.

SILVA, M. C. D. *et al.* Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 226-230, 2008.

SOHN-HAUSNER, N. *et al.* One health approach to leptospirosis: Dogs as environmental sentinels for identification and monitoring of human risk areas in Southern Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 8, n. 9, p. 435, 2023.

SOUSA, A. Z. B. *et al.* Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 30-35, 2014.

SOUSA, T. L. T. L. *et al.* Counting of lactic bacteria in yogurts and dairy drinks in the metropolitan region of Recife-PE. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 15, p. e157111537002, 2022.

TAMANINI, R. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 449-454, 2007.

UNEP. United Nations Environment Programme. **Mudanças climáticas podem causar inundações extremas**. 2020. Disponível em: <https://www.unep.org/pt-br/noticias-e-reportagens/reportagem/mudancas-climaticas-podem-causar-inundacoes-extremas>. Acesso em: 15 jun 2024.

VIEIRA, A. S.; PINTO, P. S.; LILENBAUM, W. A systematic review of leptospirosis on wild animals in Latin America. **Tropical animal health and production**, v. 50, p. 229-238, 2018.

ZACARCHENCO, P. B; MASSAGUER-ROIG, S. Sensory, microbiological and post-acidification evaluation during the shelf life of fermented milks containing *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*. **Food Science and Technology**, v. 24, p. 674-679, 2004.