



O USO DE PCR E TRATAMENTO ANTIBIOTICOTERÁPICO EM CASOS DE GARANHÕES COM SÊMEN CONTAMINADO POR LEPTOSPIRA SPP

RESUMO

Apesar da forma mais conhecida da Leptospirose ser declarada como a zoonose, tem-se estudado suas características no âmbito de consequências para o organismo dos indivíduos infectados. Sendo assim, o seguinte resumo busca elucidar alguns fatos sobre como leptospirose afeta o sistema reprodutor do garanhão e suas consequências na reprodução (ex: abortos e transmissão venérea ou placentária), além de retomar também o tratamento antibioticoterápico e a importância do PCR.

Palavras-chaves: Equinos; leptospirose; reprodução

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença bacteriana de relevância global. É causada por espiroquetas da espécie *Leptospira interrogans*, que apresentam mais de 212 sorovares, agrupados em 23 sorogrupos (PESCADOR et al, 2004). A infecção se dá através da pele e mucosas que entram em contato com resíduos contaminados (BOLIN & PRESCOTT, 1999). Alguns dos sintomas básicos são emagrecimento, baixa no desempenho atlético do animal, porém também se observam falhas reprodutivas como abortos e morte fetal (por conta da infecção intra-uterinas, placentite) e uveítes crônicas (DONAHUE et al., 1992; DONAHUE et al., 1995), o que nos leva a crer que haja uma transmissão desse patógeno por meio do intercuro sexual, ou seja, o momento da cobertura. Essa transmissão pode ocorrer tanto da égua para o garanhão (em casos da presença de *Leptospira* no trato vaginal), quanto do garanhão para a égua, (por conta do sêmen infectado com a *Lepstopira*). Isso se deve ao fato de que> pode haver a persistência do microrganismo no trato reprodutivo quando há a infecção crônica dos túbulos renais, resultando assim na transmissão venérea da leptospirose (FAINE et al., 1999).

A presença do sêmen infectado não significa que se deve parar de comercializá-lo, e sim que o equino deve passar por um tratamento chamado de antibioticoterapia, para que o ejaculado não se torne um meio de transmissão, uma vez que, após o tratamento não haverá a excreta de *Leptospira* pela urina ou sêmen.

Sendo assim, o objetivo se torna chamar a atenção acerca da leptospirose e elucidar de que forma se portar clinicamente frente a um animal contaminado.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 DESENVOLVIMENTO

Para a detecção da contaminação do sêmen, é necessário a coleta de amostras e o posterior envio a um laboratório, para que sejam submetidas a testes. Geralmente são usadas as técnicas de PCR (Reação da polimerase em cadeia), a qual consiste em é uma tecnologia que consiste na amplificação de uma região específica de DNA, sendo possível o estudo de

diversas áreas do DNA, e de cultivo bacteriano (o qual envolve o isolamento da bacteria em meio de cultivo). O patógeno da leptospirose tem baixa viabilidade in-vitro, o que dificulta o método de cultivo bacteriano, sendo de extrema relevância nesse sentido o uso do PCR (GINGERAS et al., 1990). O tratamento antibioticoterapico busca tornar seguro para comercialização e utilização o sêmen daqueles ganhanhos de alto valor genético, que apesar de assintomáticos, estão contaminados com a leptospirose, de forma que o material genético de alto valor ainda possa ser aproveitado. A antibioticoterapia é o tratamento de escolha para os casos de leptospirose (SELLNOW,1999). Na fase aguda, pode-se utilizar estreptomicina (12,5 mg/Kg), duas vezes ao dia, durante três dias ou tetraciclina (10-12,5 mg/Kg), duas vezes ao dia por três a cinco dias. Já na fase crônica, recomenda-se uma única dose de estreptomicina (25 mg/Kg). Estreptomicina e/ou penicilina são os antibióticos de escolha para o tratamento de leptospirose (NETA, 2016). Em casos de infecção uterina, deve-se utilizar Penicilina G (20 milhões de unidades), duas vezes ao dia no intuito de prevenir infecção no feto (BERNARD, 1993; NEWMAN E DONAHUE, 2007). Em situações de uveíte, utiliza-se nos Estados Unidos a ciclosporina A no intuito de impedir a transcrição da interleucina-2, reduzindo o processo inflamatório (GILGER e MICHAU, 2004).

2.2 METODOLOGIA

O trabalho, *Leptospira Spp.* em sêmen de ganhão PSI detectada pela reação da polimerase em cadeia (PCR) – Relato de caso, escrito por M.E Genovez, que foi usado como base experimental para este trabalho, é um relato de caso de um ganhão da raça PSI (Puro sangue inglês), o qual tinha alto valor genético, mas tinha seu sêmen contaminado por *Leptospira*. Foi usado para seu diagnóstico o método de PCR e como tratamento a antibioticoterapia, possibilitando que seu sêmen voltasse a ser seguro para comercialização.

O animal coletado tinha 19 anos, e fazia um exame de definição de perfil sanitário para adentrar em sistema de coleta (para posterior utilização de seu material genético em inseminação artificial). Durante esse exame notou-se a presença de *Leptospira* por meio de um dos exames feitos: o PCR, esse foi realizado da seguinte forma: a partir das amostras de sêmen, cuja extração do DNA foi realizada segundo SAMBROOK et al. (1989). Para a amplificação do DNA, seguiu-se o protocolo de HEINEMANN et al. (1999), empregando-se osoligonucleo- tídeos iniciadores gênero específicos (Lep1 e Lep 2) descritos por MÉRIEN et al. (1992) a partir da seqüência do gene 16S rRNA de *Leptospira interrogans* sorotipo canicola: Lep 1:5' GGC GGC GCG TCT TAA ACA TG 3' e Lep 2:3' TTC CCC CCA TTG AGC AAG ATT 5'.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As quatro amostras de sêmen positivaram para presença de *Leptospira* por meio do PCR, demonstrando assim a eficácia do exame. Com o tratamento adequado com uso de antibióticos, o ejaculado desse animal voltou a ser seguro para utilização em procedimentos de inseminação artificial, sendo a antibioticoterapia necessária uma vez que o patógeno causador da leptospirose é resistente a criogenia e, portanto, não seria eliminado durante o congelamento da amostra, podendo ocasionar uma possível transmissão para as éguas inseminadas.

4 CONCLUSÃO

Com o seguinte resumo, conclui-se portanto a importância do uso do PCR para identificar possíveis doadores de material genético que venham a se tornar transmissores da leptospirose, destacando a importância de exames como esse durante uma análise sanitária do

sêmen. Em segundo plano, destaca-se também a importância de um manejo sanitário de boa qualidade para evitar que animais venham a se contaminar, e a realização de tratamentos, no caso a antibioticoterapia, para possibilitar a utilização de amostras genéticas de alto valor genético sem a disseminação da doença que causa tantas perdas na reprodução de equinos e outras espécies.

REFERÊNCIAS

- PESCADOR, C.A.; CORBELHINI, L.G.; LORETTI, A.P.; WUNDER JÚNIOR, E.; FRANTZ, F. J.; DRIEMEIER, D. Aborto eqüino por *Leptospiras* sp. Ciência Rural, Santa Maria, v.34, n.1, p.271-274, 2004.
- BOLIN C.A.; PRESCOTT J.F. Leptospirosis. In: HOWARD J.L.; SMITH R.A. Current veterinary therapy. 4.ed. Philadelphia: Saunders, 1999. V.1, p.352-357.
- DONAHUE, J.M.; SMITH, B.J.; DONAHOE, J.K.; RIGSBY, C.L.; TRAMONTIN, R.R.; POONACHA, K.B.; WILSON, M.A. Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1990 foaling season. J. Vet. Diagn. Invest., v.4, p.279-284, 1992.
- DONAHUE, J.M.; SMITH, B.J.; POONACHA, K.B.; DONAHOE, J.K.; RIGSBY, C.L. Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991-1993 foaling season. J. Vet. Diagn. Invest., v.7, p.87-91, 1995.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. (Eds.). Leptospira and leptospirosis. Boca Raton: CRC Press, 1999.
- GINGERAS, T.R.; RICHMAN, D.D.; KWOH, D.Y.; GUATELLI, J.C. Methodologies for in vitro nucleic acid amplification and their applications. Vet. Microbiol., v.24, p.235-251, 1990.
- SELLNOW, L. Leptospirose: mal de muitas faces. Revista HorseBusiness, Ed. 56. São Paulo, 1999.
- BERNARD, W.V., 1993. Leptospirosis. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 9, 435–444.
- NEWMAN, D., Donahue, J.M., 2007. Equine Leptospirosis. Equine Dis. 16, 4–5.
- DONAHUE, J.M., Smith, B.J., Poonacha, K.B., Donahoe, J.K., Rigsby, C.L., 1995. Prevalence and serovars of *Leptospira* involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991–1993 foaling seasons. J. Vet. Diagn. Invest. 7, 87–91.
- DONAHUE, J.M., Smith, B.J., Redmon, K.J., Donahue, J.K., 1991. Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. J. Vet. Diagn. Invest. 3, 148–151.
- DONAHUE, J.M., Williams, N.M., 2000. Emergent causes of placentitis and abortions. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 16, 443–456.
- GILGER, B. C. Equine recurrent uveitis. In: ROBINSON, N. E. Current Therapy in Equine Medicine. Saunders, 2003. p. 468-72.
- GILGER, B.C.; MICHAU, T.M. Equine recurrent uveitis: new methods of management. Veterinary Clinical Equine, v. 20, p. 417–427, 2004.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. (Eds.). Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Press, 1989.

HEINEMANN, M.B.; GARCIA, J.F.; NUNES, C.M.; MORAES, Z.M.; GREGORI, F.; CORTEZ, A.; VASCONCELLOS, S.A.; VISINTIN, J.A.; RICHTZENHAIN, L.J. Detection of leptospire in bovine semen by polymerase chain reaction. Aust. Vet. J., v.77, p.32-34, 1999.

MERIEN, F.; AMOURIAUX, P.; PEROLAT, P.; BARANTON, G.; SANINT - GIRON, T. Polymerase chain reaction detection of *Leptospira* spp in clinical samples. J. Clin. Microbiol., v.30, p.2219-2224, 1992.