

A soroaglutinação microscópica no diagnóstico da leptospirose canina



A **soroaglutinação microscópica (SAM)** é considerada a técnica padrão para diagnosticar a leptospirose em cães, apesar de possuir uma série de limitações. Ela baseia-se na capacidade de os anticorpos antileptospira produzidos por um cão aglutinarem em meio líquido espécimens de leptospiras pertencentes a vários sorovares (ou sorotipos). Em laboratório, são feitas diluições das amostras de soro a serem testadas, as quais são misturadas às culturas de leptospira em uma concentração padrão. A **aglutinação** é verificada em microscópio de campo escuro, e o título final da amostra corresponde à diluição mais alta do soro que provoca 50% ou mais de aglutinação das leptospiras.¹ (Figura 1)

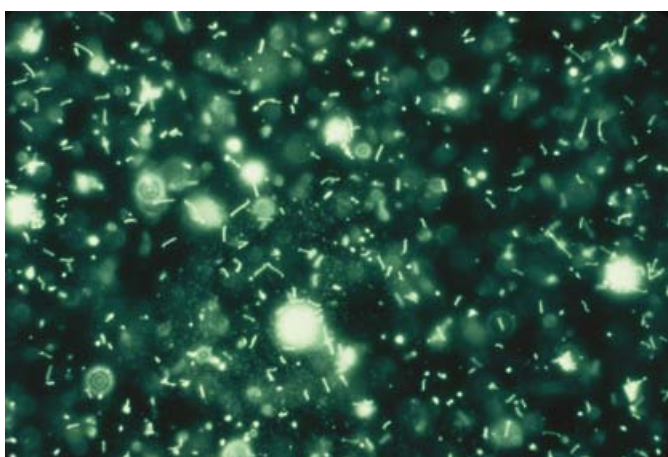


Figura 1 - Fotomicrografia da técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) utilizando microscopia de campo escuro (Fonte: CDC - Centers for Disease Control and Prevention, Mrs. M. Gattton, figura 2888).

Apesar de a SAM ser conduzida com sorovares de *Leptospira*, o resultado do teste de SAM é sorogrupo-específico, e não permite distinguir os sorovares existentes em um mesmo sorogrupo.¹⁻³ Isso ocorre porque os anticorpos contra os sorovares de um mesmo sorogrupo reagem de forma cruzada. Diversos laboratórios oferecem a SAM como ferramenta diagnóstica, porém a variedade de sorovares para teste oscila amplamente, o que pode comprometer a interpretação dos resultados. Além disso, existem problemas de padronização da técnica entre laboratórios, fazendo com que a repetibilidade dos resultados seja inadequada. Consensos norte-americanos e europeus sobre leptospirose recomendam aos laboratórios que oferecem a SAM fazer um teste de proficiência junto à International Leptospirosis Society para melhorar a padronização e qualidade desse teste.²⁻³ Outro problema da SAM é que reações cruzadas entre sorogrupos podem ocorrer. Por fim, alguns animais possuem as chamadas **reações paradoxais**, fenômeno pelo qual sorovares não vacinais podem ser identificados logo após a vacinação, sem necessariamente haver correlação com exposição a cepas de campo.⁴ A Tabela 1 mostra de forma resumida as principais limitações da técnica de SAM.

Tabela 1 - Principais limitações da técnica de soroaglutinação microscópica

Limitação	Consequência
Deteccão em nível de sorogrupo	Nem sempre determina o sorovar infectante
Disponibilidade de sorovares para teste muito variável entre laboratórios	Pode haver resultados falso-negativos por falta de determinado sorovar para teste
Padronização da técnica inadequada	Variações intra e entre testes; repetibilidade dos resultados comprometida
Necessidade de soroconversão	A SAM pode ser negativa nos primeiros dias de infecção; a repetição do teste é amplamente recomendada
Ocorrência de reações paradoxais	Interferência com a interpretação dos resultados em animais vacinados recentemente

Um resultado positivo pela SAM indica a presença de anticorpos aglutinantes e, desta forma, pode ter 3 interpretações distintas:

- exposição passada ao sorovar/sorogrupo: neste caso, os anticorpos apenas indicam resposta ao desafio natural
- vacinação: da mesma forma que no item anterior, os anticorpos apenas indicam resposta à vacinação
- exposição atual ao sorovar/sorogrupo: a correlação com o quadro clínico passa a ser muito importante

Diante de um quadro clínico compatível com leptospirose, deve-se realizar a SAM assim que possível. Títulos de pelo menos 800, acompanhados de quadro clínico apropriado, são considerados diagnósticos para leptospirose, desde que se exclua a vacinação nos últimos 4 meses.¹ A exclusão de imunização é necessária porque títulos muito altos (acima de 1600) já foram detectados após a vacinação apenas.⁵ No entanto, como muitos animais podem ter histórico de vacinação envolvido e, ainda,

pelo fato de muitos não apresentarem soroconversão no momento de colheita de amostra, a repetição da SAM é altamente recomendável para melhorar a sensibilidade e a especificidade diagnósticas.¹⁻⁴ Demonstrou-se em um estudo que, adotando-se o título de 800 como diagnóstico para leptospirose, a repetição do teste pareado aumentou a sensibilidade de 50 para 100% e reduziu a especificidade de 100 para 92%.⁶ De fato, muitos animais não sobrevivem à fase aguda da leptospirose, porém, havendo melhora clínica, a repetição do teste deve ser feita 1 a 2³ ou 2 a 4 semanas^{2,4} após o título inicial. Em alguns casos, a soroconversão pode ocorrer tão cedo quanto 3 a 5 dias após a colheita da primeira amostra.^{2,4} Considera-se diagnóstico de leptospirose se for detectado um aumento de pelo menos 4 vezes para um dos sorovares testados.¹⁻³ Alternativamente, animais com quadro clínico compatível e títulos zerados na primeira amostra podem ser considerados positivos caso apresentem um título igual ou superior a 800 na segunda amostra.³

Deve ser ressaltado que a SAM não determina com precisão nem o sorovar nem o sorogrupo infectante – pode-se apenas dizer que houve soroconversão que confirma o diagnóstico da doença. Isso acontece porque comumente ocorrem reações cruzadas entre sorovares de um mesmo sorogrupo e, embora menos frequentemente, entre os diversos sorogrupos.^{2,3} Os próprios títulos de anticorpos podem variar no mesmo animal ao longo do tempo, e nem sempre o maior título corresponde ao sorogrupo infectante.⁶ Títulos vacinais geralmente persistem por cerca de 4 meses após a vacinação, porém podem manter-se por mais de 1 ano, especialmente se ocorrer exposição constante a cepas de *Leptospira* de campo.⁴⁻⁵ Títulos mais altos (acima de 800-1600) tendem a ocorrer logo após a vacinação.⁵

Em vista dos problemas de técnica que cercam a SAM, é recomendável que os testes sejam feitos no mesmo laboratório a fim de minimizar possíveis variações causadas pela falta de padronização entre laboratórios. Por fim, cabe ressaltar que a utilização de antimicrobianos no curso da doença pode conter a elevação dos títulos, embora os cães geralmente soroconvertam a despeito do tratamento.⁴ A *Tabela 2* lista alguns exemplos de interpretação de exames.





Tabela 2 - Exemplos de interpretações de resultados de soroaglutinação microscópica (SAM) em cães com quadro clínico compatível com leptospirose

Sorovares testados	Dia 1	Dia 20	Aumento
Canicola	100	800	8 X
Pomona	400	800	2 X
Ballum	200	0	0
Bratislava	0	400	-

Neste caso, houve soroconversão para o sorovar/sorogrupo Canicola, pois foi o que apresentou aumento de pelo menos 4 X no reteste.

Sorovares testados	Dia 1	Dia 18	Aumento
Icterohaemorrhagiae	800	800	1 X
Pomona	400	200	0,5 X
Grippotyphosa	200	200	1 X

Neste caso, apesar de um título alto para Icterohaemorrhagiae, o diagnóstico não está confirmado, pois não houve soroconversão. Pode-se pensar em repetir o exame algumas semanas após considerando-se a possibilidade de soroconversão tardia.

Sorovares testados	Dia 1	Dia 14	Aumento
Icterohaemorrhagiae	400	800	2 X
Pomona	400	400	1 X
Grippotyphosa	0	1600	-
Bratislava	100	200	2 X

Neste caso, pode-se dizer que houve soroconversão para o sorovar/sorogrupo Grippotyphosa, pois um título negativo no primeiro dia evoluiu para um título ≥ 800 na amostra de reteste.

Sorovares testados	Dia 1		
Icterohaemorrhagiae	3200		
Canicola	400		
Ballum	400		
Grippotyphosa	200		

Neste caso, pode-se considerar leptospirose se o quadro clínico for compatível e se não houver histórico de vacinação nos últimos 4 meses, pois o título para Icterohaemorrhagiae foi ≥ 800 . No entanto, se possível, recomenda-se fazer o reteste.

Pontos-chave:

- 1 A SAM continua sendo a técnica padrão para o diagnóstico da leptospirose canina, apesar de uma série de limitações que devem ser conhecidas para interpretar os resultados.
- 2 A escolha do laboratório para realizar a SAM é muito importante, pois a padronização da técnica e a variedade de sorovares oferecidos para teste podem influenciar bastante a confiabilidade dos resultados.
- 3 A SAM determina soroconversão para um determinado sorogrupo de *Leptospira*, porém não é precisa para indicar o sorovar ou sorogrupo infectantes.
- 4 Títulos ≥ 800 acompanhados de quadro clínico em animais com vacinação há mais de 4 meses são sugestivos de leptospirose; no entanto, a realização de um teste 1 a 4 semanas após é extremamente recomendável para avaliar a soroconversão.

Vanguard® com você

As vacinas da linha Vanguard® protegem contra a leptospirose em cães. Vanguard HTLP® é uma vacina bivalente que protege contra os sorovares Canicola e Icterohaemorrhagiae e Vanguard® Plus protege contra os sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Grippotyphosa.



Referências

- 1 - Greene CE, Sykes JE, Moore GE, Goldstein RE, Schultz RD. Leptospirosis. In: Greene CE. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. St. Louis, Elsevier Saunders, p. 431-447, 2012.
- 2 - Sykes JE, Hartmann K, Lunn KF, Moore GE, Stoddard RA, Goldstein RE. 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 25:1-13, 2011.
- 3 - Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE, Sykes J. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, 56:159-179, 2015.
- 4 - Sykes JE. Leptospirosis. In: **Canine and Feline Infectious Diseases**. St. Louis, Elsevier Saunders, 1ª ed., p. 474-486, 2014.
- 5 - Martin LER, Wiggans KT, Wennogle SA, Curtis K, Chandrashekar R, Lappin MR. Vaccine-associated *Leptospira* antibodies in client-owned dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 28:789-792, 2014.
- 6 - Fraune CK, Schweighauser A, Francey T. Evaluation of the diagnostic value of serologic microagglutination testing and a polymerase chain reaction assay for diagnosis of acute leptospirosis in dogs in a referral center. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 242:1373-1380, 2013.
- 7 - Miller MD, Annis KM, Lappin MR, Lunn KF. Variability in results of the microscopic agglutination test in dogs with clinical leptospirosis and dogs vaccinated against leptospirosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 25:426-432, 2011.

SAC ZOETIS: 0800 011 1919

Vanguard® HTLP

VANGUARD® Plus