



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Leptospirose em cães

Melissa Hanzen Pinna¹; Arianne Pontes Oriá²; Grazielle Bonadiman Cypriano³; Fernanda Santana Oliveira¹; Daniela Santos Almeida¹; Ana Carla Oliveira Pinheiro¹; Livia Dias Macêdo¹; Daniele Santos Rolemberg¹

¹Laboratório de Bacterioses do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia. Av: Adhemar de Barros, 500 – Ondina, Salvador/Bahia. Cep:40170110. melissahp@ufba.br

²Departamento de Patologia e Clínicas da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia

³Médica Veterinária.

Resumo

A leptospirose é uma importante zoonose determinada pela infecção com a espiroqueta *Leptospira interrogans* (sensu lato) e pode acometer diversas espécies animais, inclusive a canina, manifestando-se nos ecossistemas silvestre, urbano e rural. É causada por diferentes espécies de *Leptospira* sp., bactérias ubiqüitárias que estão presentes na água, solo e reservatórios animais. No Brasil, a doença é relativamente comum. O combate dos roedores, que são hospedeiros naturais do serovar, é um desafio permanente, e muito se tem discutido a respeito, inclusive sobre resistência aos raticidas por parte dos roedores a fim de controlar a doença. O objetivo do presente trabalho foi

realizar uma revisão de literatura enfocando principalmente a patogenia, os sinais clínicos e a patologia clínica da doença em cães, causada exclusivamente pelo serovar Icterohaemorrhagiae.

Leptospirosis in dogs

Abstract

Leptospirosis is an important zoonosis determined by infection with the spirochete *Leptospira interrogans* (sensu lato) and can affect several species, including canine, manifesting itself in wild ecosystems, urban and rural. It is caused by different species of *Leptospira* sp., ubiquitous bacteria that are present in water, soil and animal reservoirs. In Brazil, the disease is relatively common. The battle of the rodents, which are natural hosts of serovar, is a constant challenge, and much has been discussed about, including resistance to rodenticides on by rodents in order to control the disease. The aim of this study was a literature review focusing mainly on the pathogenesis, clinical signs and clinical pathology of the disease in dogs, caused solely by the serovar icterohaemorrhagiae.

1. Biologia

A palavra leptospira deriva do grego e traduz-se *leptós* - fino, pequeno, delicado e *speira*, espira. São bactérias helicoidais de 6 a 20 µm de comprimento e 0,1 µm de diâmetro (LEVETT, 2001), filamentosas, delgadas, podendo apresentar uma ou ambas as extremidades curvadas em formato de gancho (PELCZAR JUNIOR, CHAN e KRIEG, 1996; LEVETT, 2001; TORTORA, FUNKE e CASE, 2003). Nestas extremidades, as leptospiras, que são espiroquetas, possuem dois flagelos polares conhecidos como filamentos axiais ou flagelos periplasmáticos, que lhes garantem alta motilidade (FAINE et al., 2000; LEVETT, 2001; BARTHI et al., 2003). Assim, podem realizar movimentos de rotação e translação ao longo do seu eixo, em linha reta ou em círculos

(PELCZAR JUNIOR, CHAN e KRIEG, 1996; FAINE et al., 2000; LEVETT, 2001; TORTORA, FUNKE e CASE, 2003).

O lipopolissacarídeo que compõe a membrana externa das leptospiros se assemelha com o de bactérias Gram-negativas, porém possui menor atividade endotóxica (SHIMIZU et al., 1987). Estas espiroquetas não se coram pelos métodos usuais de coloração, sendo visualizadas apenas em microscopia de campo escuro ou em microscopia de campo claro de contraste de fase, ou ainda, em preparações impregnadas pela prata (FAINE et al., 2000).

As bactérias do gênero *Leptospira sp* são pouco resistentes, sendo rapidamente eliminadas pela desidratação e temperatura entre 50-60°C. A resistência aos desinfetantes é bastante pequena. São inibidas em pH inferior a 6,8 ou superior a 8,0 e temperaturas inferiores a 10°C (FAINE et al., 2000). No entanto, quando em condições favoráveis, sobrevivem na água e em cultura por longos períodos (FAINE et al., 2000). Solos, lama, coleções de água doce, rios (PELCZAR JUNIOR, CHAN e KRIEG, 1996; NELSON e COUTO, 2006), pântanos, órgãos e tecidos de animais vivos ou mortos são também citados como possíveis habitats para a espiroqueta. As espécies patogênicas podem sobreviver no ambiente, mas preferencialmente encontram-se no hospedeiro, onde se multiplicam (FAINE et al., 2000). As leptospiros saprófitas e patogênicas tendem naturalmente a formar agregados em coleções de água, mas apenas as saprófitas multiplicam-se no ambiente (TRUEBA et al., 2004; GANOZA et al., 2006).

2. Taxonomia

As leptospiros pertencem a um filo bacteriano único, *Spirochaetes*, compondo a Ordem *Spirochaetales*. A família *Leptospiraceae* compreende o gênero *Leptospira sp*, e este é composto por bactérias saprófitas e patogênicas. A taxonomia e a classificação das leptospiros são complexas e vêm sofrendo algumas alterações ao longo dos últimos anos (PEROLAT et al., 1998; BRENNER et al., 1999; LEVETT et al., 2005). Até 1989 o gênero

Leptospira sp era classificado de acordo com a sorologia, baseando-se na variabilidade do lipopolissacarídeo de parede, e de acordo com o fenótipo bacteriano; sendo dividido em dois grandes grupos, *Leptospira biflexa sensu lato*, contendo as leptospiros saprófitas ou ambientais e *Leptospira interrogans sensu lato*, contendo as leptospiros patogênicas (BARTHI et al., 2003).

Diversos serovares foram identificados de acordo com a aglutinação sorológica que era observada (FAINE et al., 2000) e os que se relacionavam antigenicamente foram agrupados em sorogrupos, os quais não fazem parte da taxonomia, mas são indispensáveis à compreensão da epidemiologia e diagnóstico da doença. Sabe-se que existem mais de 250 serovares agrupados em 24 sorogrupos (LEVETT, 2001).

A classificação fenotípica vem sendo substituída pela genotípica, baseada no grau de parentesco entre DNA-DNA, a qual agrupou as leptospiros em diversas espécies genômicas, correspondendo então a grupos com DNA relacionado (LEVETT et al., 2005; MATTHIAS et al., 2008). Como a reclassificação do gênero manteve os nomes das espécies *L. interrogans* e *L. biflexa*, para evitar confusão na nomenclatura chama-se *L. interrogans sensu lato* e *L. biflexa sensu lato* quando se refere à antiga nomenclatura sorológica, e *L. interrogans strictu sensu* e *L. biflexa strictu sensu* quando se refere às genomoespécies (LEVETT, 2001). O maior problema da classificação genotípica é que muitas vezes um mesmo serovar pode representar mais de uma espécie genômica (BRENNER et al., 1999).

A classificação molecular permanece confusa para a microbiologia clínica e a epidemiologia, sendo ainda aceito referir-se às leptospiros pela classificação sorológica antiga (BARTHI et al., 2003).

3. Epidemiologia

A leptospirose é uma doença que acomete humanos e animais, tem distribuição mundial em áreas urbanas, silvestres e rurais e tem sua ocorrência ligada a fatores ambientais e climáticos (PELCZAR JUNIOR, CHAN e KRIEG,

1996; FAINE et al., 2000; VASCONCELLOS, 2000; LEVETT, 2001; QUERINO et al. 2003; TORTORA, FUNKE e CASE, 2003; BATISTA et al., 2004) podendo manifestar-se em níveis endêmicos ou gerar surtos epidêmicos (VASCONCELLOS, 2000; BLAZIUS et al., 2005). Possui caráter sazonal descrito por diversos autores, estando diretamente relacionada a períodos chuvosos, quando há elevação do índice pluviométrico (JOUGLARD e BROD, 2000; QUERINO et al., 2003; BATISTA et al., 2004; BLAZIUS et al., 2005).

Há uma grande diversidade de reservatórios ou hospedeiros de manutenção de leptospiras, entre eles estão os animais silvestres e domésticos, como caninos, bovinos, suínos, caprinos, eqüinos e ovinos (VASCONCELLOS, 2000). Diversos serovares podem infectar o cão (HAGIWARA et al., 2004) e esta espécie é hospedeira natural do serovar *canicola* (GREENE et al., 2006), portanto sofre infecção subclínica ou crônica, podendo muitas vezes mostrar-se assintomático (FREIRE, 2005); enquanto que quando infectado pelo serovar *Icterohaemorrhagiae*, desenvolve doença aguda e severa (GREENE, 2004).

Os reservatórios animais são cronicamente infectados nos rins pelos diferentes serovares de *Leptospira* (LEVETT, 2001; ATHANAZIO et al., 2008). Este é um dos locais de predileção da bactéria. Assim, a transmissão da leptospirose ocorre através da eliminação de leptospiras na urina havendo a contaminação de água e solo, sendo a água o principal veículo de transmissão da doença (JOUGLARD e BROD, 2000; MCBRIDE et al., 2005) ou ainda, as leptospiras podem persistir no trato genital, sendo desta forma eliminadas pelo sêmen e secreções vaginais e, portanto transmitidas pela cópula ou inseminação artificial (FAINE et al., 2000).

As vias de transmissão clássicas da leptospirose são através do contato com a pele lesada e mucosa íntegra (NELSON e COUTO, 2006). O conhecimento dos serovares e seus hospedeiros de manutenção são essenciais para a compreensão da epidemiologia da doença em uma dada região (LEVETT, 2001).

Os animais que sobrevivem à fase aguda da leptospirose podem desenvolver a condição de portadores convalescentes onde as leptospiras instalam-se e multiplicam-se nos túbulos renais e são eliminados para o meio ambiente por períodos variáveis (FAINE et al., 2000).

O principal reservatório do serovar Icterohaemorrhagiae em meio urbano é reconhecidamente o rato de esgoto, *Rattus norvegicus* (WHO, 2003), que alberga em seus rins a espiroqueta sem aparentemente sofrer danos consideráveis. O roedor elimina-a pela urina contaminando o ambiente (LILENBAUM et al., 1993) e conseqüentemente os animais susceptíveis quando em contato com estas espiroquetas livres. Os cães, pelo fato de serem carnívoros, podem se contaminar através da caça e ingestão desses ratos domésticos portadores da bactéria. A partir disso, o cão doméstico também pode atuar como disseminador do serovar Icterohaemorrhagiae, especialmente o animal convalescente, sendo considerado mais um reservatório do patógeno (YASUDA et al., 1980). Apesar de serem encontrados cães reagentes a diversos serovares de *Leptospira sp*, ainda há a predominância da infecção pelos serovares Icterohaemorrhagiae e canicola (FREIRE, 2005).

4. Patogenia

A patogenia da leptospirose é complexa e está relacionada a múltiplos fatores tais como, localização do patógeno, adaptabilidade ao hospedeiro e aporte imunológico. A penetração da espiroqueta pela pele lesada e mucosa íntegra é favorecida por sua motilidade e morfologia características.

Nos cães acometidos pelo serovar Icterohaemorrhagiae, após a infecção, a primeira fase da doença se dá pela rápida disseminação da bactéria pela corrente sanguínea do hospedeiro, ocorrendo multiplicação ou leptospiremia com duração média de 3 a 10 dias; esta fase é considerada não imune e apresenta sinais brandos e inespecíficos. A partir daí se disseminam e proliferam em muitos tecidos como baço, sistema nervoso central, musculatura

esquelética, olhos e trato genital, mas principalmente no fígado, e também na parede intestinal, determinando enterites e nos rins, onde leva a glomerulonefrite e hemorragias. O sistema imune começa a produzir anticorpos específicos contra a bactéria invasora e a sintomatologia clássica pode ser observada (MORRISON e WRIGHT, 1976; FAINE et al., 2000).

Os túbulos renais parecem ser o local de preferência para colonização das leptospiras, neles e na bexiga urinária há a presença de imunoglobulinas anti-leptospiras, mas estas não são capazes de neutralizá-las. Acredita-se que a explicação para isto se deva ao aporte sanguíneo ser limitado nestas regiões o que leva à uma menor eficiência das imunoglobulinas nestes locais (FAINE et al., 2000). ATHANAZIO et al. (2008) sugere que as leptospiras encontrem nos rins um escape do sistema imune.

Uma vez a infecção instalada, pode haver a evolução para doença aguda em hospedeiros sensíveis, bem como o desenvolvimento de imunidade protetora e eliminação do microrganismo, ou desenvolvimento do estado de portador crônico (FAINE et al., 2000).

Os rins colonizados por leptospiras apresentam nefrite túbulo-intersticial, com a presença de focos inflamatórios, necrose tubular e hemorragias. Um grande número de leptospiras pode ser encontrado nos túbulos contorcidos proximais, glomérulos, interstício (BARNETT et al., 1999; NALLY et al., 2004; YANG et al., 2006), citoplasma de macrófagos e em depósitos formados a partir de células degeneradas (MORRISON e WRIGHT, 1976).

A obstrução tubular originada a partir do edema intersticial e menor perfusão renal resulta em diminuição progressiva da filtração pelo glomérulo. O infiltrado celular observado nestes casos está associado à produção local de anticorpos e secundariamente, à fagocitose (MORRISON e WRIGHT, 1976).

No fígado, a presença de leptospiras provoca lesões hepáticas típicas tais como perda da arquitetura tecidual. Microscopicamente pode-se notar uma dissociação marcante dos hepatócitos, e também um infiltrado linfocitário com grandes áreas de necrose ao centro, focos de inflamação, presença de células de Kupffer aumentadas e eventualmente presença de células apoptóticas

(BALDWIN e AYKINS, 1987; MERIEN et al., 1998; NALLY et al., 2004, YANG et al., 2006). As leptospiras localizam-se em sinusóides e canalículos biliares, levando à colestase e provocando um aumento de bilirrubina sérica, contribuindo para o quadro de icterícia (SILVA et al., 2002; GREENE, 2004). Observa-se aumento das transaminases hepáticas, gama glutamil transferase e fosfatase alcalina (SILVA et al., 2002; PEREIRA et al., 2005). Há uma extensa lesão hepática com posterior congestão e icterícia pré ou pós-hepática (FREIRE, 2005).

O dano pulmonar principal na leptospirose ocorre devido às intensas hemorragias intra-alveolares (NALLY et al., 2004; PEREIRA et al., 2005; YANG et al., 2006), levando à insuficiência respiratória (GOUVEIA et al., 2008). Raras leptospiras são visualizadas nos pulmões (NALLY et al., 2004; YANG et al., 2006), o que sugere não ser a ação direta do microrganismo a causa principal dos acometimentos pulmonares descritos. A presença de imune-complexos em membranas alveolares de cobaias sugere um processo auto-imune como etiologia da hemorragia pulmonar observada na leptospirose (NALLY et al., 2004). Em casos graves os pulmões apresentam grandes sufusões. Já no coração observa-se uma pericardite e petéquias no epicárdio e endocárdio (BALDWIN e AYKINS, 1987).

A resposta imune contra leptospiras parece ser estimulada por componentes da membrana externa, como LPS, proteínas e lipoproteínas. A resposta adquirida se desenvolve a partir da segunda semana de infecção e é específica para o serovar infectante.

A especificidade é conferida pelo LPS, que é altamente imunogênico (LEVETT, 2001). Os anticorpos específicos opsoni as leptospiras, as quais são fagocitadas por macrófagos (MERIEN et al., 1997).

5. Patologia Clínica

Os animais domésticos infectados por *Leptospira interrogans* podem apresentar alterações sanguíneas tanto hematológicas quanto bioquímicas. Em

um cão com história clínica e exame físico compatíveis com o diagnóstico de leptospirose, torna-se imprescindível a avaliação laboratorial das funções renal e hepática (HAGIWARA et al., 2004), possibilitando o estabelecimento precoce da terapia adequada e minimizando a disseminação do agente no meio ambiente (KOGIKA et al., 1990).

Em cães naturalmente infectados com *Icterohaemorrhagiae*, Kogika et al. (1987) observaram leucocitose, neutrofilia, monocitose, uremia e níveis aumentados de creatinina sérica. Leucopenia é observada na fase leptospirêmica superaguda por intenso recrutamento de polimorfonucleares pelos tecidos; que desenvolve para leucocitose com ou sem desvio à esquerda; trombocitopenia; anemia regenerativa (por perda sanguínea) ou anemia arregenerativa (por doença renal ou hepática crônica). Leucócitos variam de acordo com o estágio e a severidade da doença. Em estágios avançados pode-se observar de 16.000 a 45.000 céls/ μ L (GREENE et al, 2006).

Hiponatremia; hipocloremia; hipocalemia; hiperfosfatemia; hipoalbuminemia; hipocalcemia; azotemia; hiperbilirrubinemia; redução da concentração de dióxido de carbono total e aumento da atividade da alanina aminotransferase são anormalidades bioquímicas séricas verificadas e se desenvolvem por doença renal, hepática, perdas gastrintestinais ou acidose. Há o aumento da amilase e lipase no soro, resultantes da inflamação hepática e intestinal, e de decréscimo na excreção renal. Já os cães com miosite podem apresentar a atividade da creatina quinase (CK) aumentada uma vez que esta é um indicador altamente sensível e específico de lesão muscular (LOPES et al., 2005).

Bilirrubinúria; densidade específica urinária variando dentro dos limites normais; azotemia; cilindros granulares e aumento do número de leucócitos e eritrócitos são percebidos na urinálise de animais doentes, bem como glicosúria e proteinúria (NALLY et al., 2004; ANDRADE et al., 2007). Cães severamente afetados geralmente têm dano endotelial vascular com hipofibrinogenemia e trombocitopenia resultantes de coagulação intravascular

disseminada (CID) (DAHER et al., 2002; YANG et al., 2006; WAGENAAR et al., 2007).

O fígado sintetiza a uréia como mecanismo para a excreção de amônia, que por sua vez tem nas proteínas sua principal fonte. Sendo assim, a formação de uréia depende da taxa de catabolismo protéico. Uma vez formada, a uréia é carregada do fígado pelo sangue e se difunde passivamente pelos líquidos corporais (BUSH, 1994). Quase que em sua totalidade, a uréia é excretada pelos rins e aparece no filtrado glomerular na mesma concentração em que se encontra no plasma como resultado de uma simples filtração (KANEKO et al., 1997).

Segundo Bush (1994), um discreto aumento nos níveis de uréia não significa insuficiência renal, somente valores acima de 100 a 120 mg/dL são significativos. O autor considera que valores séricos de uréia superiores a 210 mg/dL estão correlacionados com insuficiência renal crônica ou aguda, obstrução ou ruptura de trato urinário, e não somente a um prejuízo na perfusão renal, mesmo que este seja severo.

A creatina é sintetizada no fígado, rins e pâncreas, e é transportada pelo sangue ao músculo, onde é fosforilada, transformando-se em um composto altamente energético chamado fosfocreatina. Durante o processo de contração muscular parte da creatina livre, por reação não enzimática no músculo, transforma-se em creatinina (KANEKO et al., 1997).

Sua produção é endógena, sendo liberada constantemente nos líquidos corporais, portanto sofre menos influência de fatores exógenos e sua depuração é considerada um indicador confiável da taxa de filtração do glomérulo renal. Assim, a concentração sérica de creatinina reflete a excreção, e conseqüentemente, a alta concentração de creatinina no sangue indica deficiência na função renal (BUSH, 1994).

Freire, Vargas e Lilienbaum (2008b), analisando um grupo de 120 amostras séricas de cães com sinais clínicos sugestivos de leptospirose aguda por *Icterohaemorrhagiae*, notaram que há uma clara relação entre os títulos de anticorpos e a dosagem de uréia e creatinina. Dentre os animais cujo título foi

≥ 200 , 73,9% apresentaram aumento nos níveis de uréia e 67% nos de creatinina.

A avaliação da função hepática via parâmetros laboratoriais se dá mediante testes que determinam a atividade das enzimas hepáticas e que avaliam a função do órgão. Os testes enzimáticos são capazes de detectar a lesão nos hepatócitos e a colestase. Já os testes funcionais analisam substâncias produzidas pelo fígado, como a albumina e as substâncias que dependem de excreção ou processamento metabólico como bilirrubinas, colesterol e triglicerídeos (LASSEN, 2004).

Enzimas do citosol, mitocondriais e as associadas à membrana apresentam aumento da sua atividade no soro, nas várias formas de doença hepática existentes e são consideradas anormalidades bioquímicas comuns nestes casos incluindo infecção por *Icterohaemorrhagiae* em cães. (BURTIS e ASHWOOD, 1998). A alanina aminotransferase (ALT), a aspartato aminotransferase (AST), a fosfatase alcalina (FA) e a gama glutamiltransferase (GGT) são as principais enzimas utilizadas para avaliação hepática (HARTSKEERL et al., 1996). A elevação sérica de AST e ALT está relacionada com a saída destas enzimas do hepatócito lesado (LASSEN, 2004), e de FA e GGT como sugestivo de colestase (KANEKO et al., 1997).

A ALT está localizada no hepatócito principalmente no citosol, mas também na mitocôndria (LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007). Cabe ressaltar que em cães, apesar de existir ALT em tecidos como o muscular, o renal e o cardíaco, o fígado é o órgão que apresenta as maiores concentrações. Portanto, um significativo aumento na atividade sérica apenas é observado na degeneração ou necrose hepatocelular, ou seja, a ALT é bastante sugestiva de injúria hepática (LASSEN, 2004; LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007) não sendo considerada um indicador de função hepática (BUSH, 1994). Considera-se que o aumento na atividade sérica de ALT seja proporcional ao número de hepatócitos lesionados, mas este aumento não indica nem a causa nem o tipo de lesão celular. Lassen (2004) refere que a atividade sérica da ALT aumenta em aproximadamente 12 horas após a injúria com pico em um ou dois dias.

A AST é uma enzima de vazamento presente em altas concentrações no músculo esquelético, cardíaco, eritrócitos e fígado (LASSEN, 2004; LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007). Aumentos na sua atividade sérica estão presentes tanto na lesão hepática aguda quanto na crônica (KANEKO et al., 1997) e estão relacionados com a severidade da agressão hepática (LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007). De maneira geral, desordens hepáticas que aumentem a atividade sérica de ALT também aumentam AST (BUSH, 1994).

A colestase nos cães pode ser detectada medindo-se a atividade sérica de enzimas chamadas colestáticas como a FA e GGT, que têm sua síntese induzida pela colestase e se apresentarão em níveis elevados. A FA é uma enzima mitocondrial sintetizada principalmente pelo fígado, tecido ósseo, mucosa gastrointestinal, e em menor grau pelos rins, placenta e baço (BUSH, 1994; LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007).

Essa enzima pode ter sua atividade aumentada no soro devido à liberação de fragmentos de membrana celular na circulação, um processo que pode ser o resultado da fragmentação da membrana pelos ácidos biliares. A estase e o contato prolongado dos ácidos biliares com os canalículos e epitélio dos canais biliares que ocorrem nos casos de colestase, poderiam solubilizar e liberar a GGT e FA das membranas citoplasmáticas (BURTIS e ASHWOOD, 1998).

A GGT sérica, uma enzima glicoprotéica ligada à membrana, parece originar-se principalmente do sistema hepatobiliar, porém pode ser encontrada em outros órgãos como rins, pâncreas e intestino (LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007). Sua atividade sérica mostra-se elevada em todas as formas de doença hepática associadas à colestase (KANEKO et al., 1997; BURTIS e ASHWOOD, 1998); este aumento resulta do aumento na síntese e da solubilização da GGT que está ligada à membrana celular. Apresenta-se em baixas concentrações nos cães, onde preferencialmente indica-se realizar a FA (LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007) pelo marcante aumento observado em necrose hepática (LASSEN, 2004).

A função hepática pode ser avaliada indiretamente por meio da determinação de substâncias produzidas pelo fígado, ou por substâncias dependentes de processamento metabólico ou excreção hepática (LASSEN, 2004). Dentre estas substâncias as de maior destaque são a bilirrubina, albumina e proteínas séricas, colesterol e triglicerídeos (FREIRE; VARGES; LILENBAUM, 2008a.).

A bilirrubina é um pigmento biliar, e quando no plasma deriva do metabolismo da hemoglobina (LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007). Isto ocorre quando hemácias adultas são fagocitadas pelo sistema monocítico-fagocitário, gerando o composto heme, e este, ao sofrer remoção da molécula de ferro, é convertido em bilirrubina. Esta bilirrubina formada é chamada de bilirrubina não-conjugada ou indireta, e se encontra ligada à albumina para ser transportada pela corrente sanguínea até o fígado. No fígado, esta ligação com a albumina se quebra e no interior do hepatócito a bilirrubina é conjugada ao ácido glicurônico para formar a bilirrubina conjugada ou direta, sendo então secretada ativamente para o canalículo biliar e posteriormente excretada na bile (CARLTON e McGAVIN, 1998).

Na leptospirose é mais afetada a excreção de bilirrubina do que a conjugação da mesma (BUSH, 1994). O processo inflamatório presente ou até mesmo uma fibrose comprimem os hepatócitos e certo grau de obstrução intrahepática é inevitavelmente observado em animais acometidos. Bush (1994) refere que 70% dos cães com leptospirose por *Icterohaemorrhagiae* apresentam icterícia.

O fígado é o único órgão responsável pela síntese da albumina, que corresponde a 35-50% do total de proteínas séricas (LOPES, BIONDO e SANTOS, 2007). A degradação da albumina ocorre no fígado, assim como em outros tecidos como músculos, rins e pele. A albumina tem como funções básicas a manutenção da pressão oncótica plasmática e o transporte de substâncias na corrente sanguínea. Pouca albumina é armazenada no fígado, e a sua concentração plasmática é determinada pela produção hepática, que normalmente está em equilíbrio com a degradação (KANEKO et al., 1997). A

hipoalbuminemia é observada em várias doenças hepáticas e pode ser uma consequência da diminuição da síntese, mas outras enfermidades podem determinar este quadro por perda de albumina como em nefropatias e enterites severas (FREIRE;VARGES; LILENBAUM, 2008a).

O fígado é responsável pela produção de inúmeras globulinas que atuam na homeostasia, sendo assim, na vigência de um quadro de insuficiência hepática, pode-se observar hipoglobulinemia. Caso a origem do dano hepático seja a infecção por *Leptospira*, os tecidos linfóides serão estimulados a produzir e secretar imunoglobulinas em torno de sete a oito dias após o início da doença. Desta forma, em casos hiperagudos ainda observa-se redução na fração globulínica do soro (LASSEN, 2004).

Embora uma parte do colesterol do organismo tenha sua origem na dieta alimentar, quase 90% da síntese ocorre no fígado e intestino, e, portanto em algumas formas graves de insuficiência hepática a redução na síntese do colesterol pode levar a um decréscimo da sua concentração sérica ou hipocolesterolemia (BURTIS e ASHWOOD, 1998; LASSEN, 2004). A doença hepática geralmente não causa um aumento do colesterol, mas como este é excretado na bile, a colestase pode resultar no acúmulo deste e ocasionalmente os níveis podem estar elevados no soro (BUSH, 1994).

Os triglicerídeos são a principal forma de armazenamento de lipídeos e representam a maior fonte de energia do organismo. São sintetizados no fígado e na mucosa do intestino a partir de componentes lipídicos que provêm da dieta. Cada molécula de triglicerídeo é composta por três moléculas de ácidos graxos e uma de glicerol. Os triglicerídeos formados no fígado são transportados na corrente sangüínea na forma de lipoproteínas de muito baixa densidade, também chamados de triglicerídeos endógenos. Causas de comprometimento no fluxo biliar podem causar um aumento transitório nos níveis de triglicerídeos. A doença hepática primária normalmente não causa uma hipertrigliceridemia, embora isto resulte numa hipercolesterolemia (BUSH, 1994).

6. Sinais Clínicos

A enfermidade nos animais domésticos apresenta diversas manifestações clínicas, dependendo da espécie animal, do serovar infectante e do ambiente envolvidos. Cada serovar tende a ser mantido por um hospedeiro animal específico, sendo então este serovar considerado adaptado à determinada espécie animal (FAINE et al., 2000) e o animal pode então se tornar um reservatório do agente. A exposição de animais susceptíveis ao serovar não adaptado a ele, determina a doença acidental, aguda e grave, que normalmente se manifesta por infecções esporádicas ou em forma de surtos epidêmicos de leptospirose. Serovares adaptados tendem a causar doença crônica e por vezes subclínica nos hospedeiros de manutenção (HARTSKEERL et al., 2004; LÉON et al., 2006; NELSON e COUTO, 2006).

A sintomatologia clínica da leptospirose canina depende da idade e imunidade do hospedeiro, de características ambientais que afetam os microrganismos, e da virulência do serovar infectante (GREENE, 2004). Os animais podem apresentar febre, mialgia, prostração, icterícia e com a evolução vir a desenvolver comprometimento renal; perda de peso, poliúria, desidratação, êmese, diarreia, ulcerações na cavidade oral e necrose de língua podem ser observadas com a evolução da doença (HAGIWARA, 2003).

Vários autores consideram que os cães infectados pelo serovar *Icterohaemorrhagiae* manifestam principalmente lesão em fígado enquanto na infecção pelo serovar *Canicola*, o comprometimento maior é o da função renal (FREIRE, 2005). Entretanto, em 1997, Lilienbaum et al. analisaram 70 amostras séricas de cães e observaram que 92,8% reagiram positivamente para o serovar *Icterohaemorrhagiae*. Dentro dos positivos, baseado no aumento da uréia sérica, 91,4% apresentou comprometimento renal, o que sugeriu ser o serovar *Icterohaemorrhagiae* determinante de doença renal.

Na forma aguda a leptospiremia maciça leva ao choque e o animal morre rapidamente (GREENE, 2004). Os primeiros sinais clínicos nas infecções agudas são febre e dor muscular generalizada, em seguida se observam

vômitos, desidratação rápida e choque (GREENE et al., 2006). Os animais podem apresentar tremores e fraqueza muscular generalizada. As lesões vasculares e de coagulação se manifestam através de hematómese, hematoquezia, melena, epistaxe e petéquias (GREENE et al., 2006).

Como seqüela da doença, os cães podem apresentar hepatite crônica ou fibrose hepática e os sinais clínicos nestes casos seriam: inapetência crônica, perda de peso, ascite, icterícia e encefalopatia hepática (GREENE et al, 2006). Tosse e distrição respiratória estão entre as manifestações pulmonares (FREIRE, 2005).

7. Diagnóstico

De acordo com Faine e colaboradores (2000), um possível diagnóstico é baseado na observação do microrganismo na urina, sangue ou tecidos, utilizando-se a microscopia de campo escuro ou de contraste de fase. Como a eliminação da bactéria é intermitente e em pequeno número, podem-se obter resultados falso-negativos, além de haver a possibilidade de a leptospiemia durar pouco tempo. Devido às condições desfavoráveis da urina para a sobrevivência das leptospiros, principalmente quando o pH está baixo, os procedimentos para visualização devem ser iniciados logo após a coleta (FAINE et al., 2000).

No diagnóstico sorológico, é comum que seja realizada a detecção de anticorpos específicos via teste de aglutinação microscópica (MAT) utilizando antígenos vivos (RODRIGUES et al., 2007) e este é considerado pela Organização Mundial de Saúde Animal como o método sorológico padrão para diagnóstico da doença e utiliza antígenos vivos e leitura em microscópio equipado com condensador de campo escuro, conforme previamente descrito (LILENBAUM e SANTOS, 1995). Os resultados obtidos nesta prova têm sido úteis não só para fins diagnósticos, mas também para estudos epidemiológicos a partir da identificação de serovares predominantes em determinadas regiões (BARTHI et al, 2003).

No Brasil, títulos baixos, da ordem de 100, não são suficientes para confirmar casos de leptospirose aguda, uma vez que anticorpos de memória podem estar presentes, sendo recomendado um ponto de corte de 200 nas áreas endêmicas. A diferenciação entre animais com cicatrizes imunológicas determinadas por contato natural ou reações de origem vacinal daqueles com enfermidade aguda em estágio inicial, ainda pouco reativa, não pode ser realizada até a sorologia pareada, o que ocorre apenas quatro dias após a primeira coleta (FAINE et al., 2000), comprometendo assim a clareza e a precocidade do diagnóstico.

A técnica de reação de cadeia de polimerase (PCR) e a técnica do anticorpo fluorescente foram adaptadas para identificação dos sorotipos de leptospira em amostras de urina, sangue, tecidos e líquido. A sensibilidade e especificidade desta técnica vêm favorecendo o seu uso no diagnóstico da leptospirose em humanos e animais (WHO, 2003). A PCR favorece o diagnóstico precoce quando comparada com outros métodos já utilizados principalmente no início da doença onde os anticorpos ainda não podem ser detectados pela soroaglutinação microscópica e a amostra adequada para isolamento é inviável (SMYTHE et al., 2002). Porém, a PCR utiliza alta tecnologia e necessita de grande investimento, portanto, não é amplamente difundida. Além do mais, é incapaz de identificar o serovar infectante. Muito embora isto não seja impedimento para a realização do tratamento adequado ao paciente, a caracterização do serovar tem grande importância epidemiológica e na saúde pública (PINNA et al., 2007).

8. Tratamento

A terapia de suporte pode ser necessária e o clínico deve se basear na gravidade da infecção, na presença ou não de disfunção renal ou hepática e demais fatores complicantes, caso existam (GREENE, 2004). Devido ao comprometimento renal observado em grande parte dos casos, deve-se

instituir uma fluidoterapia intensa a fim de obter diurese (NELSON e COUTO, 2006); ainda complementa indicando diurese química com agentes osmóticos como a glicose a 10% em 5mL/kg ou o uso de diuréticos tubulares como a furosemida para animais que apresentam oligúria. Levett (2001) e Nelson e Couto (2006) se referem ainda à hemodiálise como uma opção para o aumento da probabilidade de sobrevivência em cães oligúricos ou anúricos devido à insuficiência renal; em casos de falência renal aguda, deve ser iniciada urgentemente (GREENE et al., 2006).

A perda de líquido resulta do vômito e diarreia e o balanço iônico intravenoso deve ser instituído para correção do déficit. O uso de antieméticos e protetores gástricos por via intravenosa pode ser necessário. Na doença aguda, como por Icterohaemorrhagiae, hemorragias petequiais e equimóticas indicam trombocitopenia por vasculite ou CID e transfusão sanguínea ou de plasma pode ser necessária e deve ser feita com cautela (GREENE et al., 2006)

As leptospiras são sensíveis à maioria dos antibióticos veterinários comercializados (HAGIWARA, 2003), e a instituição da antibioticoterapia deve vir imediatamente após o diagnóstico ou a suspeita; o uso de antibiótico reduz a febre e a bacteremia em poucas horas. Eles imediatamente inibem a multiplicação do microrganismo e rapidamente reduzem complicações fatais como falência renal e hepática (GREENE et al., 2006). O uso de drogas antimicrobianas eliminará as leptospiras dos tecidos, mas não reverterá alterações patológicas já instaladas; nestes casos, deve-se tratar sintomaticamente ou fazer uso de terapia não antibiótica apropriada (FAINE et al., 2000). A princípio, cães devem ser tratados com ampicilina administrada por via intravenosa a 22 mg/kg a cada 8 horas, ou Penicilina G administrada por via intramuscular ou intravenosa de 25.000 a 40.000 unidades/kg a cada 12 horas por 2 semanas (NELSON e COUTO, 2006) uma vez que esta droga pode interromper a leptospiremia, é eficaz e não é contra-indicada na insuficiência renal, mas não elimina o estado de reservatório (GREENE, 2004; GREENE et al., 2006). Amoxicilina via oral pode ser utilizada por possuir melhor absorção. Outras drogas como tetracilinas, aminoglicosídeos, ou

macrolídeos podem ser administrados após o uso de penicilinas e retorno da alimentação oral para eliminar a fase de portador renal (FAINE et al., 2000; HAGIWARA, 2003; NELSON e COUTO, 2006; GREENE et al., 2006). Isto se explica porque a concentração da penicilina a nível renal não é satisfatória para causar morte das bactérias; segundo Guyton (1981), o fluxo sanguíneo renal na cortical corresponde a 20% do débito cardíaco, enquanto na região medular externa e interna é de 9% e 1% respectivamente, o que é considerado baixo, daí a necessidade de aplicar uma segunda terapia complementar à primeira instituída. Doxicilina pode ser utilizada na terapia inicial ou no estado de portador crônico e não é preciso ajustar a terapia em animais com falência renal uma vez que é eliminada via fezes. Aminoglicosídeos, embora tenham grande efeito na eliminação da bactéria dos rins, não deve ser administrado antes que uma avaliação renal seja realizada. Estudos experimentais apontam que ampicilina e cefalosporinas de primeira geração não eliminam o organismo dos tecidos e fluidos corporais, enquanto que tetraciclinas e macrolídeos como a eritromicina e seus derivados (azitromicina, claritromicina) são efetivos (GREENE et al., 2006).

9. Aspectos Zoonóticos, Prevenção e Controle

Todos os serovares dos mamíferos devem ser considerados como tendo potencial zoonótico para os humanos. O estreito contato entre homem e cães aumenta as possibilidades de transmissão da doença especialmente para profissionais de risco como nós veterinários (HEATH e JOHNSON, 1994; BATISTA et al., 2004). Urina infectada, água contaminada por leptospiras ou hospedeiros reservatórios devem ser evitados. Os alimentos devem ser lavados, bem como atenção especial aos cães infectados que devem ser manuseados com o uso de equipamentos de proteção individual. As superfícies contaminadas devem ser lavadas com detergentes e desinfetantes (NELSON e COUTO, 2006).

A imunidade na leptospirose canina é baseada na resposta humoral. As vacinas atualmente utilizadas são serovar específicas e utilizam bacterinas (bactérias inteiras inativadas quimicamente) e induzem a imunidade pela opsonização das bactérias, resultando na apresentação de antígenos de membrana que são os lipopolissacarídeos e proteínas da membrana externa.

As vacinas disponíveis hoje no mercado *pet* para cães possuem antígenos que imunizam principalmente contra serovares *Icterohaemorrhagiae* e *canicola* que são os mais prevalentes no mundo (HAGIWARA, 2003). Elas reduzem a gravidade da doença, a sua prevalência, mas não o estado de portador crônico e carreador dos animais, isto porque a vacina protege contra o desenvolvimento da doença, mas nem sempre previne a instalação das leptospiras no tecido renal (HAGIWARA, 2003; GREENE, 2004; NELSON e COUTO, 2006).

Os cães primovacinados de áreas endêmicas devem receber três vacinações com intervalo de duas a três semanas. A duração da imunidade é maior que um ano em caninos recebendo três vacinações (NELSON e COUTO, 2006). Hagiwara (2003) refere que o título de anticorpos em cães torna-se nulo em 3 a 9 meses após a vacinação, portanto, acredita-se que a memória vacinal seja curta e um reforço a cada 6 meses é recomendado em animais que vivem em áreas endêmicas e estão altamente expostos a um risco de infecção. Segundo Gitton et al. (1994), cães vacinados com vacinas comerciais desenvolvem anticorpos mais precocemente quando infectados se comparados aos não vacinados e a infecção resultante é mais branda.

As medidas sanitárias baseiam-se no controle dos roedores; limpeza do ambiente incluindo remoção de resíduos sólidos e líquidos; restrição do acesso dos roedores a áreas freqüentadas por animais e pelo homem e principalmente evitar coleções líquidas residuais especialmente em épocas chuvosas, uma vez que a água contaminada é tida como principal responsável pela disseminação das leptospiras (JOUGLARD e BROD, 2000; NELSON e COUTO, 2006).

PINNA, M.H. et al. Leptospirose em cães. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 32, Ed. 137, Art. 929, 2010.

4. REFERÊNCIAS

ANDRADE L. et al. Leptospirosis leads to dysregulation of sodium transporters in the kidney and lung. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.** n. 292, p. 586-592, 2007.

ATHANAZIO, D.A. et al. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. **Acta Trop.** V. 105, n. 2, p. 176-180, 2008.

BALDWIN, C. J.; AYKINS C. E. Leptospirosis in dogs. **Compendium Small Animals**, v. 9, n. 5, p. 499-506, 1987.

BARNETT, J. K. et al. Expression and distribution of leptospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. **Infect. Immun.** n. 67, p.853-861, 1999.

BARTHI, A. J. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Infectious Disease**, v. 3, p. 757-771, dec. 2003.

BATISTA et al. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, n. 41, p.131-136, 2004.

BLAZIUS et al. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 6, p.1952-1956, nov-dez, 2005.

BRENNER, D. J., A. F. et al. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. **Int. J. Syst. Bacteriol.** n. 49, p. 839-858, 1999.

BURTIS, C. A.; ASWOOD, E. D. **Fundamentos de química clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

BUSH, B. M. Enzymes: interpretation of laboratory results for small animal clinicians. In:_____. **Plasma biochemistry**. Cornwall: Blackwell Scientific Publications, 1994, cap. 6, p. 311-349.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. Fígado, sistema biliar e pâncreas exocrino. In:_____. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 1998. cap. 2, p. 95-131.

DAHER, E.F., OLIVEIRA NETO, F.H.; RAMIREZ, S.M.P. Evaluation of hemostasis disorders and anticardiolipin antibody in patients with severe leptospirosis. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v. 44, n. 2, p. 85-90, 2002.

FAINE, S. et al. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MediSci, 2000.

FREIRE, I. M. A. **Caracterização de parâmetros bioquímicos para o diagnóstico complementar da leptospirose canina**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Coletiva) – Universidade Federal Fluminense, 2005.

FREIRE, I. M. A.;VARGES, R. E LILENBAUM, W. Alterações na bioquímica hepática em cães com leptospirose aguda determinada por amostras do sorogrupo Icterohaemorrhagiae. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, p. 1-4, jun. 2008a.

FREIRE, I. M. A.;VARGES, R. E LILENBAUM, W. Níveis séricos de uréia e creatinina em cães com leptospirose aguda determinada por amostras do sorogrupo Icterohaemorrhagiae. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p. 1172-1175, jul. 2008b.

GANOZA, C.A. et al. Determining risk for severe leptospirosis by molecular analysis of environmental surface waters for pathogenic *Leptospira*. **PLoS Med.** v. 3, n. 8, p. 308, 2006.

PINNA, M.H. et al. Leptospirose em cães. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 32, Ed. 137, Art. 929, 2010.

GITTON, X. et al. Recognition of *Leptospira interrogans* antigens by vaccinated or infected dogs. **Veterinary Microbiology**. V. 41, p. 87-97, 1994.

GOUVEIA E.L. et al. Leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome, Salvador, Brazil. **Emerg. Inf. Dis.** v. 14, n. 3, p. 505-508, 2008.

GREENE, C. E. Doenças bacterianas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (orgs.) **Tratado de medicina interna veterinária**. São Paulo: Manole, 2004, cap.66. p. 410-421.

GREENE, C. E. et al. **Leptospirosis**. In: GREENE, C. E. Infectious Diseases of the Dog and Cat. Georgia: Saunders Elsevier, 2006. Section II: Bacterial Diseases. cap. 44, p. 402-417.

GUYTON, A.C. Divisão dos líquidos corporais: equilíbrios osmóticos entre líquidos extracelulares e intracelulares. In: _____ **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara S.A., 1981, cap. 33, p. 338-347.

HAGIWARA, M. K. Leptospirose canina. Boletim Técnico. **Pfizer Saúde Animal**, p. 1-6, nov. 2003.

HAGIWARA, M. K.; LUSTOSA, M.; KOGIKA, M. M. Leptospirose canina. **Vet News**, v. XI, n. 67, p. 7-8, 2004.

HARTSKEERL, R.A. et al. Classification of *Leptospira* from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. **J. Vet. Med. B**, v. 51, n. 3, p. 110-115, 2004.

HEATH, S. E.; JOHNSON, R. Leptospirosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1518-1523, 1994.

induction of apoptosis in macrophages by pathogenic leptospira interrogans

JOUGLARD, S. D. D; BROD, C. S. Leptospirose em case: prevalência e fatores de risco no meio rural do Município de Pelotas, RS. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 181-185, jul./dez., 2000.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical chemistry of domestic animals**. London: Academic Press, p. 885-906, 1997.

KOGIKA, M. M., HAGIWARA, M.K., MIRANDOLA, R. M. S. Alterações bioquímicas na leptospirose canina. **Brazilian Journal of veterinary Research and Animal Science**, v. 27, n. 2, p. 177-182, 1990.

KOGIKA, M.M. et al. Alterações hematológicas na leptospirose canina. **Rev. Fac. Méd. Vet. Zootecn.** Universidade de São Paulo, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 41-6, 1987.

LASSEN, E. D. Laboratory evaluation of the liver. In: THRALL, M. A. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. cap. 23, p. 355-377.

LÉON, A. et al. Identification of pathogenic *Leptospira* strains in tissues of a premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. **J. Vet. Diagn. Invest.** n. 18, p. 218-221, 2006.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 296-326, 2001.

LEVETT, P.N. et al. Reclassification of *Leptospira parva* Hovind-Hougen *et al.* 1982 as *Turneriella parva* gen. nov., comb. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** n. 55, p. 1497-1499, 2005.

LILENBAUM, W. et al. Estudo sorológico para detecção de anticorpos anti-leptospira em *rattus norvegicus* de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Latino Americana de Microbiologia**, v. 35, p. 357-360, 1993.

LILENBAUM, W.; SANTOS, M.R.C. Effect of Management Systems on the prevalence of Bovine Leptospirosis. **The Veterin. Rec.**, v. 138, p. 570-571, 1995.

PINNA, M.H. et al. Leptospirose em cães. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 32, Ed. 137, Art. 929, 2010.

LOPES et al. Determinação da creatinina quinase em cães. **Rev. Fac. Zootec. Vet. Agro. Uruguiana**, v. 12, n. 1, p. 31-37, 2005.

LOPES, S. T. dos A.; BIONDO, A. W.; SANTOS, A. P. dos. **Manual de patologia clinica veterinária**. 3. ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

MATTHIAS, M.A. et al. Human leptospirosis caused by a new, antigenically unique *Leptospira* associated with a *Rattus* species reservoir in the Peruvian Amazon. **PLoS Neglect. Trop. Dis.** v. 2, n. 4, p. 213.2008.

McBRIDE, A.J. et al. Leptospirosis. **Curr. Opin. Infect. Dis.** n. 18, p. 376–386, 2005.

MERIEN, F.; BARANTON, G.; PEROLAT, P. Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. **Inf. Immun.** v. 65, n. 2, p. 729–738, 1997.

MERIEN, F., TRUCCOLO, J., ROUGIER, Y., BARANTON, G.; PEROLAT, P. *In vivo* apoptosis of hepatocytes in guinea pigs infected with *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae. **FEMS Microbiol. Lett.** v. 169, n. 1, p. 95-102, 1998.

MORRISON, W. I.; WRIGHT, N. G. Canine leptospirosis: an immunopathological study of interstitial nephritis due to *Leptospira canicola*. **Journal of Pathology**, n. 120, p. 83-89, 1976.

NALLY, J.E. et al. Alveolar septal deposition of immunoglobulin and complement parallels pulmonary hemorrhage in a guinea pig model of severe pulmonary leptospirosis. **Am. J. Pathol.** v. 164, n. 3, p. 1115-1127, 2004.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Doenças bacterianas polissistêmicas. In: _____ **Medicina interna de pequenos animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 100, p. 1221-1226, 2006.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996.

PEREIRA, M.M. et al. Experimental leptospirosis in marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*): a new model for studies of severe pulmonary leptospirosis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 72, n. 1, p. 13-20, 2005.

PÉROLAT, P., R. J. et al. *Leptospira fainei* sp. nov., isolated from pigs in Australia. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, n. 48, p. 851–858, 1998.

pomona and growth of 13 other serotypes: fractionation of oleic albumin

PINNA, M.H.; VARGES, R; ABREU, R; LILENBAUM, W. Outbreak of equine leptospirosis by s. Bratislava. **Online J. of Vet. Res.** v. 11, n. 3, p. 1-4, 2007.

QUERINO et al. Fatores de risco associados à leptospirose em cães do município de Londrina, PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 27-34, jan./jun. 2003.

RODRIGUES et al. Isolamento de *Leptospiras* spp. de cães com diagnóstico clínico de leptospirose em São Paulo (Brasil). **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, supl. 2, p.705-706, 2007.

SHIMIZU, T., E. et al. Biological activities of lipopolysaccharide-like substance (LLS) extracted from *Leptospira interrogans* serovar canicola strain Moulton. **Microbiol. Immunol.** n. 31, p.727–735, 1987.

SILVA, J.J.P. da. et al. Clinicopathological and immunohistochemical features of the severe pulmonary form of leptospirosis. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v. 35, n. 4, p. 395-399, 2002.

PINNA, M.H. et al. Leptospirose em cães. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 32, Ed. 137, Art. 929, 2010.

SMYTHE, L. D. et al. A quantitative PCR (TaqMan) assay for pathogenic *Leptospira* spp. **Infectious Diseases**, v. 2, n. 13, p. 1-7, jul. 2002.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Doenças microbianas dos sistemas urinário e reprodutor. In _____. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2003. cap. 26, p. 692-712.

TRUEBA, G. et al. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. **Int. Microbiol.** n. 7, p. 35-40, 2004.

VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose em animais domésticos e silvestres: prevenção e controle. **Oficina Estado da Arte e Prioridades para P&D em Leptospirose/FIOCRUZ**. Salvador. 2000. 12p.

WAGENAAR, J.F. et al. What role do coagulation disorders play in the pathogenesis of leptospirosis? **Trop. Med. Int. Health**. v. 12, n. 1, p. 111-122, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human leptospirosis**: guidance for diagnosis, surveillance and control. Genebra, 2003

YANG et al. Leptospiral Outer Membrane Protein Induces Extracellular Matrix Accumulation through a TGF- β ₁/Smad-Dependent Pathway. **J Am Soc Nephrol**, n. 17, p. 2792-2798, 2006.

YASUDA, P. H. et al. The Isolation of leptospires from stray dogs in the city of São Paulo, Brazil. **International Journal of Zoonosis**. v. 7, p. 131-134, 1980.