

Universidade de Brasília Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

ÉRICA VERSIANI LIMA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LEPTOSPIROSE CANINA – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do grau de médico veterinário.

BRASÍLIA

2013



Universidade de Brasília Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

ÉRICA VERSIANI LIMA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

LEPTOSPIROSE CANINA - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do grau de médico veterinário.

Orientador

Jair Duarte da Costa Junior

Brasília

iii

Lima, Érica Versiani

Leptospirose Canina: Revisão Bibliográfica / Érica Versiani

Lima; Orientação de Jair Duarte da Costa Júnior. – Brasília, 2013.

27 p.: il

Monografia – Universidade de Brasília/Faculdade de

Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.

1. Zoonótica. 2. Canina. 3. Leptospiremia 4. Leptospirúria I. Costa-

Júnior, J. D. II. Leptospirose Canina: Revisão Bibliográfica.

Cessão de direitos

Nome do Autor: Érica Versiani Lima

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Leptospirose Canina: Revisão

Bibliográfica

Ano: 2013.

É concedida a Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Érica Versiani Lima

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: LIMA, Érica Versiani	
Título: Leptospirose Canina: Revisão	Bibliográfica.
	Monografia de conclusão do Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.
Aprovado em:	
Banca Examinadora	
Prof. Dr. Jair Duarte da Costa Júnior Julgamento:	Instituição: Universidade de Brasília Assinatura:
Profa. Dra. Gláucia Bueno Pereira Ne Julgamento:	,
Mv. Msc. Samara Maguilnik Julgamento:	Instituição: Universidade de Brasília Assinatura:

SUMÁRIO

	Página
Lista de Tabelas	vii
Lista de Figuras	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
<u>PARTE I</u> – RELATÓRIO DE ESTÁGIO	
1. INTRODUÇÃO	02
2. O HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – HVET/UNB	03
2.1. Atividades desenvolvidas durante o estágio	05
2.2. Casuística	06
2.2.1. Tabela 2. Relação das raças dos cães acompanhados durante o estágio no HVet/UnB	08
2.2.2. Tabela 3. Relação das raças dos gatos acompanhados durante o estágio no HVet/UnB	09
2.2.3. Tabela 4. Relação dos diagnósticos e suspeitas clínicas dos cães acompanhados durante o estágio no HVet/UnB	09
2.2.4. Tabela 5. Relação dos diagnósticos e suspeitas clínicas dos gatos acompanhados durante o estágio no HVet/UnB	11
3. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	12

<u>PARTE II</u> – LEPTOSPIROSE CANINA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1. INTRODUÇÃO	15
2. EPIDEMIOLOGIA	16
3. PATOGENIA	18
4. SINAIS CLÍNICOS	20
5. DIAGNÓSTICO	22
5.1. Avaliação clinicopatológica	22
5.2. Testes de detecção de microorganismos	24
5.2.1. Exame direto por microscopia de campo escuro (MCE)	24
5.2.2. Cultura	25
5.2.3. Reação em cadeia de polimerase (PCR)	26
5.3. Testes de detecção de anticorpos	28
5.3.1. Prova de soroaglutinação microscópica (SAM)	28
5.3.2. Imunoensaio enzimático (ELISA)	30
6. TRATAMENTO	30
7. PROFILAXIA	33
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

LISTA DE TABELAS

P	Δ	B.	Т	F	١

TABELA 1. Serviços disponibilizados pelo Hvet/UnB	03
TABELA 2. Relação das raças dos cães acompanhados durante o estágio no Hvet/UnB	08
TABELA 3. Relação das raças dos gatos acompanhados durante o estágio no Hvet/UnB	09
TABELA 4. Relação dos diagnósticos e suspeitas clínicas dos cães acompanhados durante o estágio no Hvet/UnB	09
TABELA 5. Relação dos diagnósticos e suspeitas clínicas dos gatos acompanhados durante o estágio no Hyet/UnB	11

LISTA DE FIGURAS

PARTE I

FIGURA 1. Porcentagem de caninos e felinos acompanhados durante o estágio no Hvet/UnB	06
FIGURA 2. Porcentagem em relação ao sexo dos cães acompanhados durante o estágio Hvet/UnB	07
FIGURA 3 Porcentagem em relação ao sexo dos gatos acompanhados durante o estágio Hvet/UnB	07
FIGURA 4. Relação dos animais de acordo com a idade, comparação entre cães e gatos.	08

RESUMO

LIMA, E. V. Leptospirose Canina: Revisão Bibliográfica. Canine Leptopirosis: Bibliographic Review. 2013. 27 p. Monografia de conclusão do curso de Medicina Veterinária - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

A leptospirose é uma doença zoonótica, de distribuição mundial, causada por uma espiroqueta denominada Leptospira spp., cuja espécie patogênica tem mais de 250 sorovares infectantes. Possui maior prevalência em países tropicais com picos de incidência em épocas de chuva. Pode ser transmitida diretamente pelo contato com a urina de animais infectados ou de forma indireta, pelo contato com água, lama ou solo contaminado. A *Leptospira* spp. tem a capacidade ultrapassar a barreira cutânea lesionada ou a mucosa íntegra. Caracteriza-se por uma fase de leptospiremia seguida da fase de leptospirúria. Alguns animais podem se tornar hospedeiros reservatórios o que contribui para a manutenção da doença no meio ambiente. O paciente pode manifestar sinais clínicos variáveis e inespecíficos tais como: vômito, letargia, fraqueza muscular, febre, relutância em se movimentar, poliúria e polidipsia, inapetência, petéquias e icterícia. A leptospirose comumente causa insuficiência renal aguda e insuficiência hepática. O presente estudo teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica sobre a doença abordando seus aspectos epidemiológicos, patogênicos, sinais clínicos e alterações clinicopatológicas mais comuns, além dos métodos diagnósticos e os tratamentos comumente preconizados.

Palavras-chave

zoonótica, canina, leptospiremia, leptospirúria.

ABSTRACT

LIMA, E. V. Canine Leptospirosis: Bibliographic Review. Leptospirose Canina: Revisão Bibliográfica. 2013. 27 p. Monografia de conclusão do curso de Medicina Veterinária - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Leptospirosis is a zoonotic disease of worldwide distribution, caused by a spirochete called Leptospira spp., which species has more than 250 infectious pathogenic serovars. It is most prevalent in tropical countries with peaks of incidence in rain periods. The disease can be transmited directly by the contact with the urine of infected animals, or indirectly by the contact with contaminated water, mud or soil. The Leptospira spp. has the ability to penetrate the damaged skin barrier and the intact mucosa. It is characterized by a phase of leptospiremia followed by a phase of leptospiruria. Some animals may become reservoir hosts which contribute to the maintenance of the disease in the environment. The patient may manifest variable and nonspecific clinical signs such as: vomiting, lethargy, muscle weakness, fever, reluctance to move, polyuria and polydipsia, anorexia, jaundice and petechiae. The leptospirosis commonly causes acute renal failure and liver failure. This study aimed to review existing literature on the disease by addressing its epidemiological and pathogenic aspects, more common clinical signs and clinicopathologic changes, besides the diagnostic methods ant treatment commonly recommended.

Key-words

zoonotic, canine, leptospiremia, leptospiruria.

<u>PARTE I</u> RELATÓRIO DE ESTÁGIO

1. INTRODUÇÃO

O Estágio Curricular Supervisionado representa a última disciplina obrigatória cursada pelo aluno do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Consiste no treinamento prático e profissional, deixando o discente melhor preparado para o mercado de trabalho por meio da aplicação dos conhecimentos teóricos acumulados ao longo curso. A disciplina totaliza 420 horas na área e local de preferência do discente.

O estágio foi realizado no Hospital Veterinário de Pequenos Animais da Universidade de Brasília – HVet/UnB. Este hospital foi escolhido por possuir ampla casuística e por possibilitar o contato próximo do estagiário com o paciente e com os procedimentos aplicados a ele.

O objetivo da realização do estágio foi conhecer a rotina de um hospital veterinário e aplicar os conhecimentos adquiridos ao longo do curso nesta realidade. No HVet/UnB, a estagiária pôde iniciar e acompanhar as consultas por meio da realização da anamnese, realizar exames clínicos e coletas de materiais, além de acompanhar e auxiliar os serviços de internação e emergência. Além disso, juntamente com os médicos veterinários ou residentes, era possível discutir e definir diagnósticos e tratamentos.

O presente relatório visa descrever as atividades realizadas pela estagiária e a casuística acompanhada.

2. O HOSPITAL VETERINÁRIO DE PEQUENOS ANIMAIS DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – HVET/UNB

O Hospital Veterinário está localizado na avenida L4, Asa Norte, Brasília. Atende de segunda a sexta-feira, no horário de 8h00 as 18h. O atendimento dos animais é feito pelos residentes, médicos veterinários e professores nos diversos setores do hospital.

Inicialmente o proprietário se dirige à recepção onde preenche uma ficha de triagem e, em seguida, têm seus animais triados. Este processo é feito tanto pelos residentes da clínica médica quanto pelos residentes da clínica cirúrgica. Pela triagem, os animais são encaminhados pera os diversos setores do hospital, mas antes de serem atendidos, os proprietários devem abrir um prontuário para seu animal e, para tal, devem apresentar documento de identidade e RG do responsável pelo paciente. Neste prontuário constará um RG para o animal e todos os seus dados, anamneses, laudos de exames, e outros ficarão armazenados neste prontuário. Em uma próxima consulta ou retorno, o proprietário poderá informar o número do RG do animal, assim agilizando a localização do prontuário, permitindo que este seja entregue ao veterinário e este fique à par de todo o histórico médico. A triagem é feita diariamente das 7 h 30 às 16 h. Em caso de emergência, o animal é atendido prontamente pelos residentes e médicos responsáveis do setor de atendimento emergencial, sendo o preenchimento da ficha de triagem e a abertura do prontuário realizados enquanto o animal é atendido.

A tabela 1 ilustra os setores de atendimento do HVet-UnB.

Tabela 1: Serviços disponibilizados pelo HVet-UnB.

Clínica Médica	Cardiologia	
Clínica Cirúrgica	Oftalmologia	
Clínica de felinos	Fisioterapia	
Neurologia	Anestesiologia	
Clínica de animais silvestres		

O hospital também possui os serviços de Laboratório Clínico (patologia clínica), Anatomia Patológica Veterinária, Microbiologia Veterinária, Diagnóstico por Imagem (realização de radiografias e ultrassonografias abdominais), além de um Almoxarifado.

No interior do hospital há seis consultórios, dentre os quais dois destinam-se à Clínica Médica, dois à Clínica Cirúrgica, um destina-se tanto à Clínica Médica quanto à Cirúrgica e um à Clínica de Felinos, este o qual possui sua própria sala de espera. Há também três internações, uma para cães, uma para felinos e uma para pacientes portadores de doenças infectocontagiosas. Todas elas contam com saídas de oxigênio distribuídas em vários pontos da sala de internação, esta também contando com aparelhos para suporte emergencial como monitor cardíaco e desfibrilador. A internação para doenças infecciosas possui equipamentos básicos de uso exclusivo para evitar a contaminação de outros setores. Como o hospital não funciona durante a noite e em fins de semana, são providenciados encaminhamentos sempre que há animais que necessitam de internação noturna.

O setor de animais silvestres situa-se em um prédio separado deste descrito, o qual possui instalações e equipamentos próprios.

O HVet/UnB possui ainda uma sala de descanso para os residentes com armários individuais, poltronas e banheiro. Há uma copa, sala administrativa, banheiros, balança para os animais, sala de estudos, gatil (alguns dos animais como doadores de sangue), área de serviço e lavanderia.

O almoxarifado é o local onde ficam armazenados os medicamentos, dietas terapêuticas, bolsas de sangue e materiais utilizados no hospital. É também onde ficam as maletas de emergência, as caixas de curativos, o otoscópio e o glicosímetro. Há sempre um funcionário responsável por este setor, comumente vinculado à Faculdade de Farmácia.

2.1. Atividades desenvolvidas durante o estágio

A estagiária realizava as atividades de segunda a sexta-feira das 8 h às 18 h portando jaleco, estetoscópio, termômetro, luvas de procedimento e caneta. Estas atividades foram realizadas no período de 21 de Outubro de 2012 a 11 de Janeiro de 2013. O estágio era realizado sob a forma de rodízio em que cada semana a estagiária alocava-se em um setor da clínica médica, passando pelo atendimento nos consultórios de cães, internação de cães e setor de felinos que inclui o atendimento de consultas, retornos e internação de felinos.

Nos consultórios de cães, a estagiária realizava a anamnese e o exame físico, em que eram avaliados os parâmetros: frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de preenchimento capilar, estado de hidratação, temperatura, linfonodos, coloração de mucosa, palpação abdominal, escore corporal, aparência geral e peso do animal, todos os procedimentos revisados pelo residente e/ou veterinário responsável. Caso solicitado pelo responsável pelo caso, a aluna realizava a colheita de materiais para exames complementares como: sangue, raspado de pele, swabs otológicos, imprints de lesões, coleta de pelos para tricograma e mensuração de glicemia. Se fosse necessário o auxílio na contenção do paciente durante a realização de radiografias ou de outros procedimentos, também era atribuição da estagiária. Posteriormente aos procedimentos, o residente responsável pelo animal definia um diagnóstico e instituía o tratamento adequado. Caso fosse possível, a abordagem clínica aplicada era sempre discutida com a estagiária após o término da consulta.

Na rotina da internação, a estagiária buscava os animais na recepção e realizava a anamnese. Era papel também da estagiária realizar o exame físico listado anteriormente. Procedimentos como tricotomia, colocação de cateter, coleta de sangue, aplicação de fluidoterapia, preparação de dieta terapêutica, alimentação dos animais, colocação de sondas, entre outros, eram realizados pela estagiária sempre que autorizados pelos residentes ou médicos veterinários que a supervisionava.

Na rotina da clínica de felinos, os procedimentos eram semelhantes aos listados para os cães, mas sempre respeitando as particularidades destes animais, já que são muito susceptíveis ao estresse.

Em todas as ocasiões, a estagiária era sempre questionada sobre o procedimento que estava sendo realizado ou sobre o caso clínico do animal, situações que adicionaram muito na formação profissional da discente.

2.2. Casuística

Durante a realização do estágio, foram acompanhados 157 casos entre consultas novas, retornos, internações e emergências, sendo 113 cães e 44 gatos (Figura 1). Entre os cães, 71 eram fêmeas e 42 eram machos (figura 2). Entre os gatos, 15 eram fêmeas e 29 eram machos (Figura 3).

Em relação à idade, os cães de 0 a 1 ano e de 4 a 5 anos foram os mais frequentes, enquanto que para os felinos, as faixas etárias mais comuns foram entre 2 e 3 anos e entre 6 e 7 anos (Figura 4). Nas tabelas 2 e 3 estão expostas as raças dos animais acompanhados durante o estágio da discente e, nas tabelas 4 e 5, estão listados os diagnósticos e suspeitas clínicas para os cães e gatos atendidos no HVet/UnB.

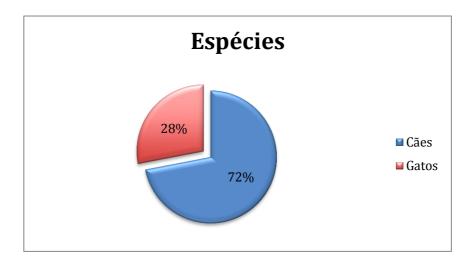


Figura 1. Porcentagem de caninos e felinos acompanhados durante o estágio no HVet/UnB

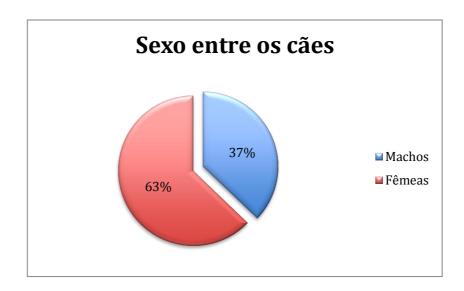


Figura 2. Porcentagem, em relação ao sexo, dos cães acompanhados durante o estágio no HVet/UnB

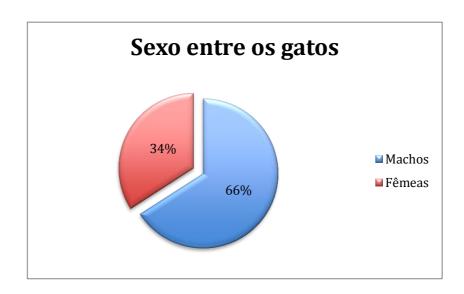


Figura 3. Porcentagem, em relação ao sexo, dos gatos acompanhados durante o estágio no HVet/UnB

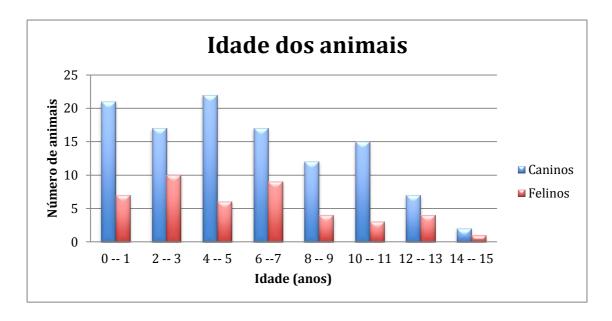


Figura 4. Relação dos animais de acordo com a idade. Comparação entre cães e gatos. Animais acompanhados durante o estágio no HVet/UnB.

Tabela 2. Relação das raças dos cães acompanhados durante o estágio no HVet/UnB.

Raças de cães		
	N	%
Sem raça definida (SRD)	40	35,40
Poodle	12	10,62
Yorkshire	07	6,19
Dachshund	06	5,31
Labrador Retriever	06	5,31
Dogo Argentino	05	4,42
Pit Bull	05	4,42
Fox Paulistinha	04	3,54
Golden Retriever	04	3,54
Shitzu	04	3,54
Bulldog Inglês	03	2,65
Chow Chow	03	2,65
Dog alemão	03	2,65
Hotweiller	02	1,77
Pastor Alemão	02	1,77
Cocker Spainel	01	0,88
Fila Brasileiro	01	0,88
Leão da Rodésia	01	0,88
Pug	01	0,88

Pastor de Shetland	01	0,88
West Terrier	01	0,88
Whipet	01	0,88
Total	113	100

N= número de animais.

Tabela 3. Relação das raças dos gatos acompanhados durante o estágio no HVet/UnB.

Raças de gatos		
	N	%
Sem raça definida (SRD)	33	75
Persa	06	13,63
Siamês	03	6,81
Himalaio	01	2,27
Maneicoon	01	2,27
Total	44	100

N= número de animais.

Tabela 4. Relação dos diagnósticos e suspeitas clínicas dos cães acompanhados durante o estágio no HVet/UnB.

Diagnóstico/Suspeita Clínica para cães			
Sistema	Afecção	N	%
	Endocardiose	05	
	Cinomose	03	
	Cardiomiopatia Dilatada	03	
	Bronquite	01	
Cardiorrespiratório	Choque cardiogênico	01	15,45
	Colapso de traqueia	01	
	Edema pulmonar agudo	01	
	Parada respiratória	01	
	Pneumonia	01	
	Gastroenterite	11	
Digestório	Parvovirose	80	
	Pancreatite	03	
	Ancilostomose	02	07.07
	Gastrite	02	27,27
	Giardíase	01	

	Impactação fecal	01	
	Intussuscepção	01	
	Obstrução por corpo estranho	01	
Fuelfanlus	Diabetes mellitus	02	0.00
Endócrino	Hipotireoidismo	02	3,63
	Anaplasmose	03	
Hemolinfático	Anemia hemolítica imunomediada	02	5,45
	Torção esplênica	01	
	Epilepsia idiopática	01	4.04
Nervoso	Meningite	01	1,81
	Doença renal crônica	06	
	Piometra	03	
	Glomerulonefrite	02	
Urogonital	Insuficiência renal aguda	02	15 15
Urogenital	Distocia	01	15,45
	Hidronefrose	01	
	Prenhez	01	
	Pseudociese	01	
	Atopia	05	
	Otites	03	
	Demodicose	02	
Tegumentar	Dermatite alérgica à picada de pulgas	01	12,72
	Inflamação das glândulas adanais	01	
	Piodermatite	01	
	Seborréia seca	01	
	Neoplasia mamária	04	
	Neoplasia com metástases generalizadas	02	
Oncologia	Carcinoma de células transicionais	01	8,18
	Mastcitoma	01	
	Neoplasia cardíaca	01	
	A esclarecer	03	
	Leptospirose	03	
_	Catarata	01	
Outros	Fratura de pelve	01	10,00
	Hérnia perineal	01	
	Leishmaniose	01	
	Politraumatismo	01	
Total		110	100

N= número de animais

Tabela 5. Relação dos diagnósticos e suspeitas clínicas dos gatos acompanhados durante o estágio no HVet/UnB.

Diagnóstico/Suspeita Clínica para gatos			
Sistema	Afecção	N	%
Cardiorrespiratório	Complexo respiratório felino	02	8,10
	Criptococose	01	
Digestório	Colangite	01	16,21
	Constipação	01	
	Giardíase	01	
	Insuficiência pancreática exócrina	01	
	Megacólon	01	
	Pancreatite	01	
Hemolinfático	Vírus da leucemia felina (Felv)	01	5,40
	Anemia arregenerativa	01	
Nervoso	Distúrbio psicogênico	01	5,40
	Diminuição do tônus anal	01	
Urogenital	Doença renal crônica	10	38,70
	Hidronefrose	01	
	Urolitíase	01	
Tegumentar	Abscesso	02	10,81
	Ferida	01	
	Otites	01	
Oncologia	Fibrossarcoma	01	5,41
	Osteossarcoma	01	
	A esclarecer	04	
Outro	Intoxicação	01	16,21
Outros	Piotórax	01	
Total		37	100

N=número de animais

3. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A realização do estágio supervisionado proporcionou a discente uma excelente experiência profissional possibilitando trabalhar em vários setores da clínica médica de pequenos animais, como a clínica geral, cardiologia, internação e medicina intensiva, clínica de felinos e outros. Pelas discussões rotineiras com os residentes sobre os casos clínicos, diagnósticos e protocolos de tratamentos, foi possível adicionar conhecimento focado na atuação prática do Médico Veterinário. Foi adicionado ainda conhecimento ético sobre esta profissão por meio da observação da atuação dos profissionais e por meio do contato com os proprietários.

Acompanhando o setor da internação, a estagiária pôde vivenciar a rotina do atendimento emergencial aprendendo a lidar com situações estressantes, em que a vida do animal depende de ações rápidas e responsáveis. Estas situações eram comuns na rotina do HVet/UnB e por meio do convívio com elas, a discente desenvolveu um raciocínio clínico mais prático e ágil.

O Hospital proporcionou maior contato com cães que com gatos, o que pode ser justificado pelo rodízio proposto pelo Hospital, em que a cada dois setores relacionado a cães, a estagiária passava por um relacionado aos felinos.

Durante o estágio na clínica de felinos, a estagiária desenvolveu habilidades que não detinha previamente por nunca ter trabalhado com estes animais durante o curso de Medicina Veterinária. Ademais, como o Hospital Veterinário da UnB é tido como referência em medicina felina no Distrito Federal, a casuística disponível contribuiu significantemente para o aprendizado não somente nas diversas afecções que acometem os felinos, como em aspectos de conduta para com estes animais. Os felinos mais atendidos durante o estágio foram sem raça definida (SRD), característica que pode ser justificada pelo grande número de adoções de animais de rua que vimos em Brasília. A enfermidade de maior frequência entre os felinos durante o estágio no HVet/UnB foi a doença renal crônica, afecção comum entre estes animais, principalmente os de idade avançada.

Quanto aos cães, o sistema mais afetado foi o gastrointestinal, sendo as gastroenterites as afecções mais comuns. Acompanharam-se muitos casos de gastroenterites medicamentosas. Muitos destes casos foram causados por administração de medicamentos humanos pelos próprios proprietários, ou ainda pela administração de medicamentos veterinários indicados por outros profissionais que não Médicos Veterinários.

No período em que esteve acompanhando o atendimento de cães nos consultórios, a estagiária pôde aprender por meio de observação como deve ser a postura de um Médico Veterinário, sempre atentando-se à ética profissional, além de aprender sobre como deve ser uma anamnese adequada, com informações relevantes sobre determinados casos clínicos.

Sempre que possível, os residentes, médicos veterinários e professores discutiam com a estagiária sobre diagnósticos, tratamentos prescritos, laudos de exames, entre outros. Estas discussões foram valiosas para o enriquecimento acadêmico da discente.

PARTE II

"LEPTOSPIROSE CANINA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA"

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença zoonótica, de distribuição mundial, causada por uma espiroqueta denominada *Leptospira spp.* (CAROLE, 1996). Tem maior prevalência em países de clima tropical e tem picos de ocorrência em épocas de chuva (LEVETT, 2001).

A transmissão da doença pode ser diretamente pela urina de animais infectados ou indiretamente por meio de água, solo ou lama contaminada (DZIEZYC, 2000). A doença clínica pode variar de subaguda, aguda ou crônica (SYKES et al., 2011). Caracteriza-se por uma fase inicial de leptospiremia, em que há a multiplicação das leptospiras no sangue do hospedeiro, e uma fase seguinte em que as leptospiras se alojam nos órgãos, comumente em fígado, baço e rins, nestes últimos caracterizando a fase leptospirúrica, em que o animal libera leptospiras para o meio ambiente na urina (GREENE et al., 2006).

O diagnóstico da doença pode ser feito, basicamente, por testes que detectam a presença de anticorpos séricos ou por testes que detectam a presença do microorganismo em tecidos ou fluidos corporais do animal (SYKES et al., 2011), dentre os quais a Prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), um teste de detecção de anticorpos, tem sido o teste de escolha para o diagnóstico da leptospirose em Medicina Veterinária (VAN DE MAELE, 2008).

O presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre a leptospirose canina abordando seus aspectos epidemiológicos e patogênicos, elucidando seus sinais clínicos, principais alterações clinicopatológicas e métodos diagnósticos mais atuais, além de abordar tratamentos em uso e controversos na rotina clínica da medicina veterinária.

2. EPIDEMIOLOGIA

A leptospirose é uma zoonose bacteriana, causada pela espiroqueta denominada *Leptospira* spp, tem distribuição mundial e é uma doença infecciosa emergente em humanos e cães (ALTON et al., 2009).

Tem incidência significantemente maior em países de clima tropical do que em países de clima temperado. É uma doença sazonal com picos no verão e no outono em países temperados, em que a temperatura é o fator limitante para sua sobrevivência; já nos países tropicais seu pico ocorre durante os períodos chuvosos em que, neste caso, a umidade é o fator limitante (LEVETT, 2001).

A sobrevivência das *Leptospiras* spp. fora do hospedeiro é variável, dependendo das condições ambientais (VAN DE MAELE, 2008) tais como temperatura, umidade e pH. Água parada ou com pouco movimento e pH neutro a levemente alcalino contribuem para um ambiente favorável às *Leptospiras* spp. fazendo com que elas permaneçam viáveis e infectantes por mais de seis meses (LANGSTON & HEUTER, 2003).

A *Leptospira* spp. é uma espiroqueta móvel, fina e possui extremidade em forma de gancho (SYKES et al., 2011) com relatos de acometimento em mais de 150 espécies de mamíferos (VAN DE MAELE, 2008). Existem as leptospiras saprófitas de vida livre. Estas vivem na água e em solo úmido, e não infectam animais. Ambas espécies da *Leptospira* spp., saprófita e patotogênica, existem na natureza (SYKES et al., 2011).

Há mais de 250 sorovares patogênicos definidos por aglutinação de anticorpos. Estes sorovares são agrupados em sorogrupos de acordo com suas similaridades antigênicas (LEVETT, 2001). Cada sorovar tem um ou mais hospedeiros reservatórios (LANGSTON & HEUTER, 2003).

A leptospirose se dissemina por meio de hospedeiros reservatórios que normalmente não exibem sinais clínicos da doença. Estes animais são portadores da bactéria que se aloja principalmente nos túbulos renais proximais e são liberadas na urina por vários meses ou até pela vida inteira, sendo a causa da infecção direta ou indireta de outros animais e humanos

(STOKES & FORRESTER, 2004). Os animais podem ser hospedeiros reservatórios para certos sorovares e hospedeiros acidentais para outros, neste último caso podem manifestar sinais clínicos graves podendo ir a óbito (VAN DE MAELE, 2008). Os reservatórios mais conhecidos são os roedores, como o *Rattus Norvegicus*, que atuam principalmente como hospedeiros dos sorovares *Leptospira icterohaemorrhagiae* e *L. copenhageni*, ambos do sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* (VAN DE MAELE, 2008).

Os cães, assim como outras espécies de animais domésticos e silvestres, estão susceptíveis à infecção por todos os sorovares da *Leptospira* spp. São tidos como reservatórios do sorovar *L. canicola*, e infecções por este sorovar são raramente reconhecidas porque elas causam leve ou nenhum sinal clínico (GOLDSTEIN et al., 2006). Como regra geral para todas as espécies, animais infectados com o sorovar para o qual são adaptados podem excretar a bactéria persistentemente por toda a vida (HEATH & JOHNSON, 1994).

Há 30 anos as *Leptospiras* spp. mais comumente infectantes em cães eram a *Leptospira canicola* e *L. icterohaemorrhagiae*, porém com a introdução das vacinas bivalentes contendo estes dois sorovares, há a suspeita de outros no envolvimento das infecções por *Leptospiras* spp. incluindo *L. Grippotyphosa, L. Pomona, L. Bratislava* e *L. Autumnalis* (GEISEN et al., 2007). Entretanto, o reconhecimento destes outros sorovares pode ser em parte pela sua inclusão nos testes de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Além disso, as *Leptospiras* spp. podem mudar sua virulência e especificidade de hospedeiro em resposta a pressões seletivas ambientais (ADIN & COWGILL, 2000).

Cães adultos de quatro a sete anos são mais afetados (STOKES & FORRESTER, 2004). Não parece haver predisposição racial (VAN DE MAELE, 2008). Animais de rebanho e cães usados para caça parecem estar mais susceptíveis à infecção devido ao maior contato destes animais com campos e florestas (STOKES & FORRESTER, 2004).

Gatos parecem ser menos susceptíveis tanto à infecção experimental quanto à natural da leptospirose. Relatos clínicos desta doença em gatos são

raros (GREENE et al., 2006). Gatos infectados comumente apresentam uma rápida resposta imune que combate a infecção, entretanto alguns podem desenvolver a doença clínica (WATSON, 1994). Os sorogrupos de maior prevalência em gatos são *L. canicola*, *L. sejroe*, *L. australis* e *L. icterohaemorrhagiae* (ANDRÉ-FONTAINE, 2006)

3. PATOGENIA

A *Leptospira* spp. pode ser transmitida a hospedeiros suscetíveis diretamente pela urina de animais infectados ou indiretamente por meio da água, solo ou lama contaminada. Transmissões sexuais, transplacentárias e por feridas causadas por mordedura foram descritas em cães (DZIEZYC, 2000). Os microrganismos podem penetrar a barreira cutânea lesionada e mucosas íntegras, inclusive a conjuntiva (VAN DE MAELE, 2008). Inalação de água ou aerossóis contaminados também podem resultar em infecção via mucosa do trato respiratório (LEVETT, 2001).

Uma vez dentro do organismo do hospedeiro, as leptospiras se espalham rapidamente. Elas migram do local de inoculação rapidamente para a corrente sanguínea, podendo ser encontradas no sangue do animal minutos após a infecção. Esta fase é chamada de leptospiremia, na qual ocorre a multiplicação das leptospiras na corrente sanguínea do hospedeiro. Ela pode durar até aproximadamente 10 dias a partir do aparecimento dos sinais clínicos (ADLER & DE LA PEÑA-MOCTEZUMA, 2004).

Depois do período de leptospiremia, as leptospiras se alojam nos túbulos proximais dos rins e são eliminadas na urina, caracterizando a leptospirúria. A intensidade e a duração da leptospirúria variam de animal para animal e com o sorovar infectante. Cães infectados com o sorovar *L. canicola* geralmente têm longos períodos de leptospirúria que podem ter duração de até dois anos. Outros sorovares caracterizam, normalmente, períodos mais curtos de eliminação da *Leptospira* spp. pela urina. Fígado e baço também podem ser afetados. Algumas infecções podem atingir o sistema nervoso central e/ou os olhos. Podem ainda infectar útero gravídico

multiplicando-se nos fetos, levando ao aborto com ou sem reabsorção fetal ou prole fraca. A motilidade do microrganismo provavelmente é uma das características que facilita que ele se espalhe pelos tecidos (GREENE et al., 2006).

Os mecanismos patogênicos da *Leptospira* spp. não são completamente elucidados. A severidade da doença clínica varia tanto pela a virulência do sorovar infectante como pela capacidade imunológica do hospedeiro (PALANIAPPAN et al., 2007).

As lesões teciduais são caracterizadas por extensos danos celulares frente à presença de pequenas quantidades de microorganismos, o que sugere a existência de fatores tóxicos envolvidos que podem ser tanto da *Leptospira* spp. quanto do hospedeiro (ADLER & DE LA PEÑA-MOCTEZUMA, 2004).

Alguns sorovares têm capacidade de produzir hemolisina em quantidade suficiente para provocar intensa hemólise intravascular, resultando em hemoglobinúria. Proteínas citotóxicas também são produzidas por alguns exemplares virulentos, porém não se conhece a atuação destas toxinas. Esfingomielinases e porinas também podem ser expressas por alguns sorovares. Estas toxinas podem causar vasculite com graves danos endoteliais. Como resultado da destruição vascular: edema, diáteses hemorrágicas e Coagulação Intravascular Disseminada (CID) (HAUK et al., 2005). As *Leptospiras* spp. possuem lipossacarídeos que estimulam a aderência de neutrófilos e plaquetas às células endoteliais causando agregação e sugerindo uma importante participação na trombocitopenia que pode ocorrer nesta doença (ISOGAI et al, 1997).

A colonização dos rins pelos microrganismos causam insuficiência renal. Esta infecção causa edema do tecido renal comprometendo seu aporte sanguíneo, causando redução da taxa de filtração glomerular, hipóxia e falência renal aguda (LANGSTON & HEUTER, 2003).

Infecção do fígado pode resultar em icterícia, diminuição da albumina plasmática com aumento da concentração de globulina, e redução na

produção de fatores de coagulação vitamina-K dependentes (LANGSTON & HEUTER, 2003).

Os sorovares *L. icterohaemorrhagiae*, *L. copenhageni* e *L.pomona* induzem envolvimento hepático mais grave. Os sorovares *L. canicola* e *L.grippotyphosa* causam poucos sinais clínicos relacionados ao fígado (LANGSTON & HEUTER, 2003). Entretanto, a doença clínica que cada sorovar causa não está bem definida. Por exemplo, um animal infectado pelo sorovar *L. bratislava* pode manifestar o quadro subclínico, o quadro de insuficiência renal aguda (IRA) ou ainda uma combinação do quadro de insuficiência renal e hepática (GOLDSTEIN et al, 2006).

4. SINAIS CLÍNICOS

A manifestação da leptospirose em cães pode variar de leve a severa, podendo causar a morte. Sua gravidade é influenciada pela idade do animal, status vacinal, rota da infecção e sistemas afetados, grau da exposição, virulência do sorovar e pela resposta imune do hospedeiro. As formas clínicas da doença podem variar de aguda, subaguda e crônica (SYKES et al., 2011).

Os sinais clínicos desta doença possuem amplo espectro, variando de uma infecção subclínica a uma síndrome grave que acomete vários órgãos e possui alto grau de mortalidade, sendo que a maioria das infecções em cães cursa de forma subclínica assintomática a crônica com quadros de insuficiência renal e hepática (GEISEN et. al., 2007). A doença pode ainda ser ictérica ou anictérica, em que a maioria dos casos anictéricos desenvolve infecção subclínica ou de pouca gravidade (LEVETT, 2001). Sinais clínicos de doença renal e hepática, uveíte, hemorragia pulmonar, febre aguda e aborto comumente estão relacionados com a leptospirose (SYKES et al., 2011).

A infecção aguda pode levar o animal à morte rapidamente sem o aparecimento prévio de sinais clínicos (GREENE et al., 1998). Nesta forma pode ocorrer disfunção da coagulação levando ao quadro de coagulação

intravascular disseminada (CID) e a leptospiremia pode resultar em sepse e morte (SYKES et al., 2011).

Febre acompanhada de tremores, fraqueza muscular generalizada, relutância em se movimentar, letargia, vômito e diarreia costumam ocorrer na fase inicial da doença. Petéquias e sufusões em mucosas, icterícias, dores abdominais e lombares são sinais clínicos característicos da evolução da doença (GREENE et al., 1998; LEVETT, 2001).

Animais com insuficiência renal aguda (IRA) podem apresentar poliúria, polidipsia, desidratação, vômito, diarreia, inapetência, letargia ou dor abdominal ou ainda combinação destes sinais (CAROLE, 1996). Oligúria ou anúria também podem ocorrer. (MASTRORILLI et al., 2007). Em um experimento foi relatado que a leptospirose causa decréscimo na responsividade dos túbulos coletores da medula renal à vasopressina (ou hormônio antidiurético) (MAGALDI et al., 1992) sugerindo que a poliúria possa ser resultante de uma diabetes *insipidus* nefrogênica adquirida (SYKES et al., 2011)

Cães com hepatite podem apresentar inapetência, perda de peso, icterícia, ascite e, em casos crônicos, podem chegar a apresentar encefalopatia hepática (OLIVEIRA, 2010).

Outras manifestações da infecção incluem conjuntivite e uveíte, que pode ocorrer semanas a meses depois da fase aguda da doença. No entanto estas alterações são mais comuns em humanos e equinos (VAN DE MAELE, 2008). Podem estar presentes taquipneia ou dispneia causadas pela síndrome da angústia respiratória aguda ou síndrome pulmonar hemorrágica grave, que têm sido reportadas mais frequentemente em cães de algumas partes da Europa (BAUMANN & FLUCKIGER, 2001). Esta síndrome pulmonar altamente reconhecida em pacientes humanos, parece ter base imunomediada e está ligada com alta taxa de mortalidade (CRODA et al., 2010).

Tendências hemorrágicas podem se manifestar na forma de hematêmese, hematoquesia, hemoptise, melena, epistaxe e petéquias

(MASTRORILLI et al., 2007). Alterações causadas pela *Leptospira* spp como doença hepática, coagulação intravascular disseminada (CID) e dano vascular direto podem contribuir de variadas maneiras para estas hemorragias. A *Leptospira* spp. pode ainda causar vasculite culminando no surgimento do edema periférico e pleural leve ou efusão peritoneal (SYKES et al., 2011).

Assim como as alterações cardíacas podem ocorrer em humanos (SYKES et al., 2011), alterações ao ecocardiograma sugestivas de lesões miocárdicas foram observadas em cães. Adicionalmente aumentos séricos da troponina foram documentadas em cães com leptospirose (MASTRORILLI et al., 2007).

Casos de abortos ocorreram em cães com transmissão transplacentária do sorovar *L. buenos aires* (ROSSETTI et al., 2005) e um relato sugeriu aborto associado com o sorovar *L. bratisvala* (ELLIS, 1986).

5. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico para a leptospirose pode ser feito, basicamente, por meio de testes que detectam a presença de anticorpos séricos e testes que detectam a presença do microrganismo em tecidos ou fluidos corporais do paciente. Exames laboratoriais como o hemograma e bioquímicos, além da dosagem sérica da ureia e creatinina, e ainda a urinálise podem ser utilizados como exames complementares no diagnóstico da leptospirose, pois indicam alterações funcionais nos diferentes órgãos acometidos e contribuem para a avaliação clínica do animal (NAVARRO & KOCIBA, 1982)

5.1. Avaliação clinicopatológica

Níveis séricos aumentados de ureia e creatinina estão presentes em 80% a 90% dos animais em insuficiência renal aguda (MASTRORILLI et al., 2007). A urinálise destes animais pode apresentar isostenúria e ocasionalmente hipostenúria, glicosúria, proteinúria, bilirrubinúria, hematúria, piúria e cilindrúria (VAN DE MAELE, 2008) Um estudo sugeriu que as

proteínas encontradas na urina de cães com leptospirose eram primariamente tubulares em detrimento das glomerulares (PALANIAPPAN et al., 2007).

A disfunção hepática destes animais pode se manifestar pelo aumento sérico das concentrações das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA), além da bilirrubina total, quase sempre concomitante à azotemia. O aumento sérico da FA e da bilirrubina total são mais comuns que a elevação sérica da ALT (OLIVEIRA, 2010). A combinação da azotemia e dos aumentos séricos das enzimas hepáticas aumentam substancialmente a suspeita de leptospirose. Alterações histopatológicas no fígado geralmente incluem necrose generalizada leve à moderada (ANZAI, 2006) e hepatite periportal neutrofílica leve (SYKES et al., 2011).

Achados no hemograma de pacientes com leptospirose podem incluir neutrofilia, às vezes com desvio à esquerda, linfopenia e anemia arregenerativa leve a moderada. Incomumente observa-se anemia severa que pode ser consequência de hemorragia gastrointestinal ou pulmonar. Em contraste do que acontece com bovinos, a hemólise intravascular não parece ser característica da leptospirose canina (SYKES et al., 2011). A trombocitopenia está presente em 58% dos animais afetados (GEISEN et al., 2007; MASTRORILLI et al, 2007) e quando acompanhada dos sinais clínicos de insuficiência renal aguda, com ou sem sinais clínicos de doença hepática, é forte indicativo do diagnóstico de leptospirose (SYKES et al., 2011).

Alterações eletrolíticas pode ser resultado de perdas de fluidos renal e gastrointestinal. Outro fator contribuinte para estes distúrbios é a inibição da Na⁺-K⁺ ATPase por endotoxinas oriundas das *Leptospiras* spp.. Hiponatremia, hipocloremia, hipocalemia marcante e hiperfosfatemia ocorrem em muitos pacientes com leptospirose, porém alguns cães com insuficiência renal anúrica ou oligúrica podem desenvolver hipercalemia. Isto se dá pela maior taxa de reabsorção potássica causada por esta condição (SYKES et al., 2011).

Pacientes com leptospirose podem ainda manifestar taxas aumentadas de creatina quinase sérica, provavelmente pela miosite causada por esta infecção (MASTRORILLI et al., 2007).

Em radiografias torácicas de pacientes com leptospirose é possível observar, nos pulmões, padrões que vão de intersticiais nodulares a alveolares. As pneumonias intersticiais são menos comuns em cães do que em seres humanos e, quando ocorrem, são acompanhadas de tosse e dispneia (BAUMANN & FLUCKIGER, 2001).

A ultrassonografia abdominal pode revelar achados não específicos que incluem aumento de volume renal, aumento da ecogenicidade do córtex renal, acúmulo de líquido na região perirrenal, pielectasia discreta e faixas de ecogenicidade aumentada na região medular dos rins (FORREST et al., 1998). Aumento e hipoecogenicidade do pâncreas, espessamento gástrico e, menos comumente, da parede intestinal. Esplenomegalia com ecotextura mosqueada, e discreto aumento de linfonodos abdominais também podem ser encontrados (SYKES et al., 2011).

5.2. Testes de detecção de microorganismos

5.2.1. Exame direto por microscopia de campo escuro (MCE)

É realizado através da análise de urina ou soro por meio da microscopia de campo escuro (MCE). A vantagem deste método é a rapidez, e as desvantagens incluem a baixa sensibilidade e especificidade. A visualização direta dos microorganismos é problemática, mesmo para profissionais experientes. A realização da MCE é utilizada principalmente em amostras de urina durante a fase de leptospirúria. Artefatos presentes em fluidos corporais são difíceis de distinguir das *Leptospiras* spp., até para profissionais experientes. Além disso, outras espiroquetas móveis podem estar presentes na urina destes cães. O problema da baixa sensibilidade pode ser amenizado realizando-se a centrifugação da amostra para se concentrar a urina, entretanto a centrifugação também causará a concentração de debris celulares e de artefatos presentes. A sensibilidade da MCE é baixa, aproximadamente 10⁵ leptospiras/mL de urina devem estar presentes para serem detectadas. O exame direto de urina deve ser feito

após a primeira semana de infecção, já que no curso mais precoce da doença a probabilidade de se encontrar as leptospiras na urina é mais baixa (CAROLE, 1996).

A visualização de amostras de sangue por meio da MCE só tem valor para amostras colhidas nos primeiros dias da doença aguda, durante a ocorrência da leptospiremia (LEVETT, 2001). O exame direto por MCE de amostras de sangue, assim como o de urina, tem interpretação subjetiva pela presença de fibrina ou filamentos de proteínas que podem confundir o resultado (FAINE, 1999).

Em geral, o exame direto por MCE, quando feito por profissionais experientes, pode ser útil em um diagnóstico positivo primário para leptospirose, entretanto não deve ser confiável para o diagnóstico definitivo e nem para se descartar a leptospirose dos diagnósticos diferenciais (CAROLE, 1996). Este método não possibilita a diferenciação de leptospiras patogênicas de não patogênicas e nem a identificação de diferentes sorovares (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003).

5.2.2. Cultura

A cultura bacteriana é um método diagnóstico conclusivo para a leptospirose e específico para o sorovar infectante, porém não é útil para diagnósticos precoces, já que requer de três a seis meses de incubação para o crescimento das *Leptospiras* spp. (SYKES et al., 2011). Este longo período necessário para o resultado faz com que este teste não seja o de escolha padrão para o diagnóstico da leptospirose (WILD et al., 2002). Além do longo período de incubação, este teste requer meios de cultura específicos e cuidados especiais para evitar a contaminação da amostra que pode causar um crescimento excessivo das colônias e a condenação desta amostra (SYKES et al., 2011).

A cultura pode ser feita por amostras de sangue, urina ou tecido. Amostras de sangue são úteis apenas nos primeiros dias da doença clínica, fase conhecida como leptospiremia, e antes do início da terapia antibiótica (CAROLE, 1996). Por este motivo, estas amostras sanguíneas devem ser

retiradas o mais cedo possível após a apresentação do paciente ao veterinário (LEVETT, 2001). O sangue deve ser coletado de forma asséptica e imediatamente deve ser inoculado em tubos contendo o meio de cultura específico para *Leptospira* spp. antes de ser mandada ao laboratório para processamento (SYKES et al., 2011).

Amostras de urina devem ser colhidas depois da primeira semana da doença clínica por cistocentese e uma gota de urina deve ser inoculada em 5 mL de meio de cultura específico para Leptospira spp. em no máximo duas horas após a coleta (SYKES et al., 2011). Se a condição clínica do animal permitir, a coleta da urina deve ser realizada após a administração de drogas diuréticas (VAN DE MAELE et al, 2008). As culturas devem ser incubadas entre 29°C e 30°C por pelo menos 12 semanas e preferencialmente por 26 semanas. Elas devem ser examinadas em microscopia de campo escuro a cada uma ou duas semanas (ELLIS, 2006). Depois do crescimento e isolamento, as Leptospiras spp. podem ser sorotipadas (VAN DE MAELE et al, 2008). É de extrema importância que as culturas sejam realizadas por laboratórios especializados no isolamento e identificação das *Leptospiras* spp. pois este ensaio, além de ser delicado por requerer que os microorganismos permaneçam vivos e viáveis, requer ainda meio de cultura específico e profissionais capacitados para a sorotipagem das *Leptospiras* spp. (SYKES et al., 2011).

5.2.3. Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)

Testes de PCR são capazes de detectar o DNA de *Leptospiras* spp. e têm utilidade no diagnóstico precoce da doença quando ensaios de anticorpos são geralmente negativos por ainda não ter ocorrido a soroconversão (SYKES et al., 2011).

A PCR permite amplificar quantidades mínimas do DNA da *Leptospira* spp., que pode ser encontrado em amostras de sangue, urina e biópsias de tecidos (VAN DE MAELE et al, 2008). Resultados negativos não excluem a doença porque eles podem ocorrer quando se tem quantidades insuficientes de microorganismos na amostra ou por outros fatores como a ocorrência de fatores inibidores da PCR intrínsecos à amostra (SYKES et al., 2011). Em

geral, amostras de sangue e urina são mais confiáveis que amostras de tecidos. O processamento de tecidos é mais complicado e estas amostras têm, com mais frequência que as outras, fatores inibidores da reação de amplificação do DNA e, por este motivo, podem causar resultados falsos negativos (CAROLE, 1996).

Nos primeiros 10 dias da doença clínica a carga parasitária é maior na corrente sanguínea e, por este motivo, o sangue é a amostra de escolha neste período. Passados os 10 dias, os microorganismos estão presentes em maior concentração na urina, que se torna a amostra de escolha. Quando o tempo de infecção é desconhecido, amostras de ambos os fluidos podem aumentar a sensibilidade do diagnóstico (SYKES et al., 2011).

Pode ser feito em pacientes no início do tratamento com antibióticos (PALANIAPPAN et al., 2007) pois para que a PCR se torne negativa, múltiplas doses de antibióticos são requeridas já que este teste detecta tanto organismos viáveis como não viáveis (SYKES et al., 2011).

Excetuando os custos iniciais para a aquisição de equipamentos, a técnica de PCR é de baixo custo além de ser sensível, específica e rápida para o diagnóstico da leptospirose humana (HEINEMANN et al., 2000). Entretanto, é um processo complexo e extremamente sensível à contaminação por DNAs externos de *Leptospiras* spp. e por este motivo, pode estar propenso a falsos positivos se não houver segurança na execução do teste (CAROLE, 1996).

Apenas alguns ensaios de PCR são capazes de determinar o sorovar infectante e eles variam muito em sua performance (ZUEMER et al., 1995), entretanto, a PCR tem sido usada para diferenciar leptospiras patogênicas de não patogênicas (WOO et al., 1997). Apesar da identificação do sorovar não ser importante para o manejo individual do paciente, tem importante significado epidemiológico e de saúde pública (LEVETT, 2001).

Atualmente, há limitada informação sobre o uso da PCR para a detecção de leptospiras patogênicas infectantes de cães, assim como sua sensibilidade, especificidade e seu valor preditivo positivo quando utilizada

para estes animais. Por este motivo, resultados tanto positivos quanto negativos deste teste devem sempre ser interpretados em conjunto com outro método diagnóstico como o SAM (SYKES et al., 2011).

5.3. Testes de detecção de anticorpos

5.3.1. Prova de soroaglutinação microscópica (SAM)

A SAM é um teste amplamente disponível e acessível e é atualmente o teste diagnóstico de escolha para pacientes com quadro clínico consistente com a leptospirose. Ela é conduzida pelo confrontamento de apropriadas diluições do soro do animal com sorovares de *Leptospiras* spp. vivas. Estes sorovares são escolhidos previamente, normalmente de acordo com os de maior prevalência na região geográfica em que o teste está sendo realizado. A escolha dos agentes interfere na qualidade do teste, já que a especificidade deste fica menor quando a escolha dos sorovares não reflete os tipos infectantes na determinada região, o que pode levar a resultados falsos negativos (VAN DE MAELE et al, 2008).

A presença de anticorpos no soro do animal é indicada pela aglutinação das *Leptospiras* spp., que é visualizada por meio de microscopia de campo escuro (VAN DE MAELE et al, 2008). O resultado do teste é expresso na forma de títulos de anticorpos que na maior diluição do soro aglutinaram com 50% ou mais das *Leptospiras* spp. vivas. Não parece existir um consenso sobre qual seria a titulação mínima para um resultado negativo (SYKES et al., 2011). Mesmo com seu amplo uso, o teste é arriscado por conta da necessidade de se manter culturas vivas de *Leptospiras* spp. e da dificuldade de uma padronização, o que faz com que sua interpretação seja subjetiva e requeira considerável grau de especialização (BAUMANN & FLUCKIGER, 2001).

Anticorpos produzidos por um animal em resposta ao sorovar infectante comumente têm reação cruzada com outros não infectantes (LEVETT, 2001). Por este motivo, um cão infectado por um único sorovar pode apresentar anticorpos contra mais de um sorovar em uma SAM. Essas

reações denominadas "reações paradoxais" são comuns especialmente em infecções precoces e quando múltiplos sorovares circulam na população (CRODA et al., 2010). No passado, o sorovar admitido como o infectante na SAM era o que demonstrava maior titulação na amostra. Entretanto, em estudo mais recente que utilizou testes de culturas bacterianas, a previsão exata do sorovar foi correta em menos de 50% dos casos (LEVETT, 2003). Estas características de reações cruzadas faz com que a SAM seja melhor classificada como um teste sorogrupo-específico, e não sorovar-específico, já que não há especificidade garantida do teste para sorovares quando estes pertencem a um mesmo sorogrupo (SYKES et al., 2011).

Outro ponto de complicação para a interpretação da SAM é a falta de consenso sobre quais títulos de anticorpos são realmente significativos para o diagnóstico da leptospirose. Idealmente, testes pareados devem ser examinados para resultados mais confiáveis. Estes testes consistem em provas sorológicas intercaladas em um intervalo de aproximadamente 3 a 14 dias para que haja a soroconversão (LEVETT, 2001). Em alguns casos, a soroconversão ocorre mais tarde sendo necessária uma terceira amostra por volta da terceira semana após a infecção (BRANGER et al., 2005). Em casos de infecções agudas, aumento de quatro vezes na titulação de anticorpos pode ser visto nestes testes pareados. Entretanto, este aumento pode não ser observado em animais tratados com antibioticoterapia apropriada na ocasião do aparecimento de seus sinais clínicos. Existem ainda animais que podem manifestar forma fulminante da doença indo a óbito antes de apresentar a soroconversão. Junto a um quadro clínico consistente com a leptospirose e histórico de vacinação que excede três meses, titulações de 1:800 a 1:1.600 são bons indicativos de leptospirose. Entretanto, em um estudo demonstrou-se que cães com infecção ativa pelo sorovar L. canicola apresentaram titulações de 1:100 (CAROLE, 1996). Animais que já estiveram em contato com a leptospirose ou que estão em recuperação da doença podem mostrar titulações baixas à SAM. Logo, titulações baixas de anticorpos não excluem ou comprovam o diagnóstico de leptospirose assim como títulos positivos mesmo que possam aumentar a suspeita de leptospirose, isoladamente não podem confirmar, ainda que em altos títulos.

Este fato é especialmente importante para animais com histórico de vacinação (SYKES et al., 2011).

5.3.2. Imunoensaio Enzimático (ELISA - Enzyme-linked Immunosorbent Assay)

Este teste consiste em um imunoensaio enzimático para a detecção de anticorpos antileptospiras. Ele pode ser desenvolvido utilizando-se diferentes sorovares e protocolos de ensaios (CAROLE, 1996)

Protocolos que podem ser realizados são, por exemplo, a mensuração da IgM e IgG antileptospirais. A IgM antileptospiral é detectável na primeira semana de infecção, o que permite o diagnóstico precoce da doença e consequentemente o início do tratamento nesta fase inicial, tornando-o mais eficaz (LEVETT, 2001). Já anticorpos IgG são detectáveis por volta de duas semanas de infecção e persistem detectáveis por longos períodos. Logo, animais com infecções agudas têm títulos altos de IgM e relativamente baixos de IgG ao ELISA enquanto que animais vacinados ou que tiveram infecção prévia têm títulos baixos de IgM e altos de IgG (CAROLE, 1996).

Em medicina veterinária, este teste tem limitada aplicação clínica, pois são poucos os laboratórios que oferecem este serviço (GREENE et al., 2006).

6. TRATAMENTO

O tratamento da leptospirose em cães é baseado na reposição do equilíbrio hidroeletrolítico, energético e na antibioticoterapia (OLIVEIRA, 2010). Nos casos graves de anemia ou de coagulação intravascular disseminada (CID), pode-se fazer necessário o uso da transfusão sanguínea (SESSIONS & GREENE, 2004). A fluidoterapia é uma das primeiras considerações a se tomar para o tratamento do animal em insuficiência renal aguda (IRA) causada pela leptospirose. A produção de urina deve ser avaliada e, se necessário, diuréticos como furosemida ou manitol devem ser

administrados (VAN DE MAELE et al., 2008). Uma vez que a hidratação for restaurada, a acidose metabólica deve ser corrigida se o pH sanguíneo permanecer abaixo de 7,2 ou se a concentração do bicarbonato sérico estiver abaixo de 16 mmol/L (LANGSTON & HEUTER, 2003).

Bloqueadores de receptores histamínicos são comumente usados para tratar gastrites urêmicas, e a metoclopramida, um antiemético de ação central, pode ser associado, embora comumente seja usado com menor frequência. A pressão sanguínea destes pacientes deve ser monitorada, pois quadros hipertensivos podem acompanhar a insuficiência renal aguda. Nestes casos, assistência emergencial pode ser necessária (SYKES et al, 2011).

Devido ao grave estado catabólico e à reduzida ingestão de nutrientes associado à insuficiência renal destes pacientes, deve-se iniciar o suporte nutricional logo ao início dos sinais clínicos (VAN DE MAELE et al., 2008). A dieta deve conter proteínas de alto valor biológico e deve conter carboidratos e gorduras como fonte de energia, cujas quantidades devem ser avaliadas de acordo com as necessidades nutricionais de cada paciente. A administração de fontes energéticas é importante para que se faça a manutenção do equilíbrio de nitrogênio e prevenção do catabolismo proteico. Suplementação vitamínica também deve ser feita na dieta (COSTA et al., 2003).

A organização mundial de saúde recomenda que todos os pacientes humanos diagnosticados com leptospirose sejam tratados com medicamentos antibióticos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). O uso destas medicações como medidas profiláticas também é recomendado em humanos. Tal recomendação não se aplica para cães para evitar-se a seleção da resistência aos antimicrobianos (GREENE et al., 2006).

A ceftriaxona e a cefotaxime são tão eficazes quanto as penicilinas em humanos (SUPUTTAMONGKOL et al., 2010). Adicionalmente estudos de Meliço-Silvestre et al. (2008) em humanos afirmam que a resolução dos sinais clínicos e taxa de mortalidade são semelhantes quando do uso destes medicamentos. Alexander & Rule (1986) relatam que as cefalosporinas de primeira geração parecem menos eficazes. A azitromicina também pode ser

eficaz (SUPUTTAMONGKOL et al., 2010) e os benefícios de sua administração estão no menor número de contra-indicações e efeitos adversos quando comparada à doxiciclina. Segundo Meliço-Silvestre et al. (2008), esta droga apresenta comprovada eficácia "in vitro" e "in vivo" e representa uma boa escolha de medicação para casos moderados. Aparentemente as *Leptospiras* spp. têm demonstrado serem resistentes ao clorafenicol (ALEXANDER & RULE, 1986). O uso de fluoroquinolona é controverso, pois não existem estudos clínicos suficientes para sua recomendação (MELIÇO-SILVESTRE et al., 2008).

O tratamento ótimo para leptospirose canina é desconhecido. A administração de antibióticos iniciada de 4 a 7 dias depois do início dos sinais clínicos é menos efetiva em promover recuperação clínica do que a iniciada precocemente. A terapia antibiótica é direcionada inicialmente para resolver a fase leptospirêmica e, subsequentemente, a fase leptospirúrica (LANGSTON & HEUTER, 2003). Penicilinas e a doxiciclina são tradicionalmente os fármacos de escolha para o tratamento da leptospirose em humanos e cães.

Baseado em dados, a realidade consensual recomenda o tratamento da leptospirose canina com doxiciclina na posologia de 5 mg/kg via oral (VO) ou intravenosa (IV) a cada 12 horas por duas semanas, porém a duração ideal do tratamento requer investigações adicionais. O tratamento não deve ser atrasado por pendência de resultados de testes diagnósticos, pois a administração tardia piora o prognóstico do animal. Se ocorrerem vômitos ou outros efeitos adversos, a administração da doxiciclina deve ser suspensa e os animais devem ser tratados com ampicilina 20 mg/kg IV a cada 6 horas, com redução da dose para animais azotêmicos (SYKES et al., 2011). Esta medicação não deve ser administrada por via oral por não ser bem absorvida pelo trato gastrointestinal (CABANA, 1969). A penicilina G, a 25.000 – 40.000 U/Kg IV a cada 12 horas também pode ser usada em substituição à doxiciclina. Mesmo com a troca da medicação, quando o animal cessar a apresentação dos sinais gastrointestinais, deve-se voltar a administrar a doxiciclina por duas semanas para que as leptospiras sejam eliminadas dos túbulos renais. O uso concomitante da fluoroquinolona com estes antibióticos não é recomendado em cães com leptospirose porque esta associação

contribui para criação de resistência em outras bactérias. Mais estudos devem ser feitos para avaliar a concentração de leptospiras no sangue e na urina de cães com o uso dos diferentes antibióticos e tempos de uso (SYKES et al., 2011).

7. PROFILAXIA

A resposta imune do animal frente à vacinação é variável quanto à qualidade e tipo da vacina e quanto a fatores inerentes ao animal (FAINE, 1999). Para Langoni et al. (2002), as vacinas induzem a proteção no animal contra a doença clínica, mas nem sempre protegem contra o estado de portador renal das leptospiras. A imunidade conferida pela Leptospira spp. é sorovar específica e protege apenas contra a doença causada pelo sorovar homólogo ou sorovares similares antigenicamente, o que faz de algumas vacinas uma medida profilática ineficiente quando os sorovares presentes na vacina não correspondem aos representativos da população em questão (FAINE, 1999). Os principais sorovares encontrados nas vacinas comerciais caninas são os *L. canicola* e *L. icterohaemorrhagiae* (GREENE et al., 2006).

Recomendações devem ser feitas aos proprietários quanto ao manejo dos animais diagnosticados com a doença. Até que o tratamento antibiótico adequado seja finalizado, os proprietários devem evitar contato com a urina de seus animais e sempre fazer uso de luvas para realizar a limpeza das áreas contaminadas com urina utilizando hipoclorito de sódio a 2,5% (água sanitária) (BILBIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE, 2005). Adicionalmente devem fazer higiene das mãos sempre após o manejo dos animais. Veterinários devem informar aos proprietários sobre as propriedades zoonóticas da leptospirose e recomendar que procurem assistência médica para esclarecimentos sobre a doença humana. Animais tratados adequadamente não representam risco zoonótico. (SYKES, et al., 2011)

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um dos pontos que se ressaltou no trabalho foi que a leptospirose é uma síndrome de sinais clínicos variados e inespecíficos, o que dificulta seu diagnóstico e terapia.

O método diagnóstico deve ser escolhido com cautela baseando-se no estágio da doença em que o animal se encontra e deve, preferencialmente, ser confrontado com os exames laboratoriais, como hemograma e bioquímicos, para um diagnóstico mais confiável. Faltam ainda estudos na área da Medicina Veterinária para que alguns testes diagnósticos fiquem mais confiáveis e aplicáveis como a PCR e ELISA.

O tratamento ótimo para a leptospirose não foi definido, ficando a critério do Médico Veterinário o protocolo a ser adotado. O profissional deve basearse no estado clínico do animal e estágio de desenvolvimento da doença para realizar esta escolha. Exames bioquímicos e hemogramas são bons indicativos do quadro de saúde do paciente e são úteis também para avaliação da eficácia do tratamento.

Pelo trabalho mostrou-se que, mesmo sendo uma doença com potencial de morbidade e caráter zoonótico, animais tratados adequadamente não representam risco para a população.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIN, C. A., COWGILL, L. D. Treatment and outcome of dogs with leptospirosis: 36 cases. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** v. 216, p. 371-375, 2000.

ADLER, B., DE LA PEÑA-MOCTEZUMA, A. Leptospira. In: GYLES, C. L., PRESCOTT, J. F., SONGER, J. G., THOEN, C. O. **Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals**, 3^a ed, Blackwell, p. 385-396, 2004.

ALEXANDER, A. D., RULE P. D. Penicillins, cephalosporins, and teracyclines in the treatment of hamsters with fatal leptospirosis. **Antimicrobial Agents and Chemoteraphy**. v. 30, p. 835-839, 1986.

ALTON, G. D., BERKE, O., REID-SMITH, R., OJKIC, D., PRESCOTT, J. F. Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors, Ontario 1998-2006. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v. 73, p. 167-175, 2009.

ANDRÉ-FONTAINE, G. Canine leptospirosis – do we have a problem?. **Veterinary Microbiology**. v. 117, p 19-24, 2006.

ANZAI, E. K. Utilização da PCR para o diagnóstico da leptospirose em cães naturalmente infectados por Leptospira spp. 2006. 49 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) — Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2006.

BAUMANN, D., FLUCKIGER, M. Radiographic findings in the thorax of dogs with leptospiral infection. **Veterinary Sciences**. v. 42, p. 305-307, 2001.

BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. Dicas em saúde: Leptospirose [online]. 2005. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/dicas/86lepto.html. Acesso em 26 fev 2013.

BLOOD, D. C., RADOSTITS, O. M. **Clínica Veterinária**, 9ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 637-646, 2002.

BRANGER, C., BLANCHARD, B., FILLONEAU, C. et al. Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic Leptospira based on the gene hap 1

enconding the hemolysis-associated protein-1. **FEMS Microbiology Letters**. v. 15, p. 437-445, 2005.

CABANA, B. E., WILLHITE, L. E., BIERWAGEN, M. E. Pharmacokinetic evaluation of the oral absorption of different ampicillin preparations in beagle dogs. **Antimicrobial Agents and Chemoteraphy**. v. 9, p. 35-41, 1969.

CAROLE, A. B. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)**. v. 11, p. 166-171, 1996.

COSTA, J. A. C., VIEIRA-NETO, O. M., NETO, M. M. Insuficiência renal aguda. **Medicina, Ribeirão Preto**. v. 36, p. 307-324, 2003.

CRODA, J., NETO, A. N., BRASIL, R. A., PAGLIARI, C., NICODEMO, A. C., DUARTE, M. I. S. Leptospirosis pulmonary haemorrhage syndrome is associated with linear deposition of immunoglobulin and complement on the alveolar surface. **European Society Of Clinical Microbiology and Infectious diseases**. v. 16, p. 593-599, 2010.

DZIEZYC, J. Canine systemic bacterial infections. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 30, p. 1103-1117, 2000.

ELLIS, W. A. Leptospirosis. In: STRAW, B. E., ZIMMERMAN, J. J., D'ALLAIRE, S. **Diseases of Swine**, 9^a ed, Blackwell, p. 691-700, 2006.

ELLIS W. A. Leptospirosis. **Journal of Small Animal Pratice**. v. 27, p. 683-692, 1986.

FAINE, S., ADLER, B., BOLIN, C., PEROLAT, P. Leptospira and leptospirosis. 2^a ed, Melbourne, Australia: MedSci, 272 p., 1999.

FORREST, L. J., O'BRIEN, R. T., TREMELLING, M. S., STEINBERG, H., COOLEY, A. J., KERLIN, R. L. Sonographic renal findings in 20 dogs with leptospirosis. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. v. 30, p. 337-340, 1998.

GEISEN, V., SETENGEL, C., BREM, S., MÜLLER, W., GREENE, C., HARTMANN, K. Canine Leptospirosis infections – clinical signs and outcome

with different suspected Leptospira serogroups (42 cases). **Journal of Small Animal Practice**. v. 48, p. 324-328, 2007.

GOLDSTEIN, R. E., LIN, R. C., LANGSTON, C. E., SCRIVANI, P. V., ERB, H. N., BARR, S. C. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. **Journal of Veterinary Medicine**. v. 20, p. 489-494, 2006.

GREENE, C. E., SYKES, J. E., BROWN, C. A. & HARTMANN, K. Leptospirosis. In: **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3^a ed. Ed C. E. Greene. St. Louis, Saunders Elsevier. p. 402-417, 2006

HAUK, P., NEGROTTO, S., ROMERO, E. C. et al. Expression and characterization of hylX hemolysin from Leptospira interrogans serovar Copenhageni: potentiation oh haemolytic activity by LipL32. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 333, p. 1341-1347, 2005.

HEATH, S. E.; JOHNSON, R. Leptospirosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, p. 1518-1523, 1994.

HEINEMANN, M. B., GARCIA, J. F., NUNES, C. M. et al. Detection and differentiation of leptospira spp. serovars in bovine semen by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. **Veterinary Microbiology**. v. 73, p. 261-267, 2000.

ISOGAI, E., HIROSE, K., KIMURA, K. et al. Role of platelet-activating-factor (PAF) on cellular responses after stimulation with leptospire lipopolysaccharide. **Microbiology and Immunology**. v. 41, p. 271-275, 1997.

LANGONI, H., PIMENTEL, V. L., SILVA, A. V., et al. Avaliação da dinâmica de anticorpos pós-vacinais contra Leptospira spp. em cães vacinados pela prova de SAM. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 54-61, 2002.

LANGSTON, C. E., HEUTER, K. L. Leptospirosis. A re-emerging zoonotic disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v. 33, p. 791-807, 2003.

LEVETT, P, N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 14, p. 296-326, 2001.

LEVETT, P. N. Usefullness of serological analysis as a predictor of the infecting serovar in patients with severe leptospirosis. **Clinical Infectious Diseases.** v. 36, p. 447- 452, 2003.

MAGALDI, A. J., YASUDA, P. N., KUDO, L. H., SEGURO, A. C. ROCHA, A. S. Renal involvement in leptospirosis: a pathophysiologic study. **Nephron**. v. 62, p. 332-339, 1992.

MASTRORILLI, C., DONDI, F., AGNOLI, C. et al. Clinicopathologic features and outcome predictors of Leptospira interrogans Australis serogroup infection in dogs: a restrospective study of 20 cases (2001-2004). **Journal of Veterinary Internal Medicine.** v. 21, p. 2-10, 2007.

MELIÇO-SILVESTRE, A., SARAIVA DA CUNHA, J. G., et al. Doenças infecciosas: o desafio da clínica. **Coimbra: Departamento de Doenças Infecciosas do Hospital da Universidade de Coimbra.** 2008. Disponível em: http://hdl.handle.net/10400.4/716>. Acesso em 25 de fev de 2013.

MICHEL, V., BRANGER, C., ANDRÉ-FONTAINE, G. Epidemiology of leptospirosis. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 54, p. 7-10, 2002.

NAVARRO, C. E., KOCIBA, G, J. Hemostatic changes in dogs with experimental Leptospira interrogans serovar Icterohaemorrhagiae infection. **American Journal of Veterinary Research**. v. 43, p. 904-906, 1982.

OLIVEIRA, S. T. Leptospirose canina: dados clínicos, laboratoriais e terapêuticos em cães naturalmente infectados. 2010. 88 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PALANIAPPAN, R. U. M., RAMANUJAM, S., CHANG, Y. Leptospirosis: pathogenesis, immunity, and diagnosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**. v. 20, p. 284-292, 2007.

ROSSETTI, C. A., LIEM, M., SAMARTINO, L. E., HARTSKEERL, R. A. Buenos Aires, a new Leptospira serovar of serogroup Djasiman, isolated from an aborted dog fetus in Argentina. **Veterinary Microbiology**. v. 107, p. 241-248, 2005.

SESSIONS, J. K., GREENE, C. E. Canine leptospirosis: Treatment, prevention, and zoonosis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinaran**. v. 26, p. 700-711, 2004.

STOKES, J. E., FORRESTER, S. D. New and unusual causes of acute renal failure in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.** v. 34, p. 909-922, 2004.

SUPUTTAMONGKOL, Y., CHIERAKUL, W., DAY, N. et al. Strategies for diagnosis and treatment of suspected leptospirosis: a cost-benefit analysis. **PLoS Nelgected Tropical Diseases**. v. 4, p. 1-6, 2010.

SYKES, J. E., HARTMANN, K., LUNN, K. F. et al. 2010 ACVIM Small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 25, p 1-13, 2011.

VAN DE MAELE, I., CLAUS, A., HAESEBROUCK, F., DAMINET, S. Leptospirosis in dogs: a review with emphasis on clinical aspects. **The Veterinary Record**. v. 163, p. 409-413, 2008.

WATSON, A. D. J. Leptospirosis in cats and dogs. **Australian Veterinary Journal**. v. 71, p. 59-60, 1994.

WILD, C. J., GREENE, J. J., BOLIN, C. A. et al. An improved immunohistochemical diagnostic technique for canine leptospirosis using antileptospiral antibodies on renal tissue. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 14, p. 20-24, 2002.

WOO, T. H. S., SMYTHE, L. D., SYMONDS, M. L. et al. Rapid distinction between Leptospira interrogans and Leptospira biflexa by PCR amplification of 23S ribosomal DNA. **FEMS Microbiology Letters**. v. 150, p. 9-18, 1997.

World Health Organization. Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. 109 f. 2003.

ZUEMER, R. L., ALT, D., BOLIN, C. A. IS1533-based PCR assay for identification of Leptospira interrogans sensu lato serovars. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 33, p. 3284-3289, 1995.