

**SOFIA ISABEL DE OLIVEIRA LANÇA**

**CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA  
LEPTOSPIROSE CANINA EM PORTUGAL**

Dissertação apresentada para obtenção do  
Grau de Mestre no Curso de Mestrado em  
Medicina Veterinária conferido pela  
Universidade Lusófona de Humanidades e  
Tecnologias.

Orientador: Dra. Isa Maria Jeremias Cardinha  
do Maio Calado

Co-orientador: Mestre Ana Paula Álvaro  
Santana

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2011**

# DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos aqueles que sempre acreditaram em mim:

- Aos meus maiores exemplos na vida, António e Manuela, por me terem fornecido todas as ferramentas necessárias para a construção da pessoa que hoje sou;

- Ao Daniel, por ter aturado o pior e o melhor de mim e, mesmo assim, estar sempre ao meu lado;

- A toda a minha família, que sempre me apoiou, com uma saudade especial para aqueles que acredito ainda me apoiarem embora já não possam ler estas palavras;

- A toda a minha 'maltinha', que está sempre lá e sempre vai estar;

- Às meninas veterinárias Lisboaetas do meu coração, por tudo;

- A todo o pessoal da faculdade, que me acompanhou durante a maratona de 6 anos;

- A toda a equipa do HVBA, por tudo o que me ensinaram e pelo apoio, companheirismo, puxões de orelhas, paciência, confiança, carinho, amizade, estadias à borla e muito mais;

- Á minha família animal – Nardo, Putchi, Panda – por todo o carinho que me dão em troca de umas festas e biscoitos!

# AGRADECIMENTOS

Expresso a minha imensa gratidão a todos aqueles que representaram uma preciosa ajuda para a realização deste trabalho:

- Aos meus orientadores (Dr. André Cláudio e Dra. Isa Calado) e toda a equipa do HVBA (Ana Lu, Enf. Vânia, Dr. Luis, Enf. Cláudia, Dr. Bruno), pela ajuda e esforço incansável que me prestaram durante a realização do trabalho;

- À Dra. Ana Santana, pela co-orientação do trabalho e pela sempre pronta disponibilidade;

- Ao Professor Doutor Pedro Faísca, pela ajuda e apoio disponibilizados;

- À Professora Doutora Justina Oliveira, pela simpatia e disponibilização de algumas imagens contidas no trabalho;

- Ao Dr. Mauro Bragança, pela ajuda prestada;

- À Professora Doutora Cláudia Ferreira, pelo tempo e ajuda disponibilizada;

- A todas as clínicas/hospitais veterinários e laboratórios que contactei, pelo tempo disponibilizado.

## RESUMO

A leptospirose é uma zoonose amplamente distribuída a nível mundial. A leptospirose canina está a reemergir actualmente, sendo responsável por surtos agudos de doença com elevada mortalidade. A doença em canídeos apresenta uma grande variedade de sinais clínicos, alguns previamente não identificados nesta espécie - como a síndrome hemorrágica pulmonar - dificultando a actuação do médico veterinário no diagnóstico e tratamento da doença.

O estudo envolve a descrição pormenorizada de 9 casos clínicos, onde se demonstra a dificuldade de tratamento da doença, a ausência de cumprimento de planos vacinais pelos proprietários e a infecção por serovares não contidos na vacinação disponível em Portugal.

Sumarizando, as hipóteses colocadas pelo estudo corroboram a necessidade de estudos futuros para determinação da prevalência da doença em Portugal, bem como dos serovares envolvidos na mesma.

**Palavras-chave:** Leptospirose; serovares; sinais clínicos; prevalência.

## *ABSTRACT*

Leptospirosis is a zoonotic disease widely distributed throughout the world. Canine leptospirosis is re-emerging currently, being responsible for outbreaks of acute disease with high mortality. The disease in canidae presents a great variety of clinical signs, some previously not identified in this species – such as pulmonary hemorrhage – making difficult the actions of the veterinary in the diagnosis and treatment of the disease.

The study involves the detailed description of 9 clinical cases, where it shows the difficulty of treatment of the disease, lack of compliance with vaccination plans by the owners and the infection to serovars not contained in vaccination available in Portugal.

Summarizing, the assumptions by the study corroborate the need for future studies to determine the prevalence of the disease in Portugal, as well as the serovars involved in the same.

**Key Words:** Leptospirosis; serovars; clinical signs; prevalence.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|        |                                                   |
|--------|---------------------------------------------------|
| 1 M    | 1 molar (1 mol/L)                                 |
| °C     | Graus Celsius                                     |
| ACVIM  | Colégio Americano de medicina interna veterinária |
| ALP    | Fosfatase alcalina                                |
| ALT    | Alanina transaminase                              |
| AST    | Aspartato transaminase                            |
| BID    | Duas vezes por dia (12 em 12 horas)               |
| BUN    | Nitrogénio ureico sérico                          |
| CAMV's | Centros de atendimento Médico-Veterinários        |
| CHCM   | Concentração de hemoglobina corpuscular média     |
| CHM    | Concentração de hemoglobina média                 |
| CIVD   | Coagulação intravascular disseminada              |
| dl     | Decilitro                                         |
| DNA    | Ácido desoxirribonucleico                         |
| E.U.A. | Estados Unidos da América                         |
| ECG    | Electrocardiograma                                |
| ELISA  | Teste imunoenzimático                             |
| g      | Grama                                             |
| HA     | Hospedeiro acidental                              |
| HM     | Hospedeiro de manutenção                          |
| HVBA   | Hospital veterinário do baixo Alentejo            |
| IC     | Intervalo de Confiança                            |
| IFAT   | Teste de anticorpos imunofluorescentes            |
| IgG    | Imunoglobulina classe G                           |
| IgM    | Imunoglobulina classe M                           |

|                |                                                       |
|----------------|-------------------------------------------------------|
| ILS            | Sociedade Internacional de Leptospirose               |
| IM             | Intra-muscular                                        |
| IRA            | Insuficiência renal aguda                             |
| IRC            | Insuficiência renal crónica                           |
| IS1533         | Sequência de inserção 1533                            |
| IV             | Intra-venosa                                          |
| IUMS           | União Internacional de Sociedades Microbiológicas     |
| kDa            | Kilodalton                                            |
| Kg             | Kilograma                                             |
| LipL32         | Lipoproteína 32 da Leptospira                         |
| LipL36         | Lipoproteína 36 da Leptospira                         |
| LipL41         | Lipoproteína 41 da Leptospira                         |
| LPS            | Lipopolissacarido                                     |
| MAT            | Teste de aglutinação microscópica                     |
| µm             | Micrómetro                                            |
| µg             | Micrograma                                            |
| mg             | Miligrama                                             |
| ml             | Mililitro                                             |
| N:L            | Relação Neutrófilos:Linfócitos                        |
| OmpL1          | Proteína de membrana externa da Leptospira            |
| <i>Outdoor</i> | Qualifica o habitat do animal - exterior da habitação |
| PCR            | Reacção em cadeia pela polimerase                     |
| PD             | Polidipsia                                            |
| pH             | Potencial de hidrogénio iónico                        |
| PO             | Via oral                                              |
| PU             | Poliúria                                              |
| QID            | Quatro vezes por dia (6 em 6 horas)                   |

|                |                                                                 |
|----------------|-----------------------------------------------------------------|
| RDW            | Variação de tamanho dos eritrócitos (calcula a anisocitose)     |
| SC             | Sub-cutânea                                                     |
| SDS-PAGE       | Electroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio |
| SID            | Uma vez por dia (24 em 24 horas)                                |
| SHPL           | Síndrome hemorrágica pulmonar leptospiral                       |
| TFG            | Taxa de filtração glomerular                                    |
| TNF – $\alpha$ | Factor de necrose tumoral classe alfa                           |
| TP             | Tempo de protrombina                                            |
| TTPa           | Tempo de tromboplastina parcial activada                        |
| U.I.           | Unidades Internacionais                                         |
| VCM            | Volume corpuscular médio                                        |

# ÍNDICE

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO .....                                               | 15 |
| CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....                       | 17 |
| 1. Breve enquadramento histórico da leptospirose.....          | 17 |
| 2. Leptospirose .....                                          | 18 |
| 2.1 Etiologia - <i>Leptospira</i> .....                        | 18 |
| 2.1.1 Morfologia .....                                         | 18 |
| 2.1.2 Motilidade .....                                         | 20 |
| 2.1.3 Metabolismo e reprodução .....                           | 21 |
| 2.1.3.1 Metabolismo .....                                      | 21 |
| 2.1.3.2 Reprodução.....                                        | 22 |
| 2.1.4 Antígenos leptospirais .....                             | 23 |
| 2.1.4.1 Lipopolissacarido (LPS).....                           | 23 |
| 2.1.4.2 Antígenos proteicos e lipoproteicos.....               | 23 |
| 2.1.4.3 Antígenos filamentosos .....                           | 24 |
| 2.1.5 Taxonomia e Classificação.....                           | 25 |
| 2.1.5.1 Classificação serológica .....                         | 25 |
| 2.1.5.2 Classificação genotípica.....                          | 26 |
| 2.1.5.3 Controvérsia dos sistemas de classificação .....       | 27 |
| 2.1.6 Nomenclatura.....                                        | 28 |
| 2.2 Epidemiologia.....                                         | 28 |
| 2.3 Infecção e transmissão.....                                | 31 |
| 2.4 Patogenia .....                                            | 32 |
| 2.4.1 Adesão .....                                             | 32 |
| 2.4.2 Produção de toxinas.....                                 | 32 |
| 2.4.3 Mecanismos Imunes .....                                  | 33 |
| 2.4.4 Imunidade .....                                          | 34 |
| 2.5 Sinais clínicos .....                                      | 36 |
| 2.5.1 Leptospirose anictérica .....                            | 36 |
| 2.5.2 Leptospirose ictérica .....                              | 36 |
| 2.5.3 Outras complicações.....                                 | 38 |
| 2.6 Métodos laboratoriais no diagnóstico da Leptospirose ..... | 38 |
| 2.6.1 Métodos serológicos de detecção de anticorpos .....      | 38 |

|         |                                                                  |    |
|---------|------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6.1.1 | Teste de Aglutinação Microscópica (MAT).....                     | 38 |
| a)      | Como utilizar o MAT no diagnóstico de leptospirose em cães ..... | 40 |
| 2.6.1.2 | Teste imunoenzimático (ELISA) .....                              | 41 |
| 2.6.1.3 | Teste de anticorpos imunofluorescentes (IFAT).....               | 42 |
| 2.6.2   | Métodos de detecção de antígenos .....                           | 43 |
| 2.6.2.1 | Demonstração microscópica.....                                   | 43 |
| 2.6.2.2 | Cultura e isolamento.....                                        | 44 |
| 2.6.2.3 | Métodos Moleculares .....                                        | 45 |
| a)      | Como utilizar o PCR no diagnóstico da leptospirose em cães ..... | 45 |
| 2.7     | Leptospirose em Cães .....                                       | 46 |
| 2.7.1   | Síndromes e sinais clínicos .....                                | 46 |
| 2.7.1.1 | Síndrome Hemorrágica Pulmonar semelhante a SHPL humana .....     | 48 |
| 2.7.2   | Patologia Clínica .....                                          | 49 |
| 2.7.2.1 | Hematologia .....                                                | 49 |
| 2.7.2.2 | Parâmetros bioquímicos renais .....                              | 49 |
| 2.7.2.3 | Parâmetros bioquímicos hepáticos .....                           | 50 |
| 2.7.2.4 | Electrólitos.....                                                | 50 |
| 2.7.2.5 | Urianálise .....                                                 | 50 |
| 2.7.2.6 | Provas de Coagulação .....                                       | 50 |
| 2.7.2.7 | Outros .....                                                     | 51 |
| 2.7.3   | Imagiologia.....                                                 | 51 |
| 2.7.3.1 | Radiografia .....                                                | 51 |
| 2.7.3.2 | Ultrassonografia abdominal .....                                 | 51 |
| 2.7.4   | Histopatologia .....                                             | 51 |
| 2.7.4.1 | Lesões macroscópicas .....                                       | 52 |
| 2.7.4.2 | Lesões microscópicas .....                                       | 54 |
| 2.7.5   | Tratamento.....                                                  | 56 |
| 2.8     | Epidemiologia da leptospirose canina .....                       | 57 |
| 2.8.1   | Distribuição dos serovares no continente europeu .....           | 58 |
| a)      | Icterohaemorrhagiae .....                                        | 59 |
| b)      | Canicola.....                                                    | 59 |
| c)      | Grippotyphosa.....                                               | 59 |
| d)      | Bratislava .....                                                 | 60 |
| e)      | Pomona.....                                                      | 60 |
| f)      | Sejroe .....                                                     | 60 |

|                                                                                                      |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.8.2 Leptospirose canina em Portugal .....                                                          | 61         |
| <b>CAPÍTULO II – DESCRIÇÃO DE CASOS CLÍNICOS DE<br/>LEPTOSPIROSE CANINA NO CONCELHO DE BEJA.....</b> | <b>62</b>  |
| 1.1 Objectivo .....                                                                                  | 62         |
| 1.2 Materiais e Métodos .....                                                                        | 62         |
| 1.3 Casos Clínicos .....                                                                             | 62         |
| 1.3.1 ‘Kaskai’ .....                                                                                 | 62         |
| 1.3.2 ‘Óscar’ .....                                                                                  | 65         |
| 1.3.3 ‘Kokki’ .....                                                                                  | 68         |
| 1.3.4 ‘Traquina’ .....                                                                               | 70         |
| 1.3.5 ‘Bolota’ .....                                                                                 | 74         |
| 1.3.6 ‘Júnior’ .....                                                                                 | 79         |
| 1.3.7 ‘Baltazar’ e ‘Dingo’ .....                                                                     | 81         |
| 1.3.8 ‘Handek’ .....                                                                                 | 86         |
| 1.4 Discussão de Resultados .....                                                                    | 91         |
| <b>CAPÍTULO III – RESUMO DE CASOS DE LEPTOSPIROSE<br/>CANINA EM PORTUGAL.....</b>                    | <b>97</b>  |
| 1.1 Objectivos .....                                                                                 | 97         |
| 1.2 Materiais e métodos .....                                                                        | 97         |
| 1.3 Resultados e Discussão de Resultados .....                                                       | 98         |
| <b>CONCLUSÃO .....</b>                                                                               | <b>103</b> |
| <b>BIBLIOGRAFIA .....</b>                                                                            | <b>105</b> |
| <b>ANEXOS .....</b>                                                                                  | <b>I</b>   |

## ÍNDICE DE TABELAS

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1:</b> Serogrupos e alguns serovares de <i>L. interrogans</i> sensu lato, adaptado (Levett, 2001) .....                                       | 25 |
| <b>Tabela 2:</b> Genomospécies de <i>Leptospira</i> e distribuição de serogrupos, adaptado (Levett, 2001) .....                                         | 27 |
| <b>Tabela 3:</b> Alguns serovares de <i>Leptospira interrogans</i> sensu lato que mais comumente afectam cães, adaptado (Burr, Lunn, & Yam, 2009) ..... | 31 |
| <b>Tabela 4:</b> Hemograma e Bioquímicas do 'Kaskai', 25/09/2010 .....                                                                                  | 63 |
| <b>Tabela 5:</b> Hemograma e Bioquímicas do 'Kaskai', 23/10/2010 .....                                                                                  | 64 |
| <b>Tabela 6:</b> Hemograma e Bioquímicas do 'Óscar', 06/12/2010 .....                                                                                   | 66 |
| <b>Tabela 7:</b> Medicação administrada ao 'Óscar' durante a hospitalização .....                                                                       | 67 |
| <b>Tabela 8:</b> Bioquímicas do 'Óscar', 09/12/2010.....                                                                                                | 67 |
| <b>Tabela 9:</b> Hemograma e Bioquímicas do 'Kokki', 21/12/2010 .....                                                                                   | 69 |
| <b>Tabela 10:</b> Urianálise do 'Kokki', 21/12/2010 .....                                                                                               | 69 |
| <b>Tabela 11:</b> Medicação prescrita ao 'Kokki'.....                                                                                                   | 70 |
| <b>Tabela 12:</b> Hemograma e Bioquímicas da 'Traquina', 27/12/2010.....                                                                                | 71 |
| <b>Tabela 13:</b> Medicação administrada à 'Traquina' durante a hospitalização .....                                                                    | 72 |
| <b>Tabela 14:</b> Bioquímicas da 'Traquina', 29/12/2010 .....                                                                                           | 73 |
| <b>Tabela 15:</b> Medicação prescrita à 'Traquina' .....                                                                                                | 73 |
| <b>Tabela 16:</b> Hemograma e bioquímicas da 'Bolota', 18/01/2011 .....                                                                                 | 74 |
| <b>Tabela 17:</b> Medicação administrada à 'Bolota' durante a hospitalização (18/01/2011-21/01/2011) .....                                              | 75 |
| <b>Tabela 18:</b> Urianálise da 'Bolota', 19/01/2011.....                                                                                               | 75 |
| <b>Tabela 19:</b> Bioquímicas da 'Bolota', 21/01/2011 .....                                                                                             | 76 |
| <b>Tabela 20:</b> Medicação prescrita à 'Bolota', 21/01/2011.....                                                                                       | 76 |
| <b>Tabela 21:</b> Medicação admnistrada à 'Bolota' durante a hospitalização (25/01/2011-28/01/2011) .....                                               | 77 |
| <b>Tabela 22:</b> Medicação prescrita à 'Bolota', 28/01/2011.....                                                                                       | 78 |
| <b>Tabela 23:</b> Bioquímicas da 'Bolota', 11/02/2011 .....                                                                                             | 78 |
| <b>Tabela 24:</b> Hemograma e bioquímicas do 'Júnior', 23/01/2011 .....                                                                                 | 80 |
| <b>Tabela 25:</b> Medicação administrada ao 'Júnior' durante a hospitalização .....                                                                     | 80 |
| <b>Tabela 26:</b> Hemograma e bioquímicas do 'Dingo', 14/02/2011 .....                                                                                  | 82 |
| <b>Tabela 27:</b> Hemograma e bioquímicas do 'Baltazar', 14/02/2011 .....                                                                               | 82 |
| <b>Tabela 28:</b> Medicação administrada ao 'Dingo' e 'Baltazar' durante a hospitalização .....                                                         | 83 |
| <b>Tabela 29:</b> Análises bioquímicas do 'Dingo' e 'Baltazar', 16/02/2011.....                                                                         | 84 |
| <b>Tabela 30:</b> Hemograma e bioquímicas do 'Handek', 13/03/2011 .....                                                                                 | 86 |

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 31:</b> Medicação administrada ao 'Handek' durante a hospitalização .....                                                           | 87 |
| <b>Tabela 32:</b> Análises bioquímicas do 'Handek', 18/03/2011 .....                                                                          | 89 |
| <b>Tabela 33:</b> Medicação prescrita ao 'Handek', 21/03/2011 .....                                                                           | 89 |
| <b>Tabela 34:</b> Principais sinais clínicos apresentados pelos pacientes estudados .....                                                     | 92 |
| <b>Tabela 35:</b> Alterações da patologia clínica apresentadas pelos pacientes estudados .....                                                | 93 |
| <b>Tabela 36:</b> Média e Intervalo de Confiança para os valores dos principais parâmetros da patologia clínica nos pacientes estudados ..... | 93 |
| <b>Tabela 37:</b> Número de casos de leptospirose, por distrito, no período de 01/01/2010 a 01/01/2011.....                                   | 98 |
| <b>Tabela 38:</b> Principais sinais clínicos apresentados pelos 18 casos obtidos no estudo .....                                              | 99 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1:</b> Modelos computadorizados de microfotografia electrónica de <i>L. interrogans</i> , adaptado (Overview of the leptospira bacterium itself, 2004-2009).....                                                                                               | 18 |
| <b>Figura 2:</b> Anatomia básica das espiroquetas interpretada através de microscopia electrónica, adaptado (Holt,1978).....                                                                                                                                             | 19 |
| <b>Figura 3:</b> <i>Leptospira interrogans</i> B16, adaptado (Holt, 1978).....                                                                                                                                                                                           | 20 |
| <b>Figura 4:</b> Motilidade leptospiral, adaptado (Wolgemuth, Charon, Goldstein, & Goldstein, 2006).....                                                                                                                                                                 | 21 |
| <b>Figura 5:</b> Esquema indicando a localização das várias proteínas, lipoproteínas e LPS leptospirais, adaptado (Ko, Goarant, & Picardeau, 2009).....                                                                                                                  | 24 |
| <b>Figura 6:</b> Ciclo da Leptospirose, adaptado (Research project - Leptospirosis and leptospire) .....                                                                                                                                                                 | 30 |
| <b>Figura 7:</b> Fases da leptospirose e recolha de amostras adequadas a cada fase, adaptado (Céspedes, 2005).....                                                                                                                                                       | 37 |
| <b>Figura 8:</b> Reacções do MAT (Céspedes, 2005).....                                                                                                                                                                                                                   | 39 |
| <b>Figura 9:</b> Exemplo de um kit de ELISA dirigido para IgM, para leptospirose. Fonte: <a href="http://www.baria.cz/leptospira-antibody-elisa-kits">www.baria.cz/leptospira-antibody-elisa-kits</a> .....                                                              | 42 |
| <b>Figura 10:</b> Leptospiras em microscópio de campo escuro, ampliação de 200 x. Fonte: <a href="http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Leptospirosis_darkfield.jpg">http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Leptospirosis_darkfield.jpg</a> .....                           | 43 |
| <b>Figura 11:</b> Leptospiras identificadas pelo método de imunofluorescência directa (A) e pela coloração de Warthin-Starry (B). Fonte: <a href="http://www.inta.gov.ar/patobiologia/images/lepto2.htm">http://www.inta.gov.ar/patobiologia/images/lepto2.htm</a> ..... | 44 |
| <b>Figura 12:</b> Icterícia na mucosa ocular (A) e bucal (B) de um cão com leptospirose (Burr, Lunn, & Yam, 2009).....                                                                                                                                                   | 47 |

|                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 13:</b> Hemorragia pulmonar difusa de um cão com leptospirose (Klopfleisch, et al., 2010).                                                                                                       | 52 |
| <b>Figura 14:</b> Fígado de um cão com leptospirose revelando necrose hepática multifocal associada com a aparência 'comida pelas traças' do órgão (Noel & Latimer, 2000).                                 | 53 |
| <b>Figura 15:</b> Rim de um cão com leptospirose com uma aparência ponteada do parênquima, indicando a presença de nefrite intersticial multifocal e necrose tubular (Noel & Latimer, 2000).               | 53 |
| <b>Figura 16:</b> Dissociação hepatocitária, ampliação de 200x (A) e 400x (B). Cortesia da Professora Doutora Justina Oliveira, UTAD.                                                                      | 54 |
| <b>Figura 17:</b> Necrose tubular renal aguda de um cão com leptospirose, corado com hematoxilina-eosina (Klopfleisch, et al., 2010).                                                                      | 55 |
| <b>Figura 18:</b> Rim de um cão com leptospirose demonstrando a presença de um infiltrado purulolinfoplasmocítico associado a nefrite intersticial, corado com hematoxilina-eosina (Noel & Latimer, 2000). | 55 |
| <b>Figura 19:</b> Fotografia da 'Traquina' evidenciando a icterícia marcada da mucosa conjuntival.                                                                                                         | 71 |
| <b>Figura 20:</b> Radiografia torácica da 'Bolota' demonstrando a presença de padrão pulmonar alveolar.                                                                                                    | 77 |
| <b>Figura 21:</b> Fotografias do 'Júnior' demonstrando a icterícia exuberante na mucosa ocular e oral.                                                                                                     | 79 |

## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                        |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Ilustração 1 -</b> Evolução clínica do 'Óscar' durante a hospitalização                                                             | 67  |
| <b>Ilustração 2 -</b> Evolução clínica da 'Traquina' durante a hospitalização                                                          | 73  |
| <b>Ilustração 3 -</b> Evolução clínica do 'Júnior' durante a hospitalização                                                            | 81  |
| <b>Ilustração 4 -</b> Evolução clínica do 'Dingo' e 'Baltazar' durante a hospitalização (2º- 3º dia).                                  | 84  |
| <b>Ilustração 5 -</b> Evolução clínica do 'Dingo' e 'Baltazar' durante a hospitalização (3º- 4º dia).                                  | 85  |
| <b>Ilustração 6 -</b> Evolução clínica do 'Handek' durante a hospitalização                                                            | 88  |
| <b>Ilustração 7 -</b> Gráfico circular representando a percentagem de pacientes que recebeu determinado antibiótico.                   | 94  |
| <b>Ilustração 8 -</b> Gráfico de barras representando a percentagem de pacientes que exibiu determinada alteração da patologia clínica | 100 |
| <b>Ilustração 9 -</b> Gráfico circular representando a percentagem de pacientes que recebeu determinado antibiótico.                   | 101 |

# INTRODUÇÃO

No âmbito do estágio curricular do curso de Medicina Veterinária, elegi como objecto de estudo para dissertação de mestrado a leptospirose canina.

A leptospirose é uma doença com potencial zoonótico, causada pela infecção por bactérias pertencentes ao género *Leptospira*. A leptospirose, conhecida há mais de um século, foi causadora de inúmeros surtos agudos de doença, em várias espécies, por todo o Mundo. Embora tenha sido alvo de bastantes estudos, a leptospirose possui ainda muitas vertentes desconhecidas. A infecção e doença na espécie humana estão melhor descritas, sendo que a evolução da civilização e as medidas preventivas permitiram uma grande diminuição da doença em humanos, na actualidade. Por outro lado, as mudanças climáticas e a facilidade de viagem pelo globo levam a considerar a leptospirose como uma doença reemergente (Levett, 2001).

O mesmo fenómeno é verificado em animais, uma vez que estão mais expostos aos factores de risco da infecção. Se em humanos o conhecimento da doença possui várias lacunas, na área de medicina veterinária este facto agrava-se. Existem vários estudos incidentes sobre a *Leptospira* e a sua infecção/doença em animais, canídeos em particular, no entanto ainda existem muitas questões por responder. Por se verificar um aumento da leptospirose canina em todo o mundo, vários investigadores têm-se recentemente dedicado à área, contribuindo com mais informação sobre a doença e fazendo com que exista um avanço no conhecimento.

Em Portugal, existem poucos estudos recentes acerca da leptospirose canina, dificultando o seu combate e mascarando a verdadeira prevalência/incidência da doença no país. Será possível compreender toda a problemática da bactéria e doença, bem como a epidemiologia desta ao longo do tempo, na revisão bibliográfica.

O estudo, apresentado no capítulo II, surgiu como resultado da alta ocorrência da doença observada em canídeos durante o período de estágio curricular, em Beja. Pretende relatar a apresentação e evolução clínica de vários canídeos com leptospirose, sendo um estudo descritivo. Pretende ainda, tentar relacionar a infecção com o estado vacinal do animal, a resposta à terapêutica e o possível surgimento de infecção causada por serovares não habituais de causar doença em animais domésticos no país.

Sendo um estudo descritivo, teve por objectivo analisar toda a informação recolhida durante a sua duração e chegar a algumas conclusões que suscitaram hipóteses passíveis de serem respondidas em estudos posteriores mais aprofundados.

Foi ainda realizada, no capítulo III, a recolha de casos da doença em várias partes do país, tentando concluir se existiria a hipótese da doença estar concentrada numa determinada área do país e observar se o aumento da ocorrência da mesma também se manifestaria pelo restante território português. A análise dos dados permitiu ainda concluir que o estudo da doença em Portugal necessita de uma investigação mais profunda e que existem ainda várias questões com necessidade de resposta só possível através de estudos minuciosos da doença, especialmente a nível epidemiológico.

Todas as citações e referências bibliográficas estão de acordo com a norma adoptada -Norma APA.

# CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

## 1. Breve enquadramento histórico da leptospirose

Os primeiros registos de leptospirose remetem para há cerca de 125 anos atrás, quando Adolf Weil reportou uma síndrome em pacientes humanos que consistia num quadro agudo de icterícia associada a insuficiência renal e esplenomegalia (Weil, 1886). Embora tenha sido atribuída a Weil a descoberta da síndrome (que posteriormente adquiriu o seu nome), múltiplas descrições de sinais clínicos idênticos já tinham sido efectuadas, vários anos antes, em trabalhadores de esgotos. É importante frisar que, apesar de ter sido o responsável pela identificação/publicação da síndrome, este autor não conseguiu a associação da doença ao microrganismo causador, deixando uma lacuna por preencher no conhecimento da doença.

Durante vários anos, foram reconhecidos factores de risco responsáveis pelo aparecimento da patologia, sendo apontados como mais expostos à doença os indivíduos que trabalhavam em plantações de arroz, ou habitantes de regiões que sofriam constantemente inundações/cheias (Levett, 2001).

Em 1907, Stimson demonstrou a presença de agregados de espiroquetas nos túbulos renais de um paciente que tinha falecido de febre-amarela. O microrganismo foi denominado *Spirochaeta interrogans*, devido à semelhança da estrutura com um ponto de interrogação (Stimson, 1907).

As pesquisas e desenvolvimentos acerca da doença foram aumentando devido à 1ª Guerra Mundial (1914-1918), uma vez que as condições sub-humanas de vida nas trincheiras causaram um aumento exponencial no número de casos (Levett, 2001).

Em 1915, as espiroquetas foram demonstradas por cientistas japoneses (Inada & Ido, 1915) e alemães (Uhlenhuth & Fromme, 1915) (Hübener & Reiter, 1915), separadamente. Os primeiros conseguiram não só detectar espiroquetas, como também identificaram anticorpos específicos no sangue de mineiros infectados e, os últimos detectaram as mesmas estruturas recorrendo ao xenodiagnóstico - inoculando sangue de soldados infectados em porcos-da-índia.

A equipa de cientistas japoneses liderada por Inada e Ido, publicou além da associação da espiroqueta à doença vários estudos que incluíam informações sobre a cultura do microrganismo, via de infecção, a fisiopatologia, a distribuição nos vários órgãos e

tecidos, diagnóstico e tratamento, entre outros (Inada, Ido, Hoki, Kaneko, & Ito, 1915). Foi denominada por estes estudiosos *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, devido ao quadro de sinais apresentados pelos pacientes infectados (Inada, Ido, Hoki, Kaneko, & Ito, 1916). A importância dos ratos na infecção humana e seu papel como hospedeiro do microrganismo foi dado a conhecer em 1917, juntamente com a capacidade de causar doença em diferentes espécies animais (Ido, Hoki, Ito, & Wani, 1917) sendo que a importância nos animais domésticos só foi estudada profundamente muitos anos depois.

## 2. Leptospirose

### 2.1 Etiologia - *Leptospira*

#### 2.1.1 Morfologia

As leptospiros são microrganismos de estrutura espiral, de tamanho variável entre 0,1  $\mu\text{m}$  de diâmetro por 6 - 20  $\mu\text{m}$  de comprimento. As células têm extremidades pontiagudas em forma de gancho. As espirais que formam em torno do seu próprio eixo longitudinal são muito numerosas e, de tal maneira próximas que é impossível distingui-las. Podem ser observadas clara e pormenorizadamente por microscopia electrónica, como apresentado na figura seguinte (Figura 1).

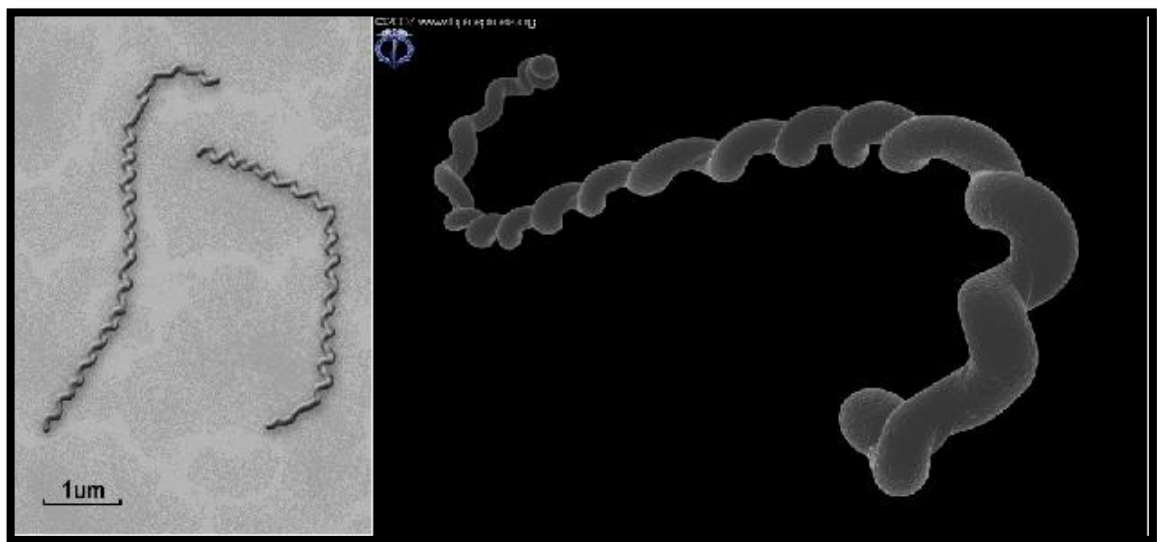


Figura 1: Modelos computadorizados de microfotografia electrónica de *L. interrogans*, adaptado (Overview of the leptospira bacterium itself, 2004-2009)

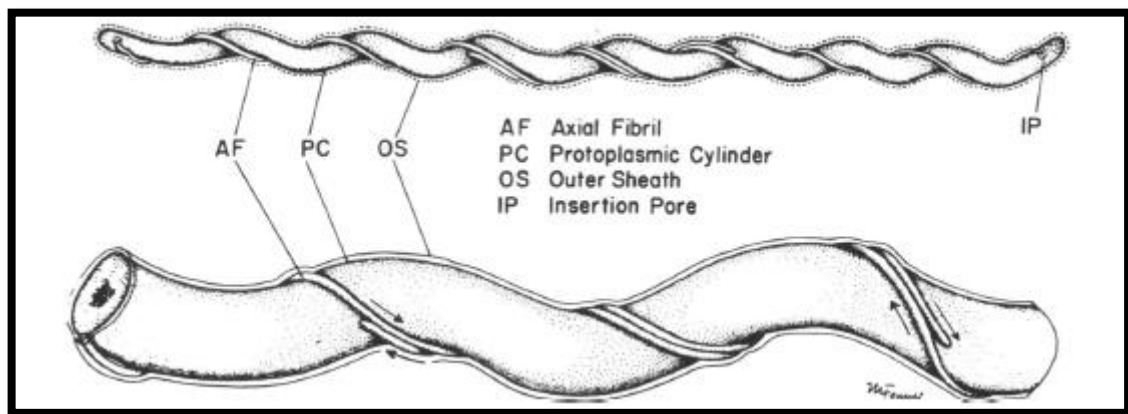
As leptospiros são constituídas por vários componentes, sendo os principais, do exterior para o interior:

- a) Envelope exterior;

- b) Periplasma;
- c) Cilindro protoplasmático.

O envelope exterior é constituído por uma camada superficial e uma membrana externa. A membrana externa actua como uma barreira, protegendo os antigénios subjacentes do exterior, no entanto esta membrana é fluida e frágil ao contrário das equivalentes pertencentes a outras bactérias gram-negativas (Haake, 2000). A membrana externa contém lipopolissacaridos, sendo que os lipopolissacaridos das leptospiros têm uma composição semelhante aos das outras bactérias gram-negativas, no entanto possuem uma actividade endotóxica menor (Shimizu, et al., 1987).

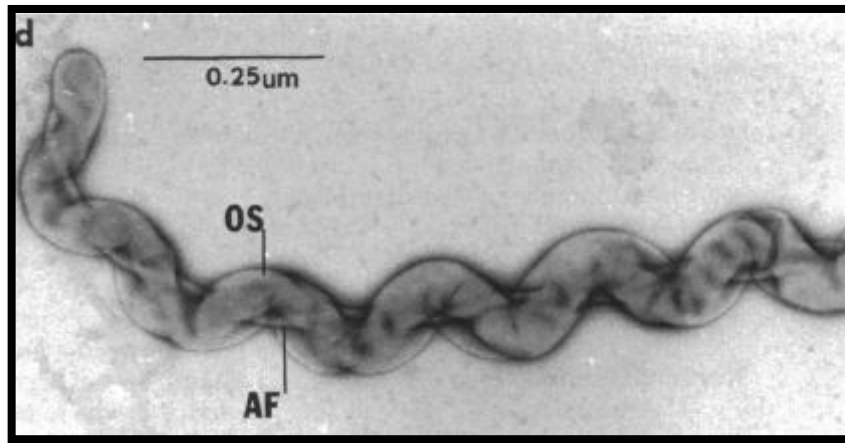
A interacção do envelope exterior com os restantes componentes principais pode ser melhor compreendida através da figura seguinte (Figura 2).



**Figura 2: Anatomia básica das espiroquetas interpretada através de microscopia electrónica, adaptado (Holt,1978). AF - Filamentos Axiais; PC - Cilindro Protoplasmático; OS – Envelope Exterior; IP – Poro de Inserção (do filamento axial).**

No periplasma, possuem uma estrutura típica comum a todas as espiroquetas, em que a parede celular de peptidoglicano se encontra intimamente associada à membrana citoplasmática (Haake, 2000). A parede de peptidoglicano é responsável pela rigidez celular e a membrana citoplasmática tem como responsabilidade, a protecção do citoplasma da célula. Alguns dos constituintes mais importantes da leptospira encontram-se neste espaço celular, os flagelos ou filamentos axiais. Cada leptospira possui dois filamentos axiais, cada um inserido no respectivo poro de inserção, que se encontra em cada um dos extremos do cilindro protoplasmático. Os filamentos axiais encontram-se entre a parede de peptidoglicano e a membrana externa, e entrelaçam-se com o cilindro protoplasmático. Ambos têm origem em pólos opostos do cilindro protoplasmático e estendem-se para a região central da célula, no entanto as duas extremidades livres raramente se tocam (Holt, 1978).

O cilindro protoplasmático consiste no corpo celular propriamente dito, englobando a membrana citoplasmática, o citoplasma, conteúdos citoplasmáticos e o material nuclear. O cilindro protoplasmático apresenta uma forma helicoidal em redor dos filamentos axiais, como se pode observar pormenorizadamente na figura abaixo (Figura 3).



**Figura 3:** *Leptospira interrogans* B16, adaptado (Holt, 1978). AF- Filamentos Axiais; OS- Envelope exterior.

### 2.1.2 Motilidade

As espiroquetas diferem das outras bactérias na medida em que os organelos responsáveis pela motilidade se encontram dentro da célula, no periplasma (Li, Motaleb, Sal, Goldstein, & Charon, 2000). O uso dos filamentos axiais e a estrutura morfológica, característica do género, permitem a estes organismos a movimentação através de meios gelatinosos e viscosos, tal como tecidos conjuntivos, que inibem a motilidade da maioria das bactérias (Armitage, 1992). A motilidade está à responsabilidade dos filamentos axiais: associados à parte interna da membrana, contraem periodicamente, causando rotação da espiral e, consequentemente, movimento. São possíveis três tipos de movimento: rotação em redor do eixo central, movimento progressivo na direcção da terminação recta, e movimentação circular (Bharti, et al., 2003). Dentro do movimento progressivo, existem duas formas distintas, a translacional e não-translacional (Levett, 2001). O filamento axial é mais rígido que o cilindro protoplasmático, fazendo com que as terminações da célula se contorçam conforme a forma dos seus filamentos (Li, Motaleb, Sal, Goldstein, & Charon, 2000). Os diferentes tipos de motilidade encontram-se esquematizados na figura seguinte, para melhor percepção (Figura 4).

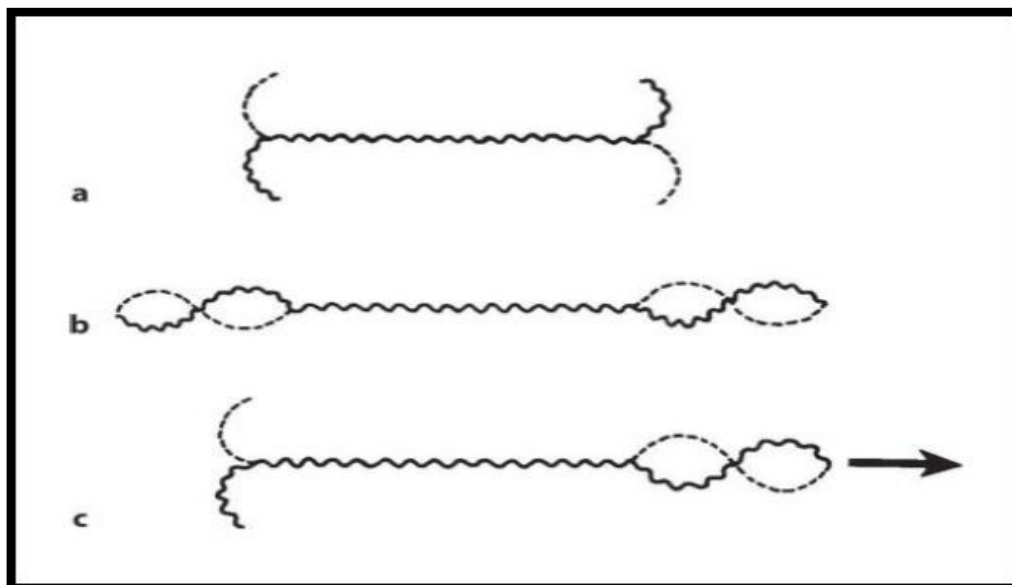


Figura 4: Motilidade leptospiral, adaptado (Wolgemuth, Charon, Goldstein, & Goldstein, 2006). a) e b) representam o movimento não-translacional; c) representa o movimento de translação.

### 2.1.3 Metabolismo e reprodução

As leptospiros são microrganismos aeróbios obrigatórios, com uma temperatura ótima de crescimento no intervalo entre os 28-30°C (Levett, 2001). Embora seja esta a temperatura ideal para a reprodução, a bactéria consegue sobreviver num espectro muito variável de temperatura, existindo apenas destruição quando se atingem temperaturas superiores a 55°C. Quando se encontram nos tecidos são muito resistentes ao frio, podendo sofrer congelação e posteriormente serem reavivadas, no entanto, a temperaturas inferiores a 10°C, parecem perder a capacidade de reprodução bem como a actividade normal. As leptospiros necessitam de água para sobreviver, sendo a dissecação o principal factor de risco para a sua destruição.

São, normalmente, intolerantes a valores de pH ácidos, preferindo um pH entre 7.2 e 7.6 (Overview of the leptospira bacterium itself, 2004-2009).

#### 2.1.3.1 Metabolismo

As leptospiros são organismos quimiorganotróficos<sup>1</sup>, que utilizam o oxigénio como o receptor final de electrões (Faine & Adler, 2006), como tal são considerados aeróbios obrigatórios.

<sup>1</sup> Organismos cujas fontes de energia provêm da degradação de matéria orgânica.

Encontram-se presentes na célula citocromos a, c e  $c_1$ , bem como catalase e oxidase e, a única fonte de energia derivada do carbono é proveniente de ácidos gordos de cadeia longa, através de  $\beta$ -oxidação. Os açúcares não são fermentados e, por isso, não podem ser utilizados como fontes de carbono, no entanto os hidratos de carbono podem ser sintetizados através de enzimas específicas existentes nas leptospiros (Faine & Adler, 2006).

As leptospiros têm capacidade de encurtar ou dessaturar ácidos gordos de cadeia longa e incorporá-los. No entanto, não possuem a capacidade de os sintetizar, por isso, a composição de ácidos gordos encontrada nas leptospiros, é muitas vezes o reflexo da composição de ácidos gordos do meio de cultura. Os ácidos gordos essenciais necessários para a nutrição/metabolismo das leptospiros são tóxicos, necessitando de ser apresentados às bactérias na presença de um desintoxicante - como por exemplo, albumina de origem bovina – que permita a adsorção dos compostos e a libertação lenta de pequenas quantidades destes, para uso da bactéria (Faine & Adler, 2006).

Existem claras diferenças entre grupos de leptospiros, no que diz respeito ao metabolismo das purinas e pirimidinas. Todas as espécies de *L. biflexa* conseguem sintetizar as suas necessidades de purinas e pirimidinas, e conseguem crescer na presença de 2,6-diaminopurina (10 mg/ml) ou 8-azaguanina (225 mg/ml), quando estes são adicionados ao meio de cultura. Algumas espécies patogénicas crescem na presença de 2,6-diaminopurina, no entanto, todas as espécies patogénicas têm o seu crescimento inibido na presença de 8-azaguanina (Faine & Adler, 2006).

Iões de amónia, provenientes de sais de amónia ou de aminoácidos, constituem a única fonte de nitrogénio. São necessários, para o crescimento da bactéria, algumas vitaminas - cianocobalamina e tiamina - e minerais - fosfato, cálcio, ferro, entre outros (Faine & Adler, 2006).

#### 2.1.3.2 Reprodução

A reprodução, à semelhança de outras bactérias, acontece através de divisão binária, quando estão presentes condições favoráveis à multiplicação. As estirpes patogénicas possuem uma reprodução quase nula na ausência do hospedeiro (ambiente exterior/laboratorial), no entanto cada célula pode sobreviver por um período muito extenso se as condições para a sobrevivência foram favoráveis (Overview of the leptospira bacterium itself, 2004-2009).

## 2.1.4 Antígenos leptospirais

As leptospiros possuem quatro tipos de antígenos principais: o lipopolissacarido (LPS), as proteínas, as lipoproteínas e os filamentos axiais.

### 2.1.4.1 Lipopolissacarido (LPS)

Farrelly et al. demonstrou, através de um estudo com anticorpos monoclonais, que o LPS leptospiral é o alvo de aglutinação e opsonização por anticorpos (Farrelly, Adler, & Faine, 1987). Sendo um antígeno aglutinante, torna-se importante para a classificação serológica das leptospiros (Faine & Adler, 2006).

Outro estudo, permitiu apreciar a acção de anticorpos monoclonais anti-LPS na protecção da infecção - animais a que foram administradas doses de anticorpos anti-LPS mostraram ser resistentes à doença causada pelo mesmo serovar administrado (Jost, Adler, Vinh, & Faine, 1986).

Apesar dos inúmeros estudos efectuados, ainda pouco se conhece sobre a estrutura do LPS leptospiral, a não ser a anteriormente mencionada menor actividade endotóxica, comparativamente aos LPS das bactérias gram-negativas (Levett, 2001).

O LPS estimula o sistema imunitário, principalmente a activação dos macrófagos (Isogai, Isogai, Fujii, & Oguma, 1990).

### 2.1.4.2 Antígenos proteicos e lipoproteicos

Um grande número de antígenos proteicos tem sido descrito através da análise de conteúdo celular lisado pelo método de eletroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). No entanto, na maioria das vezes as proteínas não foram identificadas nem associadas a uma determinada componente celular (Faine & Adler, 2006).

O uso de estudos de imunoprecipitação, que têm como objectivo a identificação de proteínas expostas na superfície celular, permitiu a identificação da OmpL1 (Outer membrane protein from *Leptospira*). A OmpL1 é uma proteína transmembranar com actividade de porina, que se encontra na membrana externa da leptospira (Haake, et al., 1993).

Estudos posteriores identificaram outras proteínas importantes, sendo a principal e mais importante a LipL32 (Lipoprotein from *Leptospira*). A LipL32 foi caracterizada como uma lipoproteína da membrana externa que é expressa em grandes quantidades por

espécies patogênicas de *Leptospira*, não só durante a cultura em laboratório, como durante a infecção *in vivo*. A sequência e expressão da LipL32 são conservadas em todas as espécies patogênicas (Haake, et al., 2000). Embora seja de extrema importância e exista o conhecimento de que é uma lipoproteína pertencente à membrana externa, a sua topologia exacta ainda é desconhecida. Ao ser uma proteína presente em todas as espécies patogênicas de *Leptospira*, não possui qualquer utilidade na classificação serológica, no entanto pode ser útil no diagnóstico da infecção pela bactéria.

Outras proteínas identificadas, como a LipL36 e a LipL41, também possuem algum interesse. A produção de LipL36 parece ocorrer maioritariamente, na fase de crescimento inicial em laboratório, no entanto o mesmo parece não acontecer *in vivo* (Haake, et al., 1998). Em relação à LipL41, foi demonstrado que a sua associação com a OmpL1, seria capaz de despertar uma resposta imune protectora, apenas provada com associação das duas proteínas (Haake, et al., 1999).

A localização das proteínas e lipoproteínas, bem como do LPS na bactéria encontra-se caracterizada no esquema seguinte, auxiliando a compreensão (Figura 5).

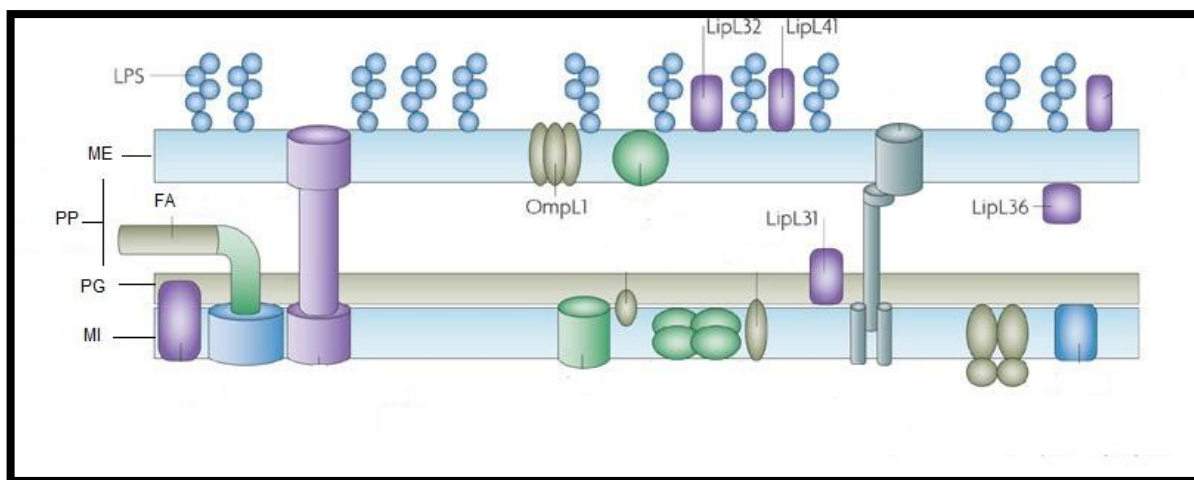


Figura 5: Esquema indicando a localização das várias proteínas, lipoproteínas e LPS leptospirais, adaptado (Ko, Goarant, & Picardeau, 2009). ME –Membrana externa; PP – Periplasma; PG – Peptidoglicano; MI – Membrana interna; FA – Filamento Axial.

#### 2.1.4.3 Antígenos filamentosos

A estrutura das proteínas filamentosas é complexa. Foram reconhecidas 7 proteínas diferentes associadas aos filamentos axiais. Uma proteína com 34 kDa foi associada ao núcleo e, uma proteína com 36 kDa ao revestimento dos filamentos (Trueba, Bolin, & Zuerner, 1992).

As proteínas que presumivelmente correspondem ao núcleo dos filamentos, mostraram permanecer conservadas nos diferentes géneros da família *Leptospiraceae*, reagindo similarmente com soro anti-leptospira e soro anti-filamentar (Kelson, Adler, Chapman, & Faine, 1988).

## 2.1.5 Taxonomia e Classificação

### 2.1.5.1 Classificação serológica

Anteriormente a 1989, o género *Leptospira* estava dividido em duas espécies: *L. biflexa* e *L. interrogans*, que englobavam todas as estirpes saprófitas existentes no ambiente e todas as estirpes patogénicas respectivamente.

As duas espécies eram diferenciadas entre si pela capacidade de crescimento de *L. biflexa* a 13°C e na presença de 8-azaguanina (225 µg/ml), bem como na incapacidade desta formar células esféricas em 1 M NaCl (Levett, 2001).

Ambas as espécies estão divididas em numerosos serovares definidos por aglutinação após absorção-cruzada com antigénio homólogo – duas estirpes pertencem ao mesmo serovar se menos de 10% dos anticorpos homólogos permanecerem em ambos os soros após a absorção; e pertencem a serovares diferentes quando 10% ou mais, dos anticorpos homólogos persistirem em pelo menos um dos dois anti-soros após a absorção (Levett, 2001).

Foram registados cerca de 60 serovares de *L. biflexa* e cerca de 200 de *L. interrogans*. Os serovares relacionados antigenicamente foram agrupados em serogrupos que, embora não tenham significado taxonómico, tornam-se uma ferramenta útil em termos epidemiológicos (Levett, 2001). A classificação serológica encontra-se demonstrada na tabela seguinte (Tabela 1).

**Tabela 1: Serogrupos e alguns serovares de *L. interrogans* sensu latu, adaptado (Levett, 2001)**

| Serogrupo                  | Serovar(es)                                     |
|----------------------------|-------------------------------------------------|
| <b>Icterohaemorrhagiae</b> | Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Lai, Zimbabwe |
| <b>Hebdomadis</b>          | Hebdomadis, Jules, Kremastos                    |
| <b>Autumnalis</b>          | Autumnalis, Fortbragg, Bim, Weerasinghe         |
| <b>Pyrogenes</b>           | Pyrogenes                                       |
| <b>Bataviae</b>            | Bataviae                                        |
| <b>Grippotyphosa</b>       | Grippotyphosa, Canalzonae, Ratnapura            |
| <b>Canicola</b>            | Canicola                                        |
| <b>Australis</b>           | Australis, Bratislava, Lora                     |
| <b>Pomona</b>              | Pomona                                          |
| <b>Javanica</b>            | Javanica                                        |

|                    |                            |
|--------------------|----------------------------|
| <b>Sejroe</b>      | Sejroe, Saxkoebing, Hardjo |
| <b>Panama</b>      | Panama, Mangus             |
| <b>Cynopteri</b>   | Cynopteri                  |
| <b>Djasiman</b>    | Djasiman                   |
| <b>Sarmin</b>      | Sarmin                     |
| <b>Mini</b>        | Mini, Georgia              |
| <b>Tarassovi</b>   | Tarassovi                  |
| <b>Ballum</b>      | Ballum, Aroborea           |
| <b>Celledoni</b>   | Celledoni                  |
| <b>Louisiana</b>   | Louisiana, Lanka           |
| <b>Ranarum</b>     | Ranarum                    |
| <b>Manhao</b>      | Manhao                     |
| <b>Shermani</b>    | Shermani                   |
| <b>Hurstbridge</b> | Hurstbridge                |

#### 2.1.5.2 Classificação genotípica

A classificação fenotípica do género *Leptospira* foi substituída pela classificação genotípica, na qual um número de genomospécies inclui todos os serovares de *L. biflexa* e *L. interrogans* (Levett, 2001).

A heterogeneidade genética foi demonstrada há bastante tempo, levando à definição de dez genomospécies de *Leptospira* recorrendo a estudos de hibridação de DNA (Yasuda, Steigerwalt, Sulzer, Kaufmann, Rogers, & Brenner, 1987).

As genomospécies são definidas como tendo, pelo menos 70% de relação entre os seus DNAs e cujas sequências de DNA contêm, no máximo, 5% de bases sem par (Bharti, et al., 2003).

Estudos posteriores levaram à definição de dezassete genomospécies, que incluem as dez anteriormente descritas (Brenner, Kaufmann, Sulzer, Steigerwalt, Rogers, & Weyant, 1999) (Ramadass, Jarvis, Corner, Penny, & Marshall, 1992) (Perolat, et al., 1998).

A classificação genotípica das leptospiros é suportada por informação de electroforese enzimática e estudos recentes indicam que revisões taxonómicas são necessárias (Postic, Riquelme-Sertour, Merien, Perolat, & Baranton, 2000) (Letocart, Boerlin, Boerlin-Petzold, Goudet, Baranton, & Perolat, 1999). A classificação genotípica encontra-se exemplificada na tabela seguinte (Tabela 2), demonstrando que o mesmo serogrupo pode pertencer a várias genomospécies.

Tabela 2: Genomospécies de *Leptospira* e distribuição de serogrupos, adaptado (Levett, 2001)

| Genomospécies                   | Serogrupos                                                                                                                                                       |
|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b><i>L. interrogans</i></b>    | Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pomona, Australis, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Djasiman, Hebdomadis, Sejroe, Bataviae, Ranarum, Louisiana, Mini, Sarmin |
| <b><i>L. noguchii</i></b>       | Panama, Autumnalis, Pyrogenes, Louisiana, Bataviae, Tarassovi, Australis, Shermani, Djasiman, Pomona                                                             |
| <b><i>L. santarosai</i></b>     | Shermani, Hebdomadis, Tarassovi, Pyrogenes, Autumnalis, Bataviae, Mini, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Javanica, Sarmin, Cynopteri                               |
| <b><i>L. meyeri</i></b>         | Ranarum, Semarang, Sejroe, Mini, Javanica                                                                                                                        |
| <b><i>L. wolbachii</i></b>      | Codice                                                                                                                                                           |
| <b><i>L. biflexa</i></b>        | Semarang, Andamana                                                                                                                                               |
| <b><i>L. fainei</i></b>         | Hurstbridge                                                                                                                                                      |
| <b><i>L. borgpetersenii</i></b> | Javanica, Ballum, Hebdomadis, Sejroe, Tarassovi, Mini, Celledoni, Pyrogenes, Bataviae, Australis, Autumnalis                                                     |
| <b><i>L. kirschneri</i></b>     | Grippotyphosa, Autumnalis, Cynopteri, Hebdomadis, Australis, Pomona, Djasiman, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Bataviae                                           |
| <b><i>L. weilii</i></b>         | Celledoni, Icterohaemorrhagiae, Sarmin, Javanica, Mini, Tarassovi, Hebdomadis, Pyrogenes, Manhao, Sejroe                                                         |
| <b><i>L. inadai</i></b>         | Lyme, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Manhao, Canicola, Panama, Javanica                                                                               |
| <b><i>L. parva</i></b>          | Turneria                                                                                                                                                         |
| <b><i>L. alexanderi</i></b>     | Manhao, Hebdomadis, Javanica, Mini                                                                                                                               |

#### 2.1.5.3 Controvérsia dos sistemas de classificação

Os dois sistemas de classificação do género *Leptospira* - serológico e genotípico - geram alguma confusão aquando da sua interacção.

Embora a sua nomenclatura seja igual nas duas classificações, as genomospécies de *Leptospira* não correspondem às duas espécies previamente definidas na classificação serológica – especialmente, porque na classificação genotípica os serovares patogénicos partilham a mesma genomospécie dos serovares não patogénicos. Uma vez que este fenómeno acontece na classificação genotípica, torna-se impossível prever a espécie de *Leptospira* através do serogrupo ou serovar. Por outro lado, as características fenotípicas utilizadas na classificação serológica, para diferenciar *L. interrogans* e *L. biflexa* não diferenciam as genomospécies (Levett, 2001).

A classificação genotípica é muito correcta taxonomicamente ao contrário da classificação serológica que não possui nenhuma base de taxonomia. No entanto a classificação molecular (genotípica) torna-se muito problemática devido ao uso prolongado no tempo da classificação serológica e da incompatibilidade das duas.

A classificação serológica continua a ser muito importante, devido à informação epidemiológica que permite obter. A nomenclatura também contribui para a indistinção, uma vez que é comum às duas classificações. Para ajudar na diferenciação das mesmas utiliza-se *L. interrogans sensu lato* e *L. biflexa sensu lato*, quando se pretende referir as duas espécies e, *L. interrogans sensu stricto* e *L. biflexa sensu stricto* quando se referem as genomoespécies.

### 2.1.6 Nomenclatura

O comité de Taxonomia de *Leptospira* da União Internacional de Sociedades Microbiológicas (IUMS) aprovou, em 2002, a nomenclatura actual a ser utilizada para os serovares de *Leptospira*. O género e a espécie devem ser escritos a itálico, o nome do serovar não deve ser italicizado e deve ser escrito com a primeira letra em maiúscula, seguindo o exemplo, *Leptospira interrogans* serovar Canicola (Sociedade Internacional de Leptospirose - ILS).

## 2.2 Epidemiologia

A leptospirose é, presumivelmente, a zoonose mais distribuída pelo mundo (Levett, 2001), com ocorrência de milhares de casos humanos estimados por ano (Francey, 2010).

A incidência é maior em regiões de clima quente do que em regiões de clima temperado, o que é reflexo da sobrevivência da bactéria no meio ambiente. No entanto, esta incidência resulta, não só das condições ambientes favoráveis para a bactéria, como também do desenvolvimento dos próprios países das regiões de clima quente. Nestas regiões, muitos dos países encontram-se ainda em desenvolvimento, o que leva a um elevado número de casos, devido a uma maior possibilidade de contacto com material infectado e hospedeiros reservatório (Levett, 2001).

A doença também responde a uma sazonalidade, com o pico de incidência no Verão ou Outono nos climas temperados e, durante a estação de chuva nos climas quentes. Esta sazonalidade é explicada facilmente pelos factores necessários à sobrevivência das leptospiros no ambiente, necessitando de uma temperatura amena a quente mas sempre com humidade presente, e nunca demasiado quente para evitar o risco de dissecação. A contaminação de água resultou em vários surtos de leptospirose em humanos, no entanto a transmissão directa entre pessoas raramente foi reportada. As infecções humanas têm origem em exposição ocupacional, recreativa e avocacional (Levett, 2001).

A exposição ocupacional é a que representa um maior risco para as pessoas, pois implica contacto directo e/ou indirecto persistente do humano com material infectado, sendo que neste grupo se encontram: agricultores, veterinários, técnicos de matadouro, inspectores de carnes, profissionais de controlo de pragas, profissionais de saneamento, mineiros, aquacultores, entre outros. O primeiro grupo ocupacional a ser reportado com a doença, em 1927, foram mineiros e mais tarde, profissionais de saneamento, sendo que neste último grupo foi isolado o primeiro serovar conhecido: *Icterohaemorrhagiae*. Passados alguns anos, na Escócia, os trabalhadores da área de saneamento tinham uma seroprevalência de 17%, que gerou uma preocupação e obrigou à adopção de medidas de controlo de pragas e de protecção individual. Estas medidas, bem como o aparecimento dos detergentes e o aumento da concentração destes nas águas residuais, diminuíram a incidência da doença associada à profissão. O principal risco mundial ocupacional está relacionado com o trabalho com gado, especialmente na fase de ordenha. O serovar Hardjo é o principal implicado, uma vez que o gado bovino é o seu principal hospedeiro de manutenção (HM), tendo já sido isolado em várias regiões corporais de vacas e bois como: fetos abortados, fetos normais, tractos genitais de gado grávido e não grávido, descargas vaginais pós parto e tracto urinário (Levett, 2001).

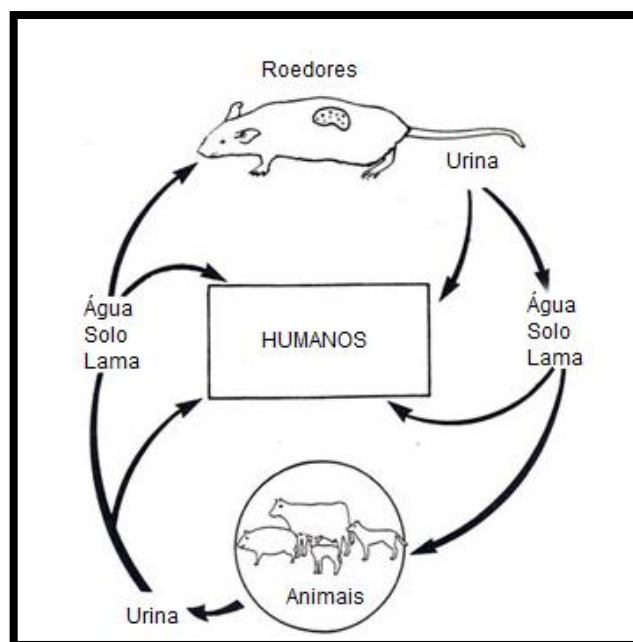
A exposição recreativa também tem associado um grande risco para a saúde humana, sendo que os surtos da doença muitas vezes aparecem associados a eventos competitivos precedidos de temperaturas ambientais quentes e sem humidade. Actividades que incluam desportos aquáticos, canoagem, natação, pesca de água doce, entre outras, levam a uma maior possibilidade de infecção. Alguns dos serovares isolados da água na Malásia e nos E.U.A. foram *Icterohaemorrhagiae*, *Dakota*, *Ballum*, *Pomona* e *Grippotyphosa* (Levett, 2001).

A exposição avocacional é responsável por vários casos esporádicos, associados com tarefas do dia-a-dia – andar descalço em condições com falta de higiene ou fazer jardinagem sem luvas. Acontece, maioritariamente, em regiões tropicais (Levett, 2001).

Foram definidos três padrões epidemiológicos de leptospirose. O primeiro ocorre em climas temperados, onde estão envolvidos poucos serovares e a infecção humana ocorre, quase sempre, pelo contacto directo com animais infectados através da produção de gado e de suínos. Nestes casos, o controlo através da vacinação de animais/humanos é potencialmente possível. O segundo padrão ocorre em regiões húmidas e tropicais, onde existem muitos serovares infectantes de humanos e animais, e um número alargado de HM como roedores, gado e cães. O controlo de roedores, drenagem de áreas alagadas e

higiene ocupacional são factores indispensáveis para a prevenção da doença nestas áreas. O terceiro padrão envolve a infecção originada por roedores em ambiente urbano (Faine, 1994).

Existem variações nos hospedeiros e nos serovares adaptados a estes, dependendo da localização geográfica, por isso torna-se muito importante o conhecimento dos serovares prevalentes e seus HM para posterior entendimento da epidemiologia da doença numa determinada região (Levett, 2001). O ciclo de infecção/transmissão da Leptospirose encontra-se esquematizado na figura abaixo (Figura 6) demonstrando a interacção entre os vários hospedeiros da doença.



**Figura 6: Ciclo da Leptospirose, adaptado (Research project - Leptospirosis and leptospire)**

A tabela seguinte (Tabela 3) demonstra alguns dos serovares de *Leptospira* que, mais frequentemente, infectam o cão e os seus hospedeiros de manutenção, com base em estudos de vários países.

**Tabela 3: Alguns serovares de *Leptospira interrogans sensu lato* que mais comumente afectam cães, adaptado (Burr, Lunn, & Yam, 2009)**

| <b>Serovar</b>             | <b>Hospedeiro de manutenção</b>          | <b>Países onde foram reportados títulos significantes em cães</b> |
|----------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>Canicola</b>            | Cão                                      | Reino Unido, Polónia, México                                      |
| <b>Icterohaemorrhagiae</b> | Ratazana                                 | Reino Unido, E.U.A., México                                       |
| <b>Autumnalis</b>          | Rato                                     | Canadá, E.U.A                                                     |
| <b>Bratislava</b>          | Cavalo                                   | Itália, Reino Unido, E.U.A, Canada                                |
| <b>Pomona</b>              | Porco, doninha, gambá, vaca              | Itália, E.U.A., Canada                                            |
| <b>Hardjo</b>              | Vaca                                     | Reino Unido, E.U.A.                                               |
| <b>Bataviae</b>            | Cão, ratazana, rato                      | Tailândia                                                         |
| <b>Grippotyphosa</b>       | Rato silvestre, guaxinim, doninha, gambá | Itália, E.U.A., Canadá                                            |
| <b>Copenhageni</b>         | Ratazana                                 | Nova Zelândia, Itália                                             |
| <b>Ballum</b>              | Rato                                     | Reino Unido                                                       |

## 2.3 Infecção e transmissão

A infecção por *Leptospira* ocorre pelo contacto directo ou indirecto com material contaminado. As principais fontes de infecção são: água ou solo contaminado com urina infectada, quer seja de hospedeiros de manutenção ou acidentais; a própria urina infectada; tecidos de animais infectados. A transmissão pode ocorrer por ingestão (água, alimentos, solo contaminado e tecidos infectados), contacto com mucosas, contacto com soluções de continuidade da pele (feridas e abrasões), mordeduras e fomites (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

Para entender a infecção e transmissão da doença, é necessário ter a noção dos dois grupos intervenientes neste ciclo – hospedeiros de manutenção ou reservatórios (HM) e hospedeiros acidentais ou incidentais (HA). Todos os animais, incluindo humanos, são distribuídos por um ou outro grupo.

O hospedeiro de manutenção é definido como, a espécie na qual a infecção é endémica e é transferida de animal para animal por contacto directo (Levett, 2001), sendo o HM, o principal motivo da persistência da doença no ambiente. Cada HM é adaptado a um determinado serovar - ou mais - que embora infectante, raramente é causador de doença nessa mesma espécie, sendo que o animal infectado cronicamente, a maioria das vezes não desenvolve patologia mas contribui para a infecção de outros animais, através da excreção contínua de leptospiros na sua urina. A doença é mantida na natureza pela infecção crónica dos túbulos renais dos HM, sendo que esta é adquirida numa idade jovem e a prevalência da leptospiúria aumenta com a idade do animal (Levett, 2001).

Os HA, pelo contrário, são caracterizados pela sua baixa susceptibilidade à infecção, mas se esta se estabelecer tem um efeito patogénico severo, uma fase renal curta e uma transmissão dentro da mesma espécie não eficiente. Os animais podem ser HM de um serovar e HA de outro serovar, cuja infecção pode causar doença severa ou mesmo fatal (Levett, 2001).

A extensão da infecção depende de vários factores: clima, densidade populacional, grau de contacto entre HM e HA, entre outros.

## 2.4 Patogenia

O mecanismo através do qual as leptospiros causam doença não é totalmente compreendido (Levett, 2001). Factores de virulência têm sido estudados ao longo dos anos, mas apenas uma quota-parte tem a sua importância devidamente descrita. O período de incubação é de, aproximadamente, uma semana, podendo variar consoante a virulência da estirpe e a resposta imune do hospedeiro.

### 2.4.1 Adesão

As leptospiros possuem a capacidade de aderir a células epiteliais (Levett, 2001). Estirpes virulentas da bactéria aderem às células do epitélio renal *in vitro* e esta adesão ocorre, especialmente, quando as concentrações de anticorpos homólogos são subaglutinantes. Na presença do anticorpo específico, as leptospiros são fagocitadas por macrófagos – a inibição da actividade macrofágica, aumenta a sensibilidade à infecção (Levett, 2001). A fagocitose apenas ocorre na presença de soro e do complemento (McGrath, Adler, Vinh, & Faine, 1984), sugerindo que o envelope exterior da bactéria pode possuir um componente antifagocítico. Leptospiros virulentas podem associar-se com neutrófilos, não sendo destruídas (Levett, 2001).

### 2.4.2 Produção de toxinas

A actividade endotóxica foi reportada em vários serovares, no entanto a capacidade tóxica do LPS leptospiral possui uma potência muito baixa. Os serovares Pomona e Ballum são responsáveis por produzir doença hemolítica em gado e hamsters, respectivamente. Algumas hemolisinas de alguns serovares têm sido caracterizadas, sendo que as hemolisinas dos serovares Ballum, Hardjo, Pomona (Bernheimer & Bey, 1986) e Tarassovi são esfingomielinases (Levett, 2001). Foi sugerido que a virulência das esfingomielinases

leptospirais se deve à formação de poros nas membranas celulares dos mamíferos (Lee, Kim, Park, & Kim, 2002).

Estirpes virulentas exibem quimiotaxia para a hemoglobina e actividade da Fosfolipase C foi reportada no serovar Canicola (Yanagihara, Kojima, & Mifuchi, 1982) contribuindo para a lise celular, quer de eritrócitos ou de outras células. Estirpes dos serovares Pomona e Copenhageni elaboram uma citotoxina proteica (Yam, Miller, & White, 1970) e esta actividade citotóxica tem sido observada no plasma de animais infectados (Levett, 2001). Esta toxina elicitou, *in vivo*, um efeito histopatológico típico – infiltração de macrófagos e células polimorfonucleares (Yam, Miller, & White, 1970). Foi identificada uma fracção glicolipoproteica com actividade citotóxica do serovar Copenhageni e uma fracção muito semelhante foi observada no serovar Canicola (Vinh, Adler, & Faine, 1986).

O LPS leptospiral estimula a aderência dos neutrófilos às células endoteliais e plaquetas, causando agregação e sugerindo um papel importante no desenvolvimento da trombocitopenia (Levett, 2001).

### 2.4.3 Mecanismos Imunes

A fase imune da leptospirose aguda é caracterizada pela fase na qual existe o desaparecimento do organismo da corrente sanguínea e o coincidente aparecimento de anticorpos em circulação. A doença imuno-mediada tem sido proposta como um dos factores que influenciam a gravidade dos sintomas (Levett, 2001), sendo que a quantidade de imunocomplexos circulantes foram correlacionados com os sintomas e, em pacientes que sobreviveram, os níveis de imunocomplexos circulantes diminuíram à medida que o paciente apresentava melhoras clínicas. No entanto, num estudo experimental em porcos-da-índia, demonstrou-se que o antigénio leptospiral localizava-se no interstício renal, enquanto a imunoglobulina G e a fracção C3 do complexo eram depositados no glomérulo e nas paredes de pequenos vasos sanguíneos (Yasuda, Hoshino-Shimizu, Yamashiro, & De Brito, 1986) – demonstrando assim, que a presença de imunocomplexos não será a única justificação para a afecção renal característica da doença.

Nos cavalos, é frequente o aparecimento de uveíte no período pós-doença, cuja causa aparente seja o envolvimento da produção de anticorpos contra um antigénio leptospiral que apresentam uma reacção cruzada com os tecidos oculares (Levett, 2001).

Na leptospirose humana foram demonstrados anticorpos anti-plaquetas, no entanto, aquando da septicemia, estes anticorpos são direccionados contra antigenos expostos em

plaquetas danificadas e, por isso não possuem qualquer envolvimento no aparecimento de trombocitopenia (Levett, 2001).

Leptospiras de estirpes virulentas conseguem induzir apoptose *in vivo* e *in vitro*, em ratos a apoptose de linfócitos é elicitada pelo LPS, através da indução do factor de necrose tumoral alfa (TNF-  $\alpha$ ) (Isogai, et al., 1998).

#### 2.4.4 Imunidade

Na leptospirose, como em qualquer doença, existem dois tipos de imunidade em questão – inata e adquirida.

A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa do hospedeiro, através da activação da via alternativa do sistema complemento e representa um dos mecanismos mais importantes de defesa durante as primeiras horas de infecção (Fraga, Barbosa, & Isaac, 2011).

A imunidade adquirida depende, maioritariamente, da produção de anticorpos e da activação da via clássica do sistema complemento. Dentro da imunidade adquirida, a imunidade humoral é de extrema importância para conferir protecção contra a Leptospirose em várias espécies. A maioria dos anticorpos produzidos é direccionada contra o LPS leptospiral, como tal a imunização passiva com anticorpos anti-LPS confere protecção contra a doença (Fraga, Barbosa, & Isaac, 2011).

Animais e humanos desenvolvem anticorpos contra determinados antígenos após infecção ou após vacinação. A imunidade é restrita ao serovar homólogo ou a serovares intimamente relacionados (Levett, 2001).

Foram concluídos vários estudos para determinar as classes de imunoglobulinas específicas anti-leptospira envolvidas na resposta imune. Em humanos, os anticorpos envolvidos na aglutinação leptospiral eram maioritariamente, imunoglobulinas M (IgM), mas alguns pacientes produziram também aglutininas de imunoglobulinas G (IgG). Os títulos de aglutininas IgM eram mais altos que os de aglutininas IgG e persistiam por muitos meses, independentemente da presença ou ausência de aglutininas IgG (Adler & Faine, 1978). No entanto, em gado com leptospirose, foi observado que a IgM também aparecia em primeiro lugar mas era rapidamente seguida pela IgG, e esta última persistia mais tempo que a primeira (Adler, Cousins, Faine, & Robertson, 1982). O mesmo foi verificado em suínos e em cães. Em cães infectados experimentalmente com *L. interrogans* Canicola (Hartman, van

Houten, van der Donk, & Frik, 1984), os níveis de IgM foram detectados desde a segunda metade da primeira semana após infecção, sendo que atingiram o seu máximo durante a segunda semana. Após este período, os títulos de IgM foram decrescendo e a produção de IgG foi observada mais tarde, aumentando gradualmente até atingir os níveis de IgM, ao longo de 2-3 meses.

A capacidade de fagocitose por parte dos neutrófilos foi estudada por diversas vezes, e em 1984, foi reconhecido que os neutrófilos não aparentavam ser um factor de defesa eficiente para leptospiros patogénicas em hospedeiros não imunizados (Wang, Sullivan, Sullivan, & Mandell, 1984a). No mesmo ano, ao examinar as interações de leptospiros patogénicas com monócitos humanos e macrófagos derivados de monócitos, avaliou-se o efeito de opsonização de soro imune serovar-específico na fagocitose de leptospiros patogénicas pelos monócitos e neutrófilos. Concluiu-se, neste estudo, que não existiu fagocitose ou morte de leptospiros patogénicas quando se utilizou soro normal a 10%, no entanto, quando as leptospiros foram expostas a um pré-tratamento com soro imune serovar-específico, os monócitos e neutrófilos fagocitaram 96% dos organismos e eliminaram 94% dos organismos fagocitados. Este estudo frisou a importância da opsonização pelo anticorpo específico na leptospirose, e a incapacidade da actuação das células fagocíticas sem a presença desse mesmo anticorpo específico (Wang, Sullivan, Sullivan, & Mandell, 1984b). Para além das propriedades opsonizantes, os anticorpos específicos (IgG) podem aglutinar as leptospiros e activar a via clássica do sistema complemento (Fraga, Barbosa, & Isaac, 2011).

A imunidade celular, por outro lado, encontra-se pouco compreendida. Em gado, a protecção contra a leptospirose tem sido associada ao desenvolvimento de respostas imunes mediadas por células, sendo que a vacinação de gado com uma preparação de uma determinada estirpe leptospiral morta resultou na produção e proliferação de células CD4<sup>+</sup> seguida de células mononucleares (Naiman, Alt, Bolin, Zuerner, & Baldwin, 2001).

Estudos mais recentes sobre a imunidade celular recaem sobre a percepção desta imunidade no HM, recorrendo à vacinação para demonstrar a capacidade desta induzir uma resposta de imunidade celular tipo I e, demonstrando também a capacidade de imunização comparando vacinas anti-*Leptospira* monovalentes e pentavalentes, em gado (Brown, Blumberman, Gay, Bolin, Duby, & Baldwin, 2003).

## 2.5 Sinais clínicos

Anteriormente, foi considerado que a diferentes serovares infectantes estavam associados diferentes síndromes clínicas (Levett, 2001). No entanto, estudos mais intensivos ao longo do tempo, refutaram por completo esta hipótese, sendo que a variedade de sinais clínicos da doença é facilmente explicada pela presença de HM e seus serovares em variadas regiões geográficas. A apresentação clínica da leptospirose é bifásica. A fase aguda ou septicêmica dura cerca de uma semana e é seguida da fase imune, caracterizada pela produção de anticorpos e excreção dos microrganismos na urina. A maioria das complicações da leptospirose está associada à presença das leptospiras nos tecidos, durante a fase imune, ocorrendo a partir da segunda semana da doença (Levett, 2001).

Em humanos, estão descritas duas apresentações principais: a leptospirose anictérica e a leptospirose ictérica.

### 2.5.1 Leptospirose anictérica

A maioria dos pacientes infectados por leptospiras tem uma apresentação clínica ligeira ou subclínica. No entanto, a maioria dos casos reconhecidos apresenta-se com uma doença febril de início súbito e outros sintomas, entre os quais: arrepios, dor de cabeça, mialgia, dor abdominal, sufusão conjuntival e exantema cutâneo. A febre pode ser bifásica, podendo recorrer após uma remissão de 3 a 4 dias. Os sintomas duram cerca de uma semana, tendo a sua resolução quando se instala a fase imune. Mais raramente, também pode ocorrer meningite aséptica, relatada em pacientes tendencialmente jovens, menores de 14 anos. Foi reportada recentemente, a presença de petéquias (Levett, 2001).

A mortalidade é praticamente nula nesta apresentação de leptospirose (Levett, 2001).

### 2.5.2 Leptospirose ictérica

Esta apresentação, por outro lado, é muito mais grave e o curso da doença progride rapidamente. Existe uma mortalidade elevada associada a esta apresentação, possivelmente devido à tardia apresentação do doente ao médico (Levett, 2001).

A icterícia existente na leptospirose não está associada a necrose hepatocelular, e o fígado volta à função normal após recuperação da doença, no entanto os valores de bilirrubina sérica podem estar aumentados e levam várias semanas a normalizar. Existem elevações nas enzimas hepáticas.

As complicações da doença demonstram a sua capacidade de afecção multiorgânica. A leptospirose é uma das causas mais comuns de insuficiência renal aguda (IRA), ocorrendo até 40% dos casos, e muitas vezes os valores de amilase sérica estão concorrentemente aumentados, embora não seja comum o achado de sinais clínicos de pancreatite. A trombocitopenia está presente em mais de 50% dos casos, no entanto, não se encontra qualquer relação com a coagulação intravascular disseminada (CIVD).

O envolvimento pulmonar assumiu bastante importância na leptospirose humana chegando a ser, em alguns surtos, a principal manifestação da doença. A entidade bem reconhecida em humanos é denominada síndrome hemorrágica pulmonar leptospiral (SHPL) (Klopfleisch, et al., 2010). Está descrito um amplo espectro de sintomas, incluindo tosse, dispneia, hemoptise de várias intensidades e síndrome de stress respiratório agudo. Mesmo em pacientes que não exibiam sintomas pulmonares, foi identificada hemorragia intra-alveolar na maioria dos doentes. As radiografias revelam pequenas opacidades difusas, que podem ser disseminadas ou que podem coalescer e dar origem a grandes áreas de consolidação, reflectindo áreas de hemorragia intra-alveolar e intersticial.

Embora seja subestimada, a afecção cardíaca é comum na leptospirose humana, podendo ocorrer miocardite grave (Levett, 2001).

As diferentes fases da doença e o seu tempo de ocorrência podem ser melhor compreendidas através da imagem seguinte (Figura 7).

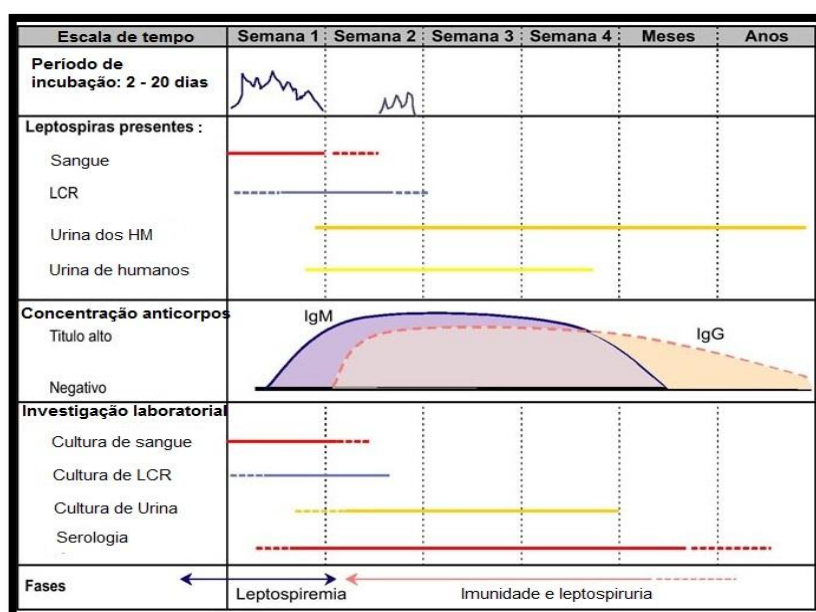


Figura 7: Fases da leptospirose e recolha de amostras adequadas a cada fase, adaptado (Céspedes, 2005).

### 2.5.3 Outras complicações

Podem ocorrer ainda outras complicações da doença como a uveíte anterior (unilateral ou bilateral), que se pode apresentar muito tempo após a doença aguda – de semanas a anos. A infecção aguda adquirida na gestação pode provocar aborto e morte fetal. Outras complicações mais raras são acidentes vasculares cerebrais, rabdomiolise, colecistite aguda alitiásica, estenose aórtica, entre outros (Levett, 2001).

## 2.6 Métodos laboratoriais no diagnóstico da Leptospirose

Como é usual em qualquer situação patológica, o diagnóstico da doença é conseguido através da soma das conclusões retiradas ao longo do percurso clínico. No caso da leptospirose, embora exista algum conhecimento da sua epidemiologia e dos sinais clínicos associados mais comuns, torna-se necessário recorrer a métodos laboratoriais para obtenção do diagnóstico final correcto. Os métodos laboratoriais de diagnóstico e estudo da leptospirose estão a ser desenvolvidos continuamente, representando uma ferramenta muito importante na doença em humanos e animais. Existem vários testes disponíveis actualmente e a escolha de cada um depende do objectivo a alcançar. Os métodos laboratoriais de diagnóstico da leptospirose podem ser divididos em dois grupos principais, consoante o objectivo seja a detecção de anticorpos ou a detecção de antígenos no paciente.

### 2.6.1 Métodos serológicos de detecção de anticorpos

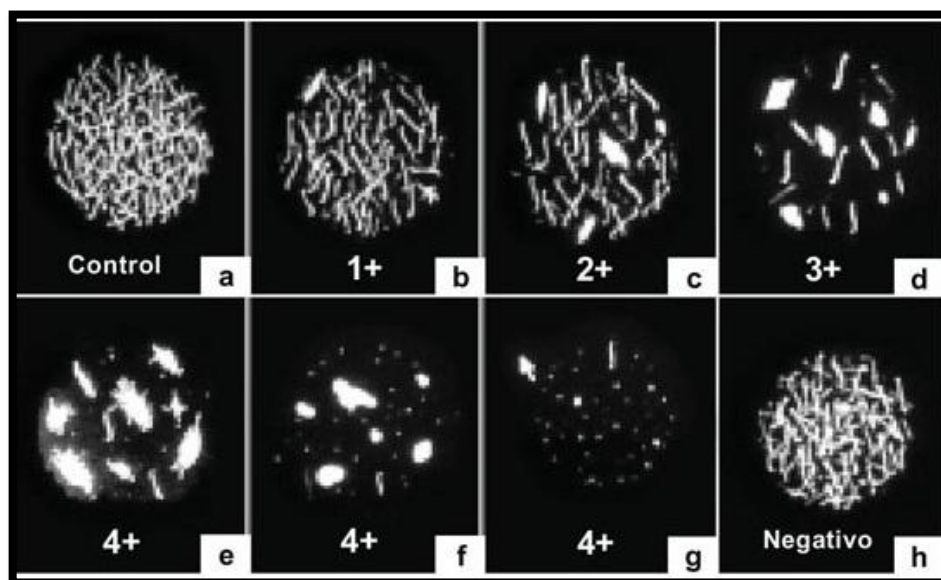
A maioria dos casos de leptospirose é diagnosticada por serologia, sendo que os anticorpos são detectáveis no sangue, aproximadamente 5-7 dias após o início dos sintomas (Levett, 2001). Os principais métodos laboratoriais de diagnóstico serológico são descritos de seguida.

#### 2.6.1.1 Teste de Aglutinação Microscópica (MAT)

O teste de aglutinação microscópica (MAT) é o método serológico de referência no diagnóstico da leptospirose. Este teste consiste em fazer reagir diluições do soro do paciente suspeito com suspensões de serovares leptospirais vivos, que actuam como antígeno. Após incubação, as misturas soro-antígeno são examinadas, através de microscopia de campo-escuro, para avaliar a presença de aglutinação e determinar, consequentemente, os títulos de anticorpos. O ponto de terminação ou *cut-off* é a diluição mais alta do soro na qual ocorre 50% de aglutinação. Como é difícil a detecção de 50% de aglutinação, o ponto de terminação é determinado pela presença de, aproximadamente,

50% de leptopiras não aglutinadas, comparativamente com a suspensão de controlo. Exemplos das várias reacções obtidas no MAT podem ser observados na figura seguinte (Figura 8).

Os protocolos para realizar o MAT encontram-se descritos em detalhe e este teste é complexo em termos de controlo, execução e interpretação. A execução deste implica o cumprimento de vários requisitos pelo laboratório, entre os quais, a manutenção de culturas vivas de todos os serovares, obrigando à constante subcultura de várias estirpes e, a verificação periódica de cada serovar, devido ao risco continuado de contaminação das culturas de antígenos. Outra das desvantagens do método inclui a dificuldade de 'standardização' devido à subjectividade na análise da aglutinação, fazendo com que existam resultados diferentes entre diferentes laboratórios e entre vários operadores no mesmo laboratório.



**Figura 8: Reacções do MAT. a)Controlo; b)25% de aglutinação; c)50% de aglutinação; d)75% de aglutinação; e)100% de aglutinação; f)100% de aglutinação e lise; g)100% de lise; h)amostra negativa (Céspedes, 2005).**

O MAT pode ser realizado com antígenos vivos ou com antígenos tratados com formalina. A aglutinação com antígenos formalinizados origina um maior número de reacções cruzadas e existe uma tendência para os títulos obtidos serem mais baixos do que os obtidos com antígenos vivos. No entanto, esta variante representa um menor encargo em termos de experiência e trabalho laboratorial, comparativamente com a utilização de antígenos vivos.

O MAT é um teste serogrupo-específico e não serovar-específico. No MAT, são testados vários serogrupos, cada um deles representado por um único serovar. Os

antígenos utilizados devem incluir serovares representantes de todos os serogrupos, bem como os serovares mais comuns na localização geográfica em causa.

A interpretação clínica do MAT é complicada devido ao alto grau de reacção cruzada entre os serogrupos, especialmente, na fase aguda da doença. Podem ocorrer reacções paradoxais, nas quais são detectados os títulos mais altos em relação a um serogrupo não relacionado com o infectante.

A existência de uma ampla reacção cruzada na fase aguda, seguida de uma relativa especificidade em relação ao serogrupo em amostras da fase convalescente, pode ser facilmente explicada através da detecção de ambos os anticorpos, IgM e IgG, pelo MAT. Para confirmar a infecção aguda através do MAT, é extremamente útil recorrer à serologia em par, sendo que um aumento entre títulos de 4 vezes ou mais confirma o diagnóstico, independentemente do intervalo de tempo de recolha das amostras. O intervalo de recolha das amostras é variável, se existir sintomatologia bastará um intervalo de 3-5 dias para detecção de aumento dos títulos. Pacientes com leptospirose fulminante podem morrer antes de existir seroconversão. A infecção aguda é sugerida quando existe detecção de um único título elevado associado com doença febril aguda.

A magnitude do título depende do nível de exposição da população em questão, isto é, da seroprevalência nessa população. Um título mais baixo é apropriado para populações em que a ocorrência da leptospirose é diminuta, no entanto, em populações onde a doença é endémica torna-se necessário estabelecer um título maior como meta para definição de infecção.

O MAT é o teste mais apropriado para efeitos epidemiológicos, uma vez que pode ser aplicado a qualquer espécie animal e o espectro de antígenos utilizado pode ser aumentado ou diminuído conforme o interesse (Levett, 2001).

#### a) Como utilizar o MAT no diagnóstico de leptospirose em cães

O procedimento é muito semelhante ao descrito previamente, com a excepção que, em veterinária, são usados menos serovares como antígeno em relação ao teste utilizado em humanos. O MAT encontra-se facilmente disponível na maioria dos laboratórios e é pouco dispendioso. É considerado o teste diagnóstico de eleição para a leptospirose canina, em pacientes com sinais clínicos consistentes (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Existe uma falta de consenso acerca de qual o título a utilizar para determinar o limite entre o resultado negativo e positivo.

Na primeira semana da doença em cães, é frequente existir um resultado negativo no MAT, sendo recomendado recolher amostras da fase aguda e convalescente para posteriores conclusões. Os veterinários devem esperar cerca de 7 a 14 dias entre recolha de amostras, para observar seroconversão. Normalmente um aumento de 4 vezes do título de anticorpos, significa que existe infecção recente. No entanto, a instituição de antibioterapia pode mascarar um aumento do título. Em animais com história de vacinação prévia, exposição à doença ou infecção crónica pode esperar-se que os títulos se alterem mais lentamente ou não se alterem de todo. Os títulos podem persistir pelo período mínimo de um ano após infecção natural, sendo que um estudo indicou uma descida dos títulos 4 meses após vacinação (Barr, McDonough, Scipioni-Ball, & Starr, 2005).

A presença de um título positivo isolado pode aumentar a suspeita da doença, mas mesmo quando apresenta um valor alto ( $\geq 1:800$ ) não é confirmatório do diagnóstico. Isto torna-se especialmente importante em cães que foram vacinados porque, embora os títulos pós-vacinais tenham tendência a ser baixos, títulos altos ( $\geq 1:1,600$ ) possuem potencial de persistência pós-vacinação, podendo ocorrer reacções cruzadas com serogrupos não vacinais no MAT. A co-infecção por múltiplos serovares não está documentada. As reacções cruzadas são muito comuns, resultando em títulos elevados para múltiplos serovares, no entanto considera-se que o serovar responsável pela infecção é aquele cujo título se mantém elevado por um período maior de tempo. Podem ocorrer títulos negativos falsos, se o serovar infectante não estiver incluído no painel de serovares utilizado no teste, o que pode ser plausível tendo em conta a quantidade inferior de serovares utilizados no MAT para cães (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011). Títulos negativos não são suficientes para descartar o diagnóstico da doença, especialmente numa fase inicial da doença (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

Resumindo, o MAT é um bom teste para diagnóstico de leptospirose, quando associado a sinais clínicos consistentes. Deve existir sempre a noção das limitações do teste, tal como a baixa probabilidade de determinação do serovar infectante e as reacções cruzadas entre serogrupos. Saber interpretar o teste, tendo em conta todas as suas limitações, é um passo importante no estabelecimento do diagnóstico.

#### 2.6.1.2 Teste imunoenzimático (ELISA)

Este teste revela a sua vantagem em relação ao MAT, devido à rapidez de confirmação do diagnóstico no percurso da doença. Os anticorpos para os quais o método é direccionado, IgM, são detectáveis durante a primeira semana de infecção em humanos,

tornando possível o diagnóstico da doença mais cedo sendo o posterior tratamento mais eficaz devido à rapidez de actuação (Levett, 2001).

Em medicina humana são desejados testes com reactividade de amplo espectro e existe uma menor preferência por testes serovar-específicos, que são pouco desenvolvidos. Pelo contrário, em medicina veterinária, as aplicações de ELISA no diagnóstico de leptospirose apontam para a detecção de anticorpos serovar-específicos (Levett, 2001).

Este método é especialmente útil e importante em animais de produção e, encontram-se descritos métodos de ELISA para a detecção dos serovares Pomona e Hardjo nestas espécies. Este método torna-se deveras importante uma vez que, ao detectar IgM, aumenta a facilidade de diagnóstico de uma infecção recente, retirando das hipóteses o aparecimento de falsos positivos por exposição prévia ou infecção crónica (Levett, 2001).



**Figura 9: Exemplo de um kit de ELISA dirigido para IgM, para leptospirose. Fonte: [www.baria.cz/leptospira-antibody-elisa-kits](http://www.baria.cz/leptospira-antibody-elisa-kits)**

Um exemplo de um kit de ELISA-IgM pode ser visto na figura acima (Figura 9), existindo semelhantes para a detecção de IgG.

A detecção de IgM através de ELISA também foi aplicada no diagnóstico de leptospirose canina (Levett, 2001).

Aplicações de ELISA, demonstraram que o método possui uma especificidade aproximada de 95.6% em animais cujo resultado do MAT era negativo, e uma sensibilidade aproximada de 100% em animais com MAT positivo, em relação a alguns serovares (Ribotta, Higgins, Gottschalk, & Lallier, 2000).

#### 2.6.1.3 Teste de anticorpos imunofluorescentes (IFAT)

Este método é baseado num antígeno género-específico. Isto significa que será expectável que este teste detecte anticorpos contra todos os serovares pertencentes ao

género *Leptospira*. Apesar de não representar vantagem devido à incapacidade de fornecer informação acerca do serovar infectante, estudos anteriores sugerem que o teste possui capacidade de detectar títulos de anticorpos em animais infectados mas não possui a capacidade de detectar títulos resultantes de vacinação (Burr, Lunn, & Yam, 2009). Isto torna-se útil e facilita a interpretação clínica da análise, uma vez que não se espera que o resultado seja falsamente positivo devido a uma possível vacinação prévia. Este método encontra-se disponível em laboratórios portugueses e o seu custo é bastante aceitável.

## 2.6.2 Métodos de detecção de antígenos

Existem vários métodos de detecção de antígenos no paciente, alguns mais vantajosos que outros. A cultura, é um dos métodos mais importantes no estudo da leptospirose, embora a sua utilização no diagnóstico seja muito limitada. Os métodos moleculares, especialmente a reacção em cadeia pela polimerase (PCR), estão em contínuo desenvolvimento, apresentando cada vez mais disponibilidade.

### 2.6.2.1 Demonstração microscópica

As leptospirosas podem ser visualizadas em material clínico através de microscopia de campo escuro, imunofluorescência ou microscopia óptica após técnica de coloração apropriada (Levett, 2001).

Podem ser analisados, através de microscopia de campo escuro, vários fluidos corporais, como sangue e urina. No entanto, a principal limitação desta técnica resume-se à quantidade de microrganismos existentes, sendo que são precisas cerca de  $10^4$  leptospirosas/ml por célula por campo para que possa existir visualização (Levett, 2001). Possui baixa sensibilidade e especificidade (Burr, Lunn, & Yam, 2009). O resultado de uma microscopia de campo escuro para visualização de leptospirosas pode ser observado na figura abaixo (Figura 10).

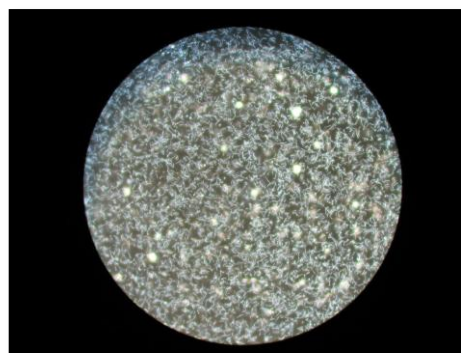
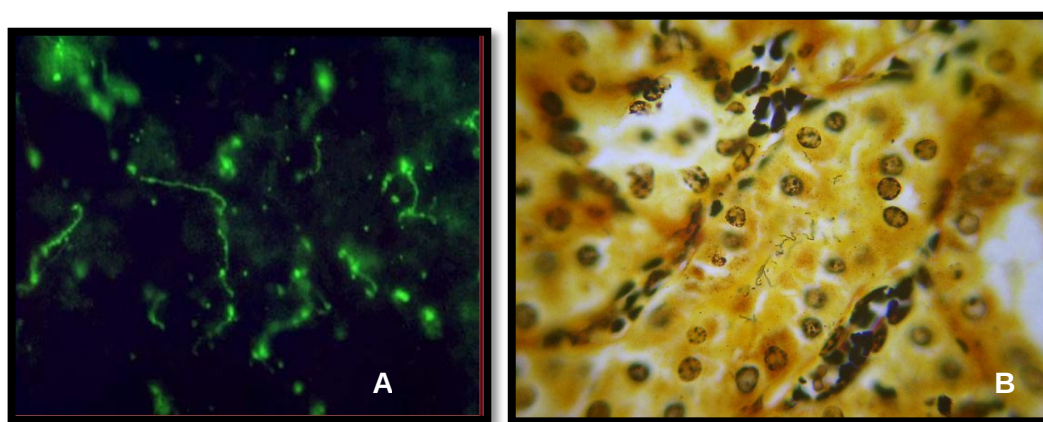


Figura 10: Leptospirosas em microscópio de campo escuro, ampliação de 200 x. Fonte: [http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Leptospirosis\\_darkfield.jpg](http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Leptospirosis_darkfield.jpg).

Os métodos de coloração foram aplicados para aumentar a sensibilidade do exame por microscopia directa, incluindo a coloração por imunofluorescência de urina de bovino, água e solo (Figura 11-A) e, a coloração por imunoperoxidase de sangue e urina (Levett, 2001).

Para a visualização de leptospiros nos tecidos, foram aplicadas várias colorações histopatológicas, sendo primeiramente detectadas através de impregnação por prata. A coloração de Warthin-Starry (Figura 11-B) é amplamente utilizada (Levett, 2001) bem como a coloração com Giemsa, no entanto pode originar falsos negativos na presença de um baixo número de microrganismos (Burr, Lunn, & Yam, 2009).



**Figura 11: Leptospiras identificadas pelo método de imunofluorescência directa (A) e pela coloração de Warthin-Starry (B).** Fonte: <http://www.inta.gov.ar/patobiologia/images/lepto2.htm>.

#### 2.6.2.2 Cultura e isolamento

As amostras biológicas a recolher para cultura de leptospiros depende da fase da doença em que o paciente se encontra, de acordo com a figura 6. A leptospiremia ocorre durante a primeira fase da doença, antes do início dos sintomas, terminando perto do final da primeira semana de doença aguda (Levett, 2001). Caso se queira utilizar sangue para a cultura, este deve ser obtido durante este período de tempo ou o mais cedo possível no decorrer da apresentação clínica. A urina pode ser utilizada para cultura, sendo que deve ser recolhida a partir do início da segunda semana da doença. A cultura de leptospiros é extremamente exigente, sendo que são necessárias inúmeras diluições, vários meios de cultura e análises periódicas a estas, para assegurar o crescimento do microrganismo. Este método é muito difícil, muito moroso e exige uma avançada técnica laboratorial, sendo que poucos laboratórios podem prestar este serviço (Burr, Lunn, & Yam, 2009). Especial atenção deve ser tomada para que a amostra recolhida anteceda o início de antibioterapia, e no caso de a amostra ser urina, fazer várias recolhas intercaladas, devido à excreção intermitente da bactéria (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

Após identificação da cultura, por métodos serológicos ou moleculares, pode executar-se o isolamento da estirpe. O isolamento sendo conseguido após um processo tão demorado, possui maior interesse como instrumento de estudo do que como método de diagnóstico. É uma ferramenta muito útil na epidemiologia da doença.

#### 2.6.2.3 Métodos Moleculares

O método molecular mais utilizado no diagnóstico da leptospirose é a reacção em cadeia pela polimerase (PCR). Foram descritos vários *primer* para a detecção de leptospiros por PCR, no entanto pouco mostraram ser capazes de amplificar o ácido desoxirribonucleico (DNA) leptospiral de material biológico humano ou veterinário (Levett, 2001). O DNA leptospiral foi amplificado de soro, urina, humor aquoso, líquido cefalorraquidiano e alguns tecidos (Levett, 2001).

Um teste baseado na sequência de inserção IS1533 facilitou a detecção e identificação de serovares, directamente de urina (Levett, 2001).

Limitações do PCR como método de diagnóstico incluem a incapacidade de identificação do serovar infectante, essencial para uma percepção epidemiológica da doença, a possibilidade de falsos negativos quando o número de microrganismos é baixo ou quando existem na amostra inibidores do PCR (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

No entanto, este método apresenta vantagens, na medida em que consegue detectar a presença da bactéria antes de existir produção de anticorpos. Ao contrário do que acontece no MAT, são precisas múltiplas doses de antibiótico para que o PCR seja negativo (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

No entanto em países como a Inglaterra, o PCR ainda não se encontra disponível (Burr, Lunn, & Yam, 2009). Por outro lado, em Portugal e Espanha, o método já se encontra disponível numa variedade de laboratórios, sendo o seu custo pouco elevado.

##### a) Como utilizar o PCR no diagnóstico da leptospirose em cães

Para além da possibilidade, previamente descrita, de identificação da leptospira antes da seroconversão, o PCR também pode ser utilizado como método de confirmação da infecção activa em animais com história de vacinação. Animais vacinados contra a leptospirose podem dar origem a falsos positivos nos testes de detecção de anticorpos - nesses casos, o PCR pode ser utilizado para confirmar a infecção recente recorrendo à detecção de antígenos (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011). O

PCR também é muito útil por permitir a detecção da bactéria em animais portadores crónicos (Rojas, Monahan, Schuller, Miller, Markey, & Nally, 2010).

Em cães, os primeiros 10 dias de infecção representam a fase de leptospiremia, e as amostras de sangue devem ser recolhidas neste intervalo (Greenlee, Alt, Bolin, Zuerner, & Andreasen, 2005). Depois deste período, a amostra de eleição a ser recolhida será a urina. Quando não existe conhecimento do tempo de infecção, como acontece na maior parte das vezes em veterinária, devem testar-se simultaneamente o sangue e a urina (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Actualmente, existe ainda pouca informação acerca da validade do PCR na detecção de leptospiros patogénicas em cães. A sua sensibilidade, especificidade e valores preditivos positivo e negativo tem conhecimento limitado, e consequentemente os resultados do PCR devem ser sempre interpretados em conjunto com outros métodos de diagnóstico. Foi demonstrado que a sensibilidade do método era 90% nos primeiros 5 dias da doença, decrescendo para 50% no período seguinte (Riediger et al, manuscript in preparation).

## 2.7 Leptospirose em Cães

A leptospirose em cães possui algumas diferenças em relação à doença nos humanos, que serão abordadas em seguida.

### 2.7.1 Síndromes e sinais clínicos

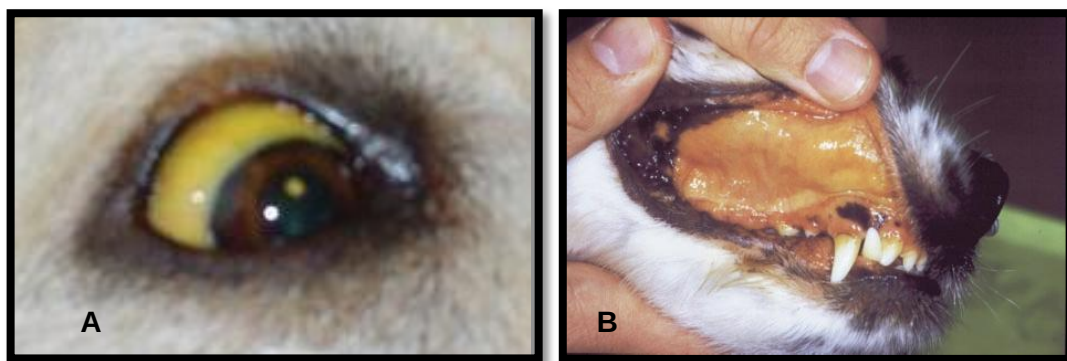
A infecção por *Leptospira* em cães resulta em doença de intensidade variável, dependente de vários factores como a estirpe infectante, a reposta imune do hospedeiro e a localização geográfica. Alguns cães desenvolvem poucos ou nenhuns sinais da doença, enquanto outros apresentam sinais graves e mesmo a morte. Embora em relação aos cães, não existam duas apresentações da doença tão bem delimitadas comparativamente ao que acontece nos humanos, continuam a considerar-se as duas fases principais da doença – aguda e imune (Levett, 2001).

Os veterinários devem suspeitar de leptospirose no cão sempre que existam sinais de insuficiência hepática e/ou renal, uveíte, hemorragia pulmonar, doença febril aguda ou aborto (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

A hipertermia marcada (excedendo os 40°C) ocorre na fase inicial da doença e pode ser acompanhada por tremores, fraqueza muscular generalizada e relutância em mover-se (Harkin, 2008) (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Os animais com IRA podem apresentar poliúria (PU), polidipsia (PD), desidratação, vômitos, diarreia, inapetência, letargia e dor abdominal, sendo que estes sinais podem ocorrer isolados ou em conjunto. Também pode acontecer, em vez de PU, a manifestação de oligúria ou anúria, sendo que a hematuria também foi reportada após infecção natural e experimental. A PU e PD podem desenvolver-se em animais sem sinais de azotemia, podendo resultar de uma taxa de filtração glomerular (TFG) diminuída, causando uma capacidade ineficiente de concentração renal – no entanto, estes pacientes também podem apresentar hipostenúria. Alguns estudos de leptospirose experimental demonstraram uma resposta diminuída dos ductos colectores renais à vasopressina, colocando a hipótese da PU resultar de diabetes insipidus nefrogénico adquirido. Animais que sobrevivam à lesão renal aguda podem desenvolver uma lesão renal crónica residual, podendo progredir para uma insuficiência renal crónica (IRC) (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Sinais de lesão hepática também podem ocorrer, incluindo icterícia (Figura 12), apresentando-se concorrentemente com IRA em 10-20% dos cães. Hepatite crónica activa foi reportada em canis associada com o desenvolvimento de anticorpos contra os serovares Grippotyphosa e Australis. A leptospirose deve ser incluída nos diagnósticos diferenciais de cães com hepatite ou fibrose hepática (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).



**Figura 12:** Icterícia na mucosa ocular (A) e bucal (B) de um cão com leptospirose (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

Podem ocorrer taquipneia e dispneia associadas ao SHPL, semelhante ao equivalente nos humanos (Francey, 2010) (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Alterações sugestivas de pancreatite foram detectadas, através de ultrassonografia, em alguns pacientes (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Alguns distúrbios na hemostase também se podem manifestar (hematemese, hematoquezia, melena, epistaxis, hemoptise, petéquias) embora os seus mecanismos sejam pouco compreendidos. A presença de vasculite pode originar edema periférico e efusão pleural ou peritoneal (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Outras manifestações da infecção são a conjuntivite e uveíte. A uveíte pode ser subtil, e está presente num grande número de cães, no entanto a maioria das vezes não é identificada pelo veterinário (Harkin, 2008).

A meningite, embora reportada em humanos, não foi documentada em cães, no entanto à semelhança do que acontece em humanos, foram identificadas alterações no electrocardiograma (ECG) de cães sugerindo que a lesão miocárdica também pode ocorrer nesta espécie (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

A falha reprodutiva, após infecção por leptospira, também pode ocorrer e esta deve ser considerada como um diagnóstico diferencial em casos de aborto e mortalidade perinatal (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

Em estudos reportados recentemente, alguns cães infectados com *L. Australis* desenvolveram intussuscepção intestinal, tendo esta sido atribuída aos efeitos directos da infecção leptospiral na parede do intestino ou a uma motilidade intestinal anormal associada ao síndrome urémico (Gaschen, 2007).

#### 2.7.1.1 Síndrome Hemorrágica Pulmonar semelhante a SHPL humana

O cão parece manifestar semelhanças em relação à SHPL característica dos humanos (Francey, 2010).

Embora a hemorragia pulmonar severa não tenha sido reportada em infecções naturais por leptospira, em estudos experimentais a presença de hemorragia pulmonar aguda foi detectada em alguns animais em associação com nefrite e degeneração tubular (Greenlee, Alt, Bolin, Zuerner, & Andreasen, 2005).

Animais que apresentam esta síndrome sofrem de uma manifestação de leptospirose muito aguda. Normalmente é acompanhada de insuficiência respiratória grave, que pode ser fatal, causada por hemorragia intra-alveolar e intersticial (Francey, 2010).

Uma avaliação prospectiva desta síndrome sugeriu uma prevalência alta, com mais de 80% dos cães afectados clinicamente ou radiologicamente na data de apresentação no

hospital (Francey, 2010). Neste mesmo estudo, a IRA deixou de ser o factor limitante da recuperação dos animais, uma vez que 40% dos casos foram eutanasiados por falência respiratória.

O mecanismo responsável por esta síndrome é pouco conhecido e algumas das hipóteses propostas são, lesão vascular devido a toxinas leptospirais, mecanismos imunes e CIVD (Greenlee, Alt, Bolin, Zuerner, & Andreasen, 2005).

Greenlee *et al.* reportou um outro estudo, em 15 cães na área de Berlim, em que existiu a tentativa de identificar leptospiras no pulmão dos animais acometidos pela doença (Greenlee, Alt, Bolin, Zuerner, & Andreasen, 2005). Todos os animais foram submetidos a necrópsia e vários testes de pesquisa de antígenos, sendo que a maioria dos testes falhou na identificação de leptospiras ou antígenos leptospirais. No entanto, a necrópsia e histopatologia revelaram alguns achados interessantes e a utilização de Reacção em cadeia pela Polimerase – ‘Polymerase Chain Reaction’ (PCR) identificou genes correspondentes a antígenos leptospirais no pulmão de 3 cães.

## 2.7.2 Patologia Clínica

A patologia clínica dos animais com leptospirose apresenta algumas alterações, sendo de extrema importância no auxílio do diagnóstico da doença.

### 2.7.2.1 Hematologia

O hemograma pode apresentar leucopenia (fase hiperaguda), leucocitose, neutrofilia (por vezes com desvio à esquerda) e linfopenia. A anemia presente, na maior parte das vezes, é não-regenerativa de intensidade leve a moderada. Pode ocorrer anemia grave, devido a hemorragia gastrointestinal ou pulmonar, mas é deveras raro. Ao contrário da hemólise provocada por leptospirose em gado, esta não parece acontecer em cães. O achado mais comum é a trombocitopenia, presente em mais de 58% dos cães com a doença, que quando apresentada em conjunto com IRA ou lesão hepática aumenta a suspeita de leptospirose (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

### 2.7.2.2 Parâmetros bioquímicos renais

O aumento nas concentrações de ureia e creatinina séricas pode ocorrer em mais de 80-90% dos cães, no entanto um estudo europeu demonstrou que o aumento da concentração de creatinina sérica só estava presente em 57% dos animais (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

#### 2.7.2.3 Parâmetros bioquímicos hepáticos

A lesão hepática pode manifestar-se através de aumentos séricos de algumas enzimas como a Alanina transaminase (ALT), Aspartato transaminase (AST) e Fosfatase Alcalina (ALP), bem como da concentração de bilirrubina total. O aumento da actividade de ALP sérica e da concentração de bilirrubina total são mais comuns que o aumento da actividade de ALT sérica isolada. Pode existir hipoalbuminemia, mais provavelmente devido às perdas do que a problemas de síntese pelo fígado.

#### 2.7.2.4 Electrólitos

As leptospirosas são indutoras de insuficiência renal não-oligúrica hipocaliémica, em humanos, em consequência de uma reabsorção tubular de sódio deficiente. Pensa-se que o mesmo pode acontecer em cães (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

As alterações electrolíticas podem resultar de perdas renais e gastrointestinais e na maior parte dos casos ocorre hiponatremia, hipocloridemia, hipocaliemia marcada e hiperfosfatemia. Animais que apresentem oligúria ou anúria podem, pelo contrário, manifestar hipercaliemia (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

#### 2.7.2.5 Urianálise

A urina de cães com leptospirose normalmente apresenta-se isostenúrica, com valores menores que 1.030, sendo que por vezes pode ocorrer hipostenúria. Pode detectar-se ainda glicosúria, proteinúria, bilirrubinúria, hematuria, piúria e cilindrúria (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

#### 2.7.2.6 Provas de Coagulação

As provas de coagulação em cães mostram aumentos variáveis no fibrinogénio, dímero-D e outros produtos de degradação do fibrinogénio. Concomitantemente, pode existir diminuição da actividade da antitrombina (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

Em cerca de 6-50% de cães testados, detectou-se prolongamento do Tempo de Protrombina (TP) ou do Tempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa), sendo mais prevalente em cães do oeste da Europa. No entanto, também pode ocorrer uma diminuição do TP, devido a uma possível CIVD (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

#### 2.7.2.7 Outros

Podem estar presentes outras alterações ao nível da patologia clínica - mais raras - e mas não menos relevantes como, o aumento da actividade da creatinina quinase sérica, possivelmente devido a miosite, e o aumento das concentrações séricas de troponinas, sugerindo lesão miocárdica (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

### 2.7.3 Imagiologia

Recorrer à imagiologia como exame complementar de diagnóstico pode ser útil, quer para aumentar a suspeita da doença ou para ajudar a eliminar outros diagnósticos diferenciais. Infelizmente, em relação à leptospirose, não existem achados típicos confirmativos da doença, apenas achados que suportem a suspeita desta em conjunto com a anamnese, sinais clínicos e patologia clínica.

#### 2.7.3.1 Radiografia

Nos estudos radiográficos do tórax de cães com leptospirose pode-se observar a presença de um padrão pulmonar intersticial a alveolar difuso, consoante a gravidade dos casos (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011). Estes achados à radiografia pulmonar são mais frequentemente observados nos lobos pulmonares caudodorsais (Gaschen, 2007).

Pode observar-se ainda, na radiografia, a presença de renomegalia (Gaschen, 2007).

#### 2.7.3.2 Ultrassonografia abdominal

Na ultrassonografia abdominal não existem alterações patognomónicas de leptospirose, no entanto podem estar presentes alterações ao nível do fígado (hepatomegalia), rim (renomegalia, ecogenicidade do córtex aumentada, halo hiperecogénico na medular, fluído perirenal, pielectasia moderada), aumento e/ou hipoecogenicidade do pâncreas, espessamento da parede gástrica e intestinal, esplénomegalia com ecotextura de 'roedura de traça' e linfadenomegalia abdominal ligeira (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011) (Gaschen, 2007).

### 2.7.4 Histopatologia

A histopatologia é uma ferramenta muito útil no diagnóstico da leptospirose, uma vez que as lesões encontradas são muito típicas da doença e consegue-se muitas vezes,

recorrendo à coloração específica (impregnação por prata), observar a presença da bactéria nos tecidos. Por ser uma técnica maioritariamente executada *post-mortem*, acaba por não ser tão útil no decorrer da doença no animal vivo.

#### 2.7.4.1 Lesões macroscópicas

Na fase aguda, podem ser encontradas petéquias na pleura, peritoneu, mucosa oral e nasal e nos rins. Podendo ocorrer hemorragias e edema em outros órgãos como no miocárdio, bexiga, adrenais, pâncreas, vesícula biliar e pulmão (Figura 13), neste último as hemorragias na superfície pleural podem variar desde pequenas hemorragias esféricas ocupando a superfície total, até hemorragias de maior extensão (Jones, Hunt, & King, 1997).



**Figura 13: Hemorragia pulmonar difusa de um cão com leptospirose (Klopfleisch, et al., 2010).**

Na mucosa gástrica, podem encontrar-se hemorragias difusas, especialmente na porção correspondente ao fundo do estômago e, no intestino podem ocorrer petéquias na mucosa e serosa, não sendo da mesma severidade da hemorragia gástrica (Jones, Hunt, & King, 1997).

Podem ser identificados focos de necrose no parênquima hepático (Figura 14) e, embora exista retenção de biliar pela acumulação desta nos canalículos biliares, os ductos biliares encontram-se sem conteúdo. Os linfonodos e baço, normalmente estão muito aumentados podendo conter áreas edemaciadas e hemorrágicas (Jones, Hunt, & King, 1997).



**Figura 14:** Fígado de um cão com leptospirose revelando necrose hepática multifocal associada com a aparência 'comida pelas traças' do órgão (Noel & Latimer, 2000).

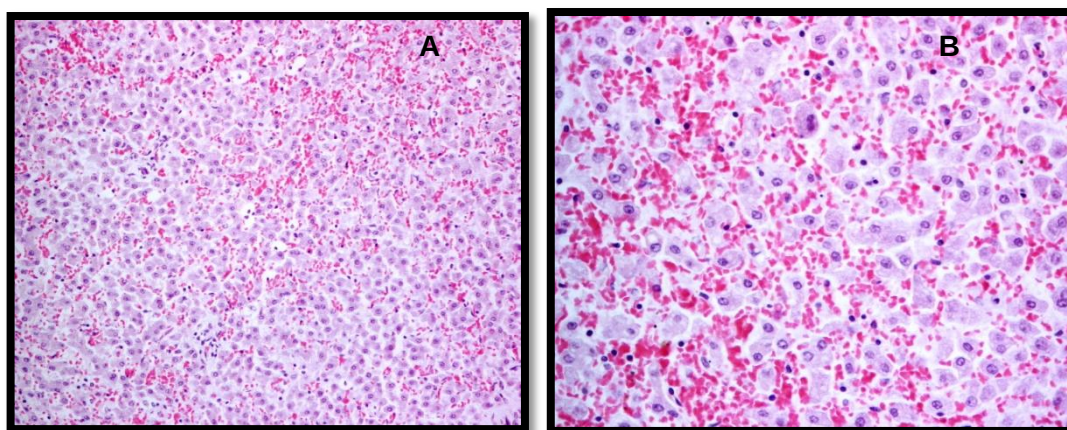
Na fase imune, as lesões renais são as mais evidentes. Os rins encontram-se hipertrofiados e a cápsula renal apresenta-se tensa e com coloração acinzentada a branca, podendo mostrar áreas hemorrágicas. Ao corte, o parênquima renal apresenta uma resistência aumentada, mas as principais alterações encontram-se na junção cortico-medular. Nesta junção, o parênquima renal normal encontra-se substituído por massas de tecido firme com coloração cinzenta (Figura 15). Este tecido pode formar apenas uma banda na margem interior do córtex renal ou pode obliterar a maior parte do córtex (Jones, Hunt, & King, 1997).



**Figura 15:** Rim de um cão com leptospirose com uma aparência pontuada do parênquima, indicando a presença de nefrite intersticial multifocal e necrose tubular (Noel & Latimer, 2000).

#### 2.7.4.2 Lesões microscópicas

Na fase aguda, o fígado exhibe alterações microscópicas características, sendo a mais importante aquela que ocorre nas suas células. Os hepatócitos diminuem o seu tamanho e dissociam-se uns dos outros (Figura 16), levando ao desmembramento das colunas típicas encontradas na histologia hepática. Esta individualização dos hepatócitos não é patognomónica de leptospirose, mas é um dos achados mais consistentes da doença (Jones, Hunt, & King, 1997).

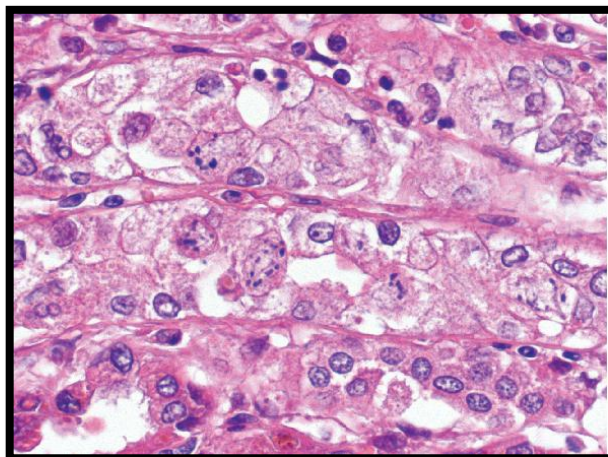


**Figura 16: Dissociação hepatocitária, ampliação de 200x (A) e 400x (B). Cortesia da Professora Doutora Justina Oliveira, UTAD.**

As células de Kupfer podem conter grandes quantidades de hemossiderina e os vasos portais apresentam-se congestionados. Recorrendo à técnica de impregnação de prata, podem observar-se leptospiros, dentro dos hepatócitos e nos sinusóides hepáticos (Jones, Hunt, & King, 1997).

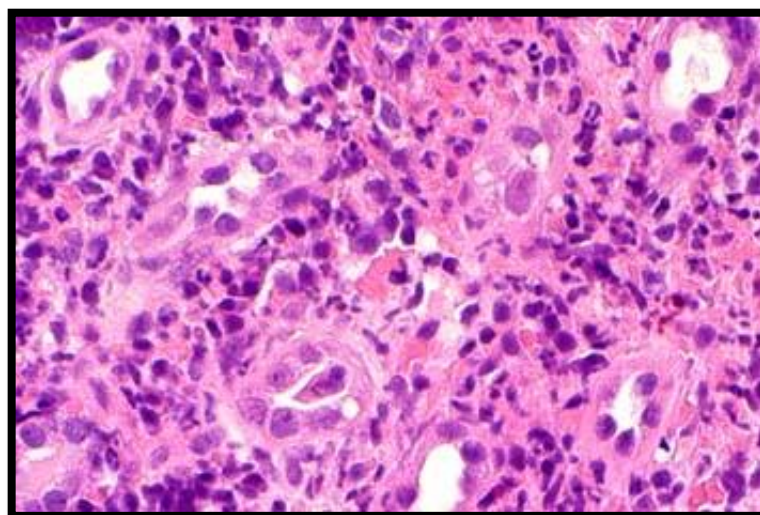
No tecido renal podemos observar algumas lesões, especialmente ao nível dos túbulos contornados. As células epiteliais dos túbulos contornados podem apresentar-se túrgidas, granulares, vacuolares, extremamente eosinofílicas, podendo descamar para o lúmen (Figura 17). A descamação pode ser tão severa que, por vezes, apenas resta a membrana basal do túbulo contornado. Os túbulos afectados encontram-se rodeados dum infiltrado linfoplasmocitário e congestão. Pela mesma técnica utilizada no fígado, pode demonstrar-se a presença de leptospiros no túbulos renais (Jones, Hunt, & King, 1997).

Nos linfonodos e baço encontra-se um aumento de células reticulares e uma diminuição marcada de linfócitos maduros (Jones, Hunt, & King, 1997).



**Figura 17:** Necrose tubular renal aguda de um cão com leptospirose, corado com hematoxilina-eosina (Klopfleisch, et al., 2010)

Na fase imune, as lesões microscópicas mais importantes são renais e correspondem à manifestação macroscópica previamente descrita. As massas de tecido firme localizadas na junção cortico-medular correspondem, microscopicamente, a túbulos contornados em degeneração. Estes tubulos encontram-se rodeados ou substituídos por massas celulares densas compostas por linfócitos, plasmócitos, macrófagos, neutrófilos e eritrócitos (Figura 18). Apesar destas lesões graves nos túbulos contornados, os glomérulos não apresentam alterações, a não ser secundariamente por continuidade (Jones, Hunt, & King, 1997).



**Figura 18:** Rim de um cão com leptospirose demonstrando a presença de um infiltrado purulolinfoplasmocítico associado a nefrite intersticial, corado com hematoxilina-eosina (Noel & Latimer, 2000).

### 2.7.5 Tratamento

O tratamento de um cão com leptospirose consiste em duas componentes principais, a terapia de suporte e a terapia específica (Harkin, 2008), que neste caso será antimicrobiana.

É importante referir que, na leptospirose, a antibioterapia passa por duas fases. A primeira durante a fase aguda da doença, cujo objectivo é eliminar a leptospiremia. A segunda administrada durante a convalescença, que pretende evitar a fase de colonização renal pelas leptospiras, contribuindo para que o animal não se torne um disseminador da doença através da sua urina.

Tradicionalmente, as penicilinas ou a doxiciclina foram os antimicrobianos de eleição para o tratamento da leptospirose em humanos e cães (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011). O tratamento predefinido no passado consistia em, terapia com penicilina durante 2 semanas, seguida de terapia com dihidrostreptomicina por 2 semanas, para eliminar a fase leptospirurica (Harkin, 2008).

O uso de fluoroquinolonas tem sido alvo de controvérsia, sendo que são necessárias doses altas para uma eficácia semelhante à da doxiciclina. Um estudo, em hamsters, que utilizou o PCR como método de detecção leptospiral demonstrou que a ofloxacina não eliminou as leptospiras do rim e sangue, a ampicilina não eliminou os organismos do rim, mas a doxiciclina eliminou a bactéria de ambos os sítios (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

O consenso do *American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM)*, editado em 2011, recomenda o seguinte protocolo para o tratamento da leptospirose canina:

- Fase aguda: doxiciclina (5 mg/kg), por via oral (PO) ou intravenosa (IV), cada 12 horas (BID), durante 2 semanas. Caso exista reacção adversa à doxiciclina, esta deve ser substituída por ampicilina (20 mg/kg), IV, cada 6 horas (QID), sendo a dose reduzida em animais azotemicos; ou por penicilina G (25,000- 40,000 U.I./kg), IV, BID – ambas durante 2 semanas;

- Fase imune: doxiciclina (5 mg/kg), PO, BID, durante mais 2 semanas após os sinais gastrointestinais cessarem, para se conseguir assegurar a eliminação da infecção renal (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

A terapia de suporte depende do estado fisiológico em que o animal se encontra, e que é variável, de acordo com a apresentação de cada caso. Animais que se encontrem em

insuficiência renal aguda devem receber fluidoterapia adequada à reposição das perdas de fluidos e electrólitos. O suporte nutricional também assume um papel bastante importante. A hemodiálise tem sido utilizada com sucesso, especialmente em animais com oligúria ou anúria. Mais de 80% dos pacientes com leptospirose, que morreriam devido às consequências da urémia, sobrevivem quando submetidos a diálise (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

A terapia corticosteróide pode ser indicada em casos em que a trombocitopenia é muito grave ou em casos em que os valores de creatinina aumentam por mais de 10 dias consecutivos apesar da correcta fluidoterapia e com existência de poliúria (Harkin, 2008).

Animais com LPHS requerem uma maior atenção, podendo necessitar de oxigenoterapia ou mesmo, ventilação mecânica (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011). O desafio primário consiste em evitar uma taxa agressiva de fluidos, que possa levar a complicações pulmonares e, ao mesmo tempo tentar com que essa taxa consiga cobrir a necessidade renal (Francey, 2010).

## 2.8 Epidemiologia da leptospirose canina

Em cães, nos E.U.A., a maioria dos casos ocorrem entre Julho e Novembro. A associação com a existência de chuvas prévias também está presente. Existe alguma predisposição em machos, de 4-10 anos de idade e de raça média-grande (Gaschen, 2007).

Esta predisposição não é difícil de perceber, uma vez que a caracterização prévia corresponde à maioria dos animais que não possuem um estilo de vida exclusivamente *indoor*. Como tal animais que têm maior contacto com o exterior (cães pastor, cães de caça) são mais susceptíveis à infecção, quer pelo contacto com material infectado ou mesmo com os próprios HM não domésticos. Pelo mesmo motivo, animais que vivem em áreas suburbanas ou rurais possuem a mesma susceptibilidade (Gaschen, 2007).

Historicamente, os serovares Canicola e Icterohaemorrhagiae eram os serovares mais implicados no desenvolvimento da leptospirose canina, o que levou à inclusão destes na vacina para utilização em cães (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

A introdução e disponibilidade de vacinas bivalentes (*L. Canicola* e *L. Icterohaemorrhagiae*), há cerca de 40 anos atrás, tiveram um efeito minimizador drástico no número de cães com leptospirose (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

No entanto, tem sido observado, na última década, um aumento exponencial do número de casos em cães – primeiro nos E.U.A. seguindo-se a Europa. Este aumento está associado a uma emergência de serovares não habituais, e não presentes nas vacinas bivalentes (*L. Bratislava*, *L. Pomona*, *L. Grippotyphosa*, *L. Australis*) (Francey, 2010).

O acréscimo de casos está associado a vários factores: falta de protecção vacinal, alterações climáticas, facilidade de viagens de longo curso, aumento da popularidade de desportos aquáticos, expansão do habitat dos humanos e, consequentemente, dos seus animais de estimação (Francey, 2010).

Até mesmo o ambiente urbano está a sofrer alterações e estudos recentes comprovam uma prevalência alta de infecção em pequenos roedores na cidade de Zurique, Suíça, e uma grande seroprevalência em javalis urbanos instalados em Berlim, Alemanha (Adler, Vonstein, Deplazes, Stieger, & Frei, 2002) (Jansen, et al., 2007).

A distribuição mundial dos diferentes serovares de *L. interrogans sensu lato* pode estar relacionada com a disponibilidade de HM, por esta razão é plausível que os serovares predominantes identificados nos HA variem de acordo com a localização geográfica (Burr, Lunn, & Yam, 2009).

Nos países Europeus como a França, Alemanha e Suíça têm sido reportados vários casos em animais, começando a reflectir o aumento da doença nos países desenvolvidos. A maioria dos animais tinha o plano vacinal actualizado e cumprido, de acordo com os protocolos recomendados, e mais de metade terá contraído a infecção num intervalo entre vacinações inferior a 6 meses. Os serovares identificados parecem variar com a localização geográfica, mas a maior parte possuía seroconversão para *L. Australis* e *L. Bratislava*, seguida de *L. Grippotyphosa*, *L. Pomona* e *L. Autumnalis* (Francey, 2010).

A grande maioria da informação relacionada com leptospirose em cães é baseada em estudos de seroprevalência utilizando o Teste de Aglutinação Microscópica (MAT). A situação epidemiológica parece variar na Europa, mas os serogrupos a que os cães se encontram mais expostos são *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa*, *Australis*, *Sejroe* e *Canicola* (Ellis, 2010).

### 2.8.1 Distribuição dos serovares no continente europeu

Como já foi apontado, os serovares predominantes da doença variam, em cada localização geográfica, de acordo com os HM existentes. Alguns dos serovares mais

comuns em alguns países europeus são agora descritos, com informação epidemiológica bastante relevante para a percepção da doença no panorama actual.

a) Icterohaemorrhagiae

O serogrupo Icterohaemorrhagiae - que contém os serovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni - continua a ser um dos mais prevalentes causadores de infecção por *Leptospira* em cães na Europa, com estudos relativamente recentes efectuados na Alemanha, Croácia, Dinamarca, França, Roménia, Grécia e Itália. Continua a ser, também, a causa mais reconhecida da doença. Devido aos sinais clínicos extremamente severos e à ubiquidade do seu HM, este serovar deve continuar a ser inserido nas vacinas actuais (Ellis, 2010).

b) Canicola

Este serovar tem como único HM conhecido, o cão. Embora seja consensual que a prevalência para este serovar está a sofrer um decréscimo em muitos países europeus, muito possivelmente devido à vacinação, existem ainda muitas evidências serológicas da exposição em cães – 18% na Roménia e 21% na Polónia. Embora raros e pouco reportados, alguns casos clínicos ainda existem. Mesmo com um decréscimo acentuado, a vacinação com este serovar não deve ser suspensa, sob a possibilidade de poder existir um aumento de prevalência acentuado, por decréscimo da imunidade da população canina, após cessação de vacina no HM (Ellis, 2010).

c) Grippotyphosa

Este serovar é mantido na Europa por um número de espécies de pequenos roedores: o rato silvestre ou rato camponês (*Microtus arvalis* e *Microtus oeconomus*); o rato almiscarado (*Ondatra zibethicus*) e o hamster comum (*Cricetus cricetus*). Embora alguns estudos serológicos executados na República Checa e na Eslováquia sugiram que outras espécies de roedores também podem ser HM deste serovar em algumas regiões, como o rato da madeira (*Apodemus sylvaticus*) e o rato de pescoço amarelo (*Apodemus flavicollis*). A ocorrência deste serovar em cães é severamente influenciada pela presença destes HM, sendo que os estudos de seroprevalência têm indicado uma frequente exposição a este serovar numa grande parte de países europeus, especialmente na Alemanha, República Checa, Eslováquia, Polónia, Croácia, Suíça e Itália. Esta prevalência é denotada, maioritariamente em cães provenientes de ambientes rurais, revelando uma maior possibilidade de contacto com o HM. Este serovar representa uma das maiores causas de leptospirose clínica em cães na Alemanha e existem várias evidências que suportam a

inclusão do serovar *Grippotyphosa* na vacinação canina na Europa central. Em relação ao Reino Unido, este serovar foi reportado poucas vezes, em roedores e em cabras selvagens e dado isto, será difícil a recomendação da inclusão do serovar em vacinas caninas no Reino Unido, especialmente em cães que permaneçam sempre no país (Ellis, 2010).

#### d) Bratislava

Existem quatro serovares, intimamente relacionados (geneticamente e fenotipicamente), pertencentes ao serogrupo *Australis* que podemos encontrar na Europa – Bratislava, Lora, Jalna e Muenchen. Sendo que o serovar Bratislava é o mais utilizado no MAT para representar o serogrupo *Australis*, devido ao seu comum isolamento de animais domésticos e a estirpe mais comumente isolada de cães. Como os outros serovares são muito relacionados, apenas se têm em conta o serovar Bratislava, pois algum problema de controlo em relação aos restantes serovares será colmatado com o controlo do serovar Bratislava. Os estudos de seroprevalência, desde há 20 anos atrás, indicam uma grande exposição dos cães a este serovar na Europa. Existe uma grande quantidade de HM reportados para este serovar como ouriços, porcos e cavalos. Também é provável que o cão aja como HM, devido à elevada seroprevalência encontrada em populações que não têm acesso aos HM reportados, os níveis baixos de anticorpos encontrados em animais hospedeiros e à habilidade do organismo persistir no rim dos cães hospedeiros por um período mínimo de 3 meses e no tracto genital de cadelas. Em Itália tem sido reportada doença clínica aguda associada a este serovar. A doença clínica é mais provável de aparecer quando um grande número de animais é mantido junto, em locais de criação/reprodução, locais de experimentação ou canis - no entanto, dada a prevalência, também se torna considerável a introdução do serovar Bratislava nas vacinas caninas europeias (Ellis, 2010).

#### e) Pomona

A epidemiologia do serovar Pomona é ainda pouco conhecida. No passado, o serovar foi isolado de animais de produção na Suíça, Itália, Hungria e Bulgária; e o seu isolamento em cães foi reportado na Hungria e Croácia. Alguns estudos em cães, na Alemanha, indicam níveis de exposição muito baixos e nenhuma evidência de infecção por este serovar foi encontrada na Itália e na França. Na Roménia, a seroprevalência é mais alta em animais vadios. O único estudo recente reportado, de doença clínica em cães devido a este serovar, foi na Bélgica (Ellis, 2010).

#### f) Sejroe

A seroprevalência para o serogrupo Sejroe tem sido reportada em alguns países. O serogrupo Sejroe engloba os serovares Sejroe, Hardjo e Saxkoebing e a seroconversão tem sido atribuída à exposição a HM como, pequenos roedores - Sejroe e Saxkoebing- e gado - Hardjo (Ellis, 2010). Os estudos efectuados até agora em cães são insuficientes para determinar a necessidade da inclusão destes serovares na vacinação canina europeia.

### 2.8.2 Leptospirose canina em Portugal

A leptospirose canina em Portugal está reconhecida há algum tempo, tendo sido descrita em 1942, em Lisboa (Azevedo, 1942).

Posteriormente, um estudo serológico, conduzido por Collares-Pereira permitiu obter algumas conclusões (Collares-Pereira, 1992). O estudo foi executado na região do Alto Douro em cerca de 700 cães e revelou uma percentagem de 31.1% de positividade, considerando positivos títulos  $\geq 1:100$ . Uma percentagem alta de soros apresentava títulos altos, com valores  $\geq 1:800$ . Da percentagem positiva, a maioria exibia títulos para o serovar Canicola (66.2%), no entanto outros serovares que contribuíram para a positividade da população foram os serovares Sejroe, Autumnalis, Pyrogenes, Grippotyphosa, Ballum, Copenhageni, Bratislava, Hebdomadis e Tarassovi. Os cães eram animais habitantes de zonas rurais e não eram vacinados, não obstante, concluiu-se que a leptospirose nessa região possuía um papel importante.

A vacinação contra a leptospirose canina está disponível em Portugal, possuindo na sua constituição dois serovares: Canicola e Icterohaemorrhagiae.

## CAPÍTULO II – DESCRIÇÃO DE CASOS CLÍNICOS DE LEPTOSPIROSE CANINA NO CONCELHO DE BEJA

### 1.1 Objectivo

Este capítulo tem como objectivo descrever pormenorizadamente, os casos clínicos de nove canídeos com leptospirose. Após a descrição aprofundada dos casos, o objectivo será a compreensão e identificação de factores comuns entre eles, bem como a sua possível implicação no desenvolvimento e evolução da doença.

### 1.2 Materiais e Métodos

Todos os animais foram recebidos no Hospital Veterinário do Baixo Alentejo (HVBA), no período de Setembro de 2010 a Março de 2011 (inclusive).

Os casos clínicos apresentados representam todos os animais com diagnóstico confirmado de leptospirose, tendo existido no mesmo período outros casos suspeitos, mas cuja confirmação do diagnóstico não foi possível e, por conseguinte não se encontram aqui documentados. O estudo incluiu 9 animais (7 machos e 2 fêmeas), a maioria com idade inferior a 4 anos, com acesso e permanência no exterior e maioritariamente, não vacinados.

Todos os animais tiveram o diagnóstico de leptospirose confirmado através do método serológico MAT, recorrendo sempre ao mesmo laboratório.

Outros critérios de inclusão/exclusão do estudo não foram adoptados, uma vez que todos os casos de leptospirose confirmados neste período de tempo, examinados pelos clínicos do HVBA, vão ser aqui relatados.

### 1.3 Casos Clínicos

#### 1.3.1 ‘Kaskai’

O ‘Kaskai’, canídeo macho inteiro, de 28.300 Kg, de raça Perdigueiro, 3 anos de idade. Habitat *outdoor*, cão de caça. Estado vacinal desactualizado.

O 'Kaskai' apresentou-se à consulta no HVBA, dia 25 de Setembro de 2010. O proprietário referiu um passeio de longa duração na semana anterior à consulta, sendo que no dia seguinte ao passeio achou-o menos energético e observou-o a beber água estagnada. Foi-lhe administrado, pelos proprietários, 1 comprimido de paracetamol de dosagem 1 grama, 3 dias após o passeio. No dia seguinte, o proprietário reparou que a urina do 'Kaskai' apresentava uma coloração rosada, e consultou o veterinário habitual, o qual elaborou o diagnóstico presuntivo de 'febre da carraça' e prescreveu tratamento com doxiciclina (ACTIDOX® 100, Saninter), 5 mg/kg, por via oral (PO), de 12 em 12 horas (BID), durante 3 semanas. Apresentou-se à consulta no HVBA, porque os proprietários notaram que não ladrava e que estava rouco, pareceu-lhes também observar algumas contracções abdominais com dor.

Ao exame físico, apresentava uma temperatura de 39,2°C. Todo o exame físico estava normal, à excepção de adenomegalia dos linfonodos retrofaríngeos. A dor abdominal referida pelos proprietários não se evidenciou aquando da palpação abdominal.

Como exames complementares, foram efectuados um hemograma e um painel de análises bioquímicas séricas (Tabela 4).

**Tabela 4: Hemograma e Bioquímicas do 'Kaskai', 25/09/2010**

| <b>Hemograma</b>            | <b>Valor</b> | <b>Valores Referência</b> | <b>Unidades</b>      |
|-----------------------------|--------------|---------------------------|----------------------|
| Leucócitos                  | 31.4         | 6.0-17.0                  | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Linfócitos                  | 6.8          | 1.2-5.0                   | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Granulócitos                | 19.1         | 3.5-12.0                  | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Relação N:L                 | 5.5          | 0.3-1.0                   | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Hematócrito                 | 33.4         | 37.0-55.0                 | %                    |
| VCM                         | 64.4         | 56.0-75.0                 |                      |
| Eritrócitos                 | 5.18         | 5.50-8.50                 | x10 <sup>6</sup> /mm |
| Hemoglobina                 | 10.4         | 12.0-18.0                 | g/dl                 |
| CHM                         | 20.0         | 19.5-24.5                 | pg                   |
| CHCM                        | 31.1         | 33.0-38.0                 | g/dl                 |
| RDW%                        | 10.2         | 12.0-16.0                 | %                    |
| RDWa                        | 41.9         | 1.0-199.9                 |                      |
| Plaquetas                   | 127          | 200-500                   | x10 <sup>3</sup> /mm |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |              |                           |                      |
| Albumina                    | 2.5          | 2.70-3.80                 | g/dl                 |
| ALT                         | 56           | 10-100                    | U/L                  |
| BUN                         | 33           | 7.0-27.0                  | mg/dl                |
| Creatinina                  | 2            | 0.50-1.80                 | mg/dl                |
| Fosfatase Alcalina          | 275          | 23-212                    | U/L                  |

O hemograma demonstrou a presença de leucocitose maioritariamente neutrofílica, anemia normocítica e hipocrómica ligeira, trombocitopenia. As bioquímicas séricas

evidenciaram algum grau de azotemia bem como um aumento da concentração sérica das enzimas hepáticas.

Após os exames, foram considerados os diagnósticos diferenciais de Babesiose, Erliquiose e Leptospirose, tendo sido enviadas amostras para o laboratório externo, para confirmação serológica.

Foi-lhe administrada uma dose injectável de dipropionato de imidocarb (IMIZOL®, Schering-Plough Animal Health) de 6,6 mg/kg, por via sub-cutânea (SC). Enquanto aguardou o resultado das análises continuou com a medicação prescrita anteriormente à qual se adicionou um suplemento fortificante (Anima-Strath®, Bio-Strath AG), 1 colher de chá, de 24 em 24 horas (SID).

No dia 30/09/2010 (5 dias mais tarde), os resultados das análises foram conhecidos, sendo negativos para *Ehrlichia* e positivos para *Leptospira*, com títulos de 1:1600 para o serovar Grippotyphosa e 1:800 para o serovar Bratislava. A análise serológica encontra-se em anexo (Anexo 1 – 1.1).

Retornou ao HVBA dia 2/10/2010, e foi cessada a administração de doxiciclina, sendo prescrita a penicilina G (Peni-kél LA®, Zoopan), 30 000 U.I., por via intra-muscular (IM), BID, durante 15 dias.

O 'Kaskai' apresentou-se à consulta após 21 dias (23/10/2010) na qual os proprietários referiram a ausência de sintomas quer de prostração, quer de alterações urinárias.

Ao exame físico todos os achados eram normais, no entanto perdeu um pouco de peso apresentando-se com 27 kg.

Realizou-se novo hemograma e painel de bioquímicas séricas para avaliar a evolução (Tabela 5).

**Tabela 5: Hemograma e Bioquímicas do 'Kaskai', 23/10/2010**

| Hemograma    | Valor | Valores Referência | Unidades                |
|--------------|-------|--------------------|-------------------------|
| Leucócitos   | 10.1  | 6.0-17.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Linfócitos   | 1.9   | 1.2-5.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Granulócitos | 7.2   | 3.5-12.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Relação N:L  | 1     | 0.3-1.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Hematócrito  | 40.7  | 37.0-55.0          | %                       |
| VCM          | 66.5  | 56.0-75.0          |                         |
| Eritrócitos  | 6.11  | 5.50-8.50          | $\times 10^6/\text{mm}$ |

| Hemograma                   | Valor | Valores Referência | Unidades             |
|-----------------------------|-------|--------------------|----------------------|
| Hemoglobina                 | 12.3  | 12.0-18.0          | g/dl                 |
| CHM                         | 20.1  | 19.5-24.5          | pg                   |
| CHCM                        | 30.2  | 33.0-38.0          | g/dl                 |
| RDW%                        | 14.6  | 12.0-16.0          | %                    |
| RDWa                        | 49.6  | 1.0-199.9          |                      |
| Plaquetas                   | 320   | 200-500            | x10 <sup>3</sup> /mm |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |       |                    |                      |
| Albumina                    | 3.1   | 2.70-3.80          | g/dl                 |
| ALT                         | 58    | 10-100             | U/L                  |
| BUN                         | 18    | 7.0-27.0           | mg/dl                |
| Creatinina                  | 1.2   | 0.50-1.80          | mg/dl                |
| Glucose                     | 101   | 77-125             | mg/dl                |

Os valores do hemograma e das bioquímicas normalizaram, no entanto ainda foi administrada uma segunda dose de dipropionato de imidocarb (6,6 mg/kg, por via SC), pois embora a serologia tivesse sido positiva para *Leptospira* acabou por não se descartar a Babesiose, uma vez que não foi enviada amostra para pesquisa de anti-corpos anti-*Babesia*. Teve alta médica.

### 1.3.2 'Óscar'

O 'Óscar', canídeo macho inteiro, de 29.700 Kg, de raça Labrador Retriever, 7 anos de idade. Habitat *outdoor*, cão de companhia. Estado vacinal desatualizado (só tem vacinação contra a raiva e nunca foi vacinado contra outras doenças durante a sua vida).

O 'Óscar' apresentou-se no HVBA para consulta no dia 6 de Dezembro de 2010. Os proprietários referiram que é um cão extremamente activo, muito guloso e nunca está doente. Vive num monte, com constante acesso ao exterior e tem um coabitante (também canídeo) que está sempre com ele. Os proprietários afirmavam que o 'Óscar' apresentava anorexia há 3 dias e que estava prostrado. Quando questionado pelo veterinário, o proprietário referiu que tinha realizado um tratamento herbicida nas plantas e vegetais do monte, que o 'Óscar' tem por hábito comer (rabanetes, dióspiros) e, também revelou que existem ratos no monte, bem como veneno para estes mas que se encontra em local inacessível aos cães.

Ao exame físico, apresentava uma temperatura de 38.5 °C. Todo o exame físico estava normal, exceptuando uma icterícia muito ligeira da mucosa oral e conjuntival, bem como do pavilhão auricular. Encontrava-se animado e receptivo a estímulos (apesar de os proprietários referirem a prostração).

Foram realizados, como exames complementares, hemograma e painel de bioquímicas séricas. Estes exames complementares demonstraram leucocitose neutrofílica e trombocitopenia ligeira. Os valores dos parâmetros hepáticos estavam muito elevados bem como dos parâmetros renais, com aumento considerável (Tabela 6).

**Tabela 6: Hemograma e Bioquímicas do 'Óscar', 06/12/2010**

| <b>Hemograma</b>            | <b>Valor</b> | <b>Valores Referência</b> | <b>Unidades</b>         |
|-----------------------------|--------------|---------------------------|-------------------------|
| Leucócitos                  | 36.3         | 6.0-17.0                  | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Linfócitos                  | 8.8          | 1.2-5.0                   | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Granulócitos                | 19.4         | 3.5-12.0                  | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Relação N:L                 | 8.1          | 0.3-1.0                   | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Hematócrito                 | 43.4         | 37.0-55.0                 | %                       |
| VCM                         | 68.9         | 56.0-75.0                 |                         |
| Eritrócitos                 | 6.31         | 5.50-8.50                 | $\times 10^6/\text{mm}$ |
| Hemoglobina                 | 14.0         | 12.0-18.0                 | g/dl                    |
| CHM                         | 22.3         | 19.5-24.5                 | pg                      |
| CHCM                        | 32.4         | 33.0-38.0                 | g/dl                    |
| RDW%                        | 10.6         | 12.0-16.0                 | %                       |
| RDWa                        | 45.0         | 1.0-199.9                 |                         |
| Plaquetas                   | 167          | 200-500                   | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |              |                           |                         |
| Albumina                    | 2.8          | 2.70-3.80                 | g/dl                    |
| ALT                         | 465          | 10-100                    | U/L                     |
| BUN                         | 106          | 7.0-27.0                  | mg/dl                   |
| Creatinina                  | 4.4          | 0.50-1.80                 | mg/dl                   |
| Glucose                     | 95           | 77-125                    | mg/dl                   |
| Fosfatase Alcalina          | 1707         | 23-212                    | U/L                     |

Avaliados os exames complementares, os diagnósticos diferenciais a considerar foram ingestão de tóxicos e Leptospirose, tendo sido enviadas para laboratório externo, amostras para pesquisa serológica de *Leptospira*.

Optou-se pela hospitalização para administração de fluidoterapia intravenosa para combate da azotemia, para a administração de antibioterapia injectável e para observação da evolução do quadro clínico.

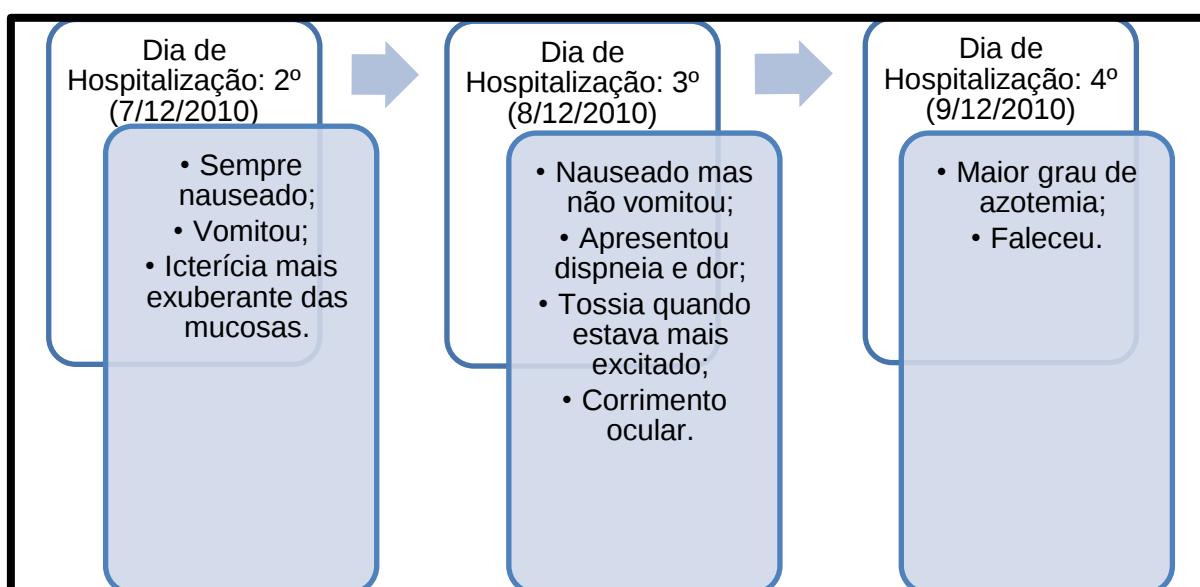
A terapêutica escolhida passou pela antibioterapia direccionada para o agente infeccioso suspeito, a *Leptospira* (penicilina G); e também pela terapia sintomática e preventiva (ranitidina e metoclopramida). Foram ainda utilizados um suplemento nutricional com efeito hepatoprotector (S-adenosilmetionina) e um aditivo adsorvente (Enterex®, Vetnil), para evitar a absorção de tóxicos pelo organismo em caso de intoxicação. A medicação prescrita e realizada aquando da hospitalização encontra-se descrita, pormenorizadamente, na tabela seguinte (Tabela 7).

**Tabela 7: Medicação administrada ao 'Óscar' durante a hospitalização**

| Medicação                                                               | Dose           | Via | Frequência |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------|-----|------------|
| Penicilina G (Duplocilina L.A., Intervet/Schering-Plough Animal Health) | 30 000 U.I./kg | IM  | BID        |
| Ranitidina (Bloculcer®, Labesfal)                                       | 2 mg/kg        | IM  | BID        |
| Metoclopramida (Metoclopramida, Labesfal)                               | 0,5 mg/kg      | SC  | BID        |
| S- adenosilmetionina (Denosyl® 425 mg, Nutramax)                        | 15 mg/kg       | PO  | SID        |

O 'Óscar' recebeu fluidoterapia, com NaCl 0,9 %, a uma taxa 3 vezes superior à sua taxa de manutenção<sup>2</sup>.

A evolução do 'Óscar' enquanto hospitalizado encontra-se esquematizada na figura seguinte (Ilustração 1).



**Ilustração 1: Evolução clínica do 'Óscar' durante a hospitalização**

Ao 3º dia de hospitalização (8/12/2010), foram acrescentados à medicação: tramadol (Tramadol, Labesfal) – 5 mg/kg, via IM, BID; butorfanol (Butador®, Richter pharma) – 0,2 mg/kg, via intra-venosa (IV), BID.

No dia seguinte (9/12/2010), foi recolhido sangue para nova avaliação de valores bioquímicos renais (Tabela 8).

**Tabela 8: Bioquímicas do 'Óscar', 09/12/2010**

| Parâmetro Bioquímico | Valor | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|-------|--------------------|----------|
| Albumina             | 2.2   | 2.70-3.80          | g/dl     |

<sup>2</sup> Taxa de manutenção (ml/h) = (Peso do animal x 30 + 70) / 24

| Parâmetro Bioquímico | Valor | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|-------|--------------------|----------|
| BUN                  | > 130 | 7.0-27.0           | mg/dl    |
| Creatinina           | 7.5   | 0.50-1.80          | mg/dl    |

As análises demonstraram uma azotemia mais acentuada, coincidindo com a pior apresentação clínica.

O 'Óscar' acabou por falecer nesse dia, ao início da tarde, apresentando uma hemorragia extensa em redor do corpo. Essa hemorragia provavelmente seria de origem pulmonar, tendo em conta a coloração do sangue (vermelho vivo) e a sintomatologia respiratória apresentada nos últimos dias de hospitalização.

As análises laboratoriais foram recebidas 5 dias após a morte (14/12/2010), confirmando o diagnóstico.

Os títulos de anticorpos leptospirais apresentados correspondiam a 1:1600 para o serovar Bratislava e 1:400 para o serovar Pomona. A análise serológica encontra-se em anexo (Anexo 1- 1.2).

### 1.3.3 'Kokki'

O 'Kokki', canídeo macho inteiro, de 18 Kg, cruzado de Beagle e Border Collie, 8 meses de idade. Habitat *outdoor*, cão de companhia. Estado vacinal actualizado.

Foi recebido, no HVBA, dia 21 de Dezembro de 2010. O 'Kokki' era proveniente da Holanda e os proprietários afirmavam que há um mês que apresentava dor abdominal e hipertermia. Tinha o hábito de comer azeitonas em grande quantidade. Já lhe tinham sido administrados antibiótico (sulfametoxazol-trimetoprim) e anti-inflamatório (meloxicam), prescritos por um veterinário conhecido dos proprietários.

Ao exame físico, exceptuando a hipertermia (40.3°C) e dor abdominal moderada, não foram observadas outras alterações dignas de registo.

Foi executado um painel de exames complementares, consistindo em hemograma e bioquímicas séricas (Tabela 9), sendo ainda realizadas uma urianálise (Tabela 10) e uma radiografia abdominal.

**Tabela 9: Hemograma e Bioquímicas do 'Kokki', 21/12/2010**

| Hemograma                   | Valor | Valores Referência | Unidades                |
|-----------------------------|-------|--------------------|-------------------------|
| Leucócitos                  | 18.3  | 6.0-17.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Linfócitos                  | 5.0   | 1.2-5.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Granulócitos                | 9.4   | 3.5-12.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Relação N:L                 | 3.9   | 0.3-1.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Hematócrito                 | 47.6  | 37.0-55.0          | %                       |
| VCM                         | 66.9  | 56.0-75.0          |                         |
| Eritrócitos                 | 7.10  | 5.50-8.50          | $\times 10^6/\text{mm}$ |
| Hemoglobina                 | 15.4  | 12.0-18.0          | g/dl                    |
| CHM                         | 21.7  | 19.5-24.5          | pg                      |
| CHCM                        | 32.4  | 33.0-38.0          | g/dl                    |
| RDW%                        | 11.2  | 12.0-16.0          | %                       |
| RDWa                        | 44.5  | 1.0-199.9          |                         |
| Plaquetas                   | 251   | 200-500            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |       |                    |                         |
| Albumina                    | 2.6   | 2.70-3.80          | g/dl                    |
| ALT                         | 20    | 10-100             | U/L                     |
| BUN                         | 6     | 7.0-27.0           | mg/dl                   |
| Fosfatase Alcalina          | 437   | 23-212             | U/L                     |

**Tabela 10: Urianálise do 'Kokki', 21/12/2010**

| Urianálise       | Valor                                                                                        |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Leucócitos       | Vestígios                                                                                    |
| Nitritos         | Negativo                                                                                     |
| Urobilinogénio   | Normal                                                                                       |
| Proteína         | 100                                                                                          |
| pH               | 6                                                                                            |
| Sangue           | Vestígios                                                                                    |
| Densidade        | 1.025                                                                                        |
| Bilirrubina      | +++                                                                                          |
| Corpos cetônicos | Negativo                                                                                     |
| Glucose          | Negativo                                                                                     |
| Sedimento        | Não se visualizaram cristais urinários, poucos eritrócitos (5 eritrócitos por campo de 100x) |

O painel de análises estava normal, à exceção de uma leucocitose ligeira e um aumento da concentração da fosfatase alcalina. Na urianálise era de salientar a bilirrubinúria. A radiografia abdominal não revelou alterações relevantes.

Avaliando os sinais clínicos juntamente com o exame físico e análises complementares, os diagnósticos diferenciais foram Babesiose e Leptospirose.

Foi recolhido sangue para envio ao laboratório externo, visando a pesquisa de anticorpos anti-*Babesia* e anti-*Leptospira*.

Enquanto aguardava o resultado da serologia, não se justificando a hospitalização, foi apenas prescrito tratamento sintomático ambulatorio, como se pode observar na tabela seguinte (Tabela 11).

**Tabela 11: Medicação prescrita ao 'Kokki'**

| Medicação                                | Dose      | Via | Frequência | Duração |
|------------------------------------------|-----------|-----|------------|---------|
| Lactulose (LAEVOLAC®, Ferraz Lynce S.A.) | 0,5 ml/kg | PO  | BID        | 3 dias  |
| Parafinina                               | 0,5 ml/kg | PO  | BID        | 3 dias  |
| Metronidazol (Flagyl® 250 mg, Pfizer)    | 14 mg/kg  | PO  | BID        | 7 dias  |
| Meloxicam 7,5 mg                         | 0,1 mg/kg | PO  | SID        | 5 dias  |

Após 8 dias da apresentação à consulta (29/12/2010), foram recebidas as análises da serologia de *Babesia* e *Leptospira*, apresentando um resultado serológico positivo para *Leptospira*. Os títulos mais altos correspondiam a anticorpos para os serovares Grippotyphosa e Bratislava (1:1600 e 1:800 respectivamente). A análise serológica encontra-se em anexo (Anexo 1 – 1.3).

O 'Kokki' retornou ao hospital no dia seguinte (30/12/2010), apresentando-se com boa condição física e sem alterações no exame físico.

Foi prescrito doxiciclina (ACTIDOX® 100, Saninter), 10 mg/kg, PO, SID durante 20 dias – para eliminar a fase renal da bactéria.

Embora tenha melhorado com a terapia sintomática, na qual não se incluía antibioterapia específica para a *Leptospira*, a análise serológica comprovou a infecção e, provavelmente a cronicidade da hipertermia era derivada desta.

#### 1.3.4 'Traquina'

A 'Traquina', canídeo, fêmea inteira, de 25,700 Kg, cruzada de Braco Alemão e Perdigueiro, 6 anos de idade. Habitat *outdoor*, cão de caça. Estado vacinal desatualizado (apenas tinha em dia a vacinação contra a raiva e não possuía no seu historial nenhuma vacina contra outras doenças).

Apresentou-se à consulta, dia 27 de Dezembro de 2010, por estar em anorexia há 4 dias. Os proprietários afirmaram que costumava comer ração e restos de comida, notaram as fezes escuras e com muco e que vomitava tudo o que comia ultimamente.

Ao exame físico, a temperatura era de 38.4°C. Todo o exame físico estava normal, à excepção de uma icterícia muito exuberante (Figura 19) das mucosas e da pele e, da presença de dor na palpação abdominal.



Figura 19: Fotografia da 'Traquina' evidenciando a icterícia marcada da mucosa conjuntival.

Foram efectuados exames complementares como o hemograma e bioquímicas séricas (Tabela 12).

Tabela 12: Hemograma e Bioquímicas da 'Traquina', 27/12/2010

| Hemograma                   | Valor | Valores Referência | Unidades                |
|-----------------------------|-------|--------------------|-------------------------|
| Leucócitos                  | 40.3  | 6.0-17.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Linfócitos                  | 15.9  | 1.2-5.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Granulócitos                | 13.2  | 3.5-12.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Relação N:L                 | 11.2  | 0.3-1.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Hematócrito                 | 44.7  | 37.0-55.0          | %                       |
| VCM                         | 70.8  | 56.0-75.0          |                         |
| Eritrócitos                 | 6.31  | 5.50-8.50          | $\times 10^6/\text{mm}$ |
| Hemoglobina                 | 14.1  | 12.0-18.0          | g/dl                    |
| CHM                         | 22.3  | 19.5-24.5          | pg                      |
| CHCM                        | 31.5  | 33.0-38.0          | g/dl                    |
| RDW%                        | 11.3  | 12.0-16.0          | %                       |
| RDWa                        | 47.9  | 1.0-199.9          |                         |
| Plaquetas                   | 212   | 200-500            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |       |                    |                         |
| Albumina                    | 2.8   | 2.70-3.80          | g/dl                    |
| ALT                         | 163   | 10-100             | U/L                     |

| Parâmetro Bioquímico | Valor | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|-------|--------------------|----------|
| BUN                  | >130  | 7.0-27.0           | mg/dl    |
| Creatinina           | 12.6  | 0.50-1.80          |          |
| Fosfatase Alcalina   | 456   | 23-212             | U/L      |

O painel de análises demonstrou uma linfocitose severa, uma elevação moderada dos parâmetros bioquímicos hepáticos, mas uma elevação exuberante dos parâmetros renais.

Tendo em conta o quadro clínico e os exames complementares, os diagnósticos diferenciais foram ingestão de tóxicos e Leptospirose.

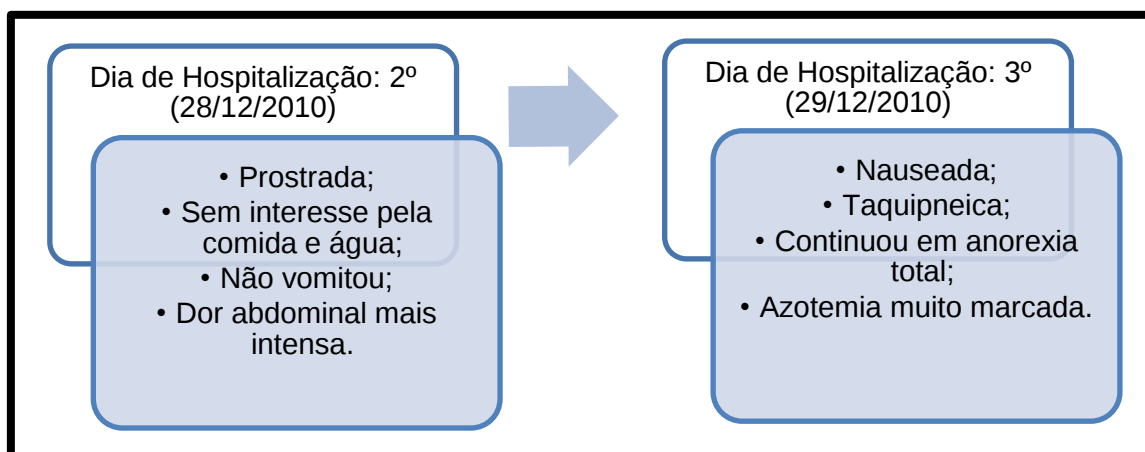
Recolheu-se sangue, para envio ao laboratório externo, para pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira*.

Ficou hospitalizada para administração de fluidoterapia intravenosa (NaCl 0,9%, a uma taxa correspondente a 2,5 vezes a sua taxa de manutenção) e medicação parenteral, bem como para monitorização da evolução do estado clínico. A medicação realizada durante a hospitalização encontra-se apresentada na tabela seguinte (Tabela 13).

**Tabela 13: Medicação administrada à ‘Traquina’ durante a hospitalização**

| Medicação                                                               | Dose           | Via | Frequência |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------|-----|------------|
| Penicilina G (Duplocilina L.A., Intervet/Schering-Plough Animal Health) | 30 000 U.I./kg | IM  | SID        |
| Ranitidina (Bloculcer®, Labesfal)                                       | 2 mg/kg        | IM  | BID        |
| S- adenosilmetionina (Denosyl® 425 mg, Nutramax)                        | 16 mg/kg       | PO  | SID        |
| Citrato de Maropitant (Cerenia®, Pfizer)                                | 1 mg/kg        | SC  | SID        |

A evolução da ‘Traquina’ durante a hospitalização encontra-se sistematizada na figura seguinte (Ilustração 2).



**Ilustração 2: Evolução clínica da 'Traquina' durante a hospitalização**

Ao 2º dia de hospitalização (28/12/2010), a 'Traquina' apresentou dor abdominal mais exuberante e adicionou-se à medicação anteriormente instituída tramadol (Tramadol, Labesfal) – 3,5 mg/kg, via IV, BID.

No dia seguinte (29/12/2010) o seu estado agravou-se e foram realizadas novas análises bioquímicas para avaliar a evolução do caso, apresentadas na tabela abaixo (Tabela 14).

**Tabela 14: Bioquímicas da 'Traquina', 29/12/2010**

| Parâmetro Bioquímico | Valor  | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|--------|--------------------|----------|
| BUN                  | >> 130 | 7.0-27.0           | mg/dl    |
| Creatinina           | 12.2   | 0.50-1.80          | mg/dl    |

As análises bioquímicas demonstraram uma evolução muito pobre do caso, com melhorias nulas em relação aos parâmetros renais.

Quando confrontado com a evolução do caso e por motivos económicos, o proprietário optou por levar a 'Traquina' para casa, também não considerando a eutanásia. Foi prescrita a medicação descrita na tabela seguinte (Tabela 15).

**Tabela 15: Medicação prescrita à 'Traquina'**

| Medicação                                                               | Dose           | Via | Frequência | Duração   |
|-------------------------------------------------------------------------|----------------|-----|------------|-----------|
| Penicilina G (Duplocilina L.A., Intervet/Schering-Plough Animal Health) | 30 000 U.I./kg | IM  | SID        | 2 semanas |
| Ranitidina 10 mg                                                        | 0,5 mg/kg      | PO  | BID        | 5 dias    |
| S- adenosilmetionina (Denosyl® 425 mg, Nutramax)                        | 16 mg/kg       | PO  | SID        | 5 dias    |

Após 2 dias (31/12/2010), obteve-se o resultado da serologia onde se confirmou a existência de anticorpos anti-*Leptospira*, com títulos iguais de 1:800 para os serovares Bratislava e Icterohaemorrhagiae. A análise serológica encontra-se anexada (Anexo 1- 1.4).

Quando foi solicitado ao proprietário que se deslocasse ao HVBA para receber a análise, fomos informados que a 'Traquina' havia falecido, no dia seguinte ao que abandonou o hospital.

### 1.3.5 'Bolota'

A 'Bolota', canídeo, fêmea inteira, de 22,750 Kg, de raça Pointer, 9 anos de idade. Habitat *outdoor*, cão de companhia. Estado vacinal desactualizado (última vacinação efectuada há quase 2 anos). A 'Bolota' estava diagnosticada com Leishmaniose há 2 anos (desde 2009), mas aparentemente encontrava-se controlada e sem qualquer manifestação cutânea da doença.

A 'Bolota' foi recebida no HVBA, dia 18 de Janeiro de 2011. A proprietária referiu que achava a 'Bolota' muito prostrada, sem apetite, tendo vomitado no dia anterior.

Ao exame físico, apresentava uma temperatura de 37.7 °C. O exame físico encontrava-se normal, com excepção de alguns sinais de desidratação e icterícia ligeira.

Foi realizado um painel de análises, para avaliar a situação da 'Bolota', recorrendo ao hemograma e a bioquímicas (Tabela 16).

**Tabela 16: Hemograma e bioquímicas da 'Bolota', 18/01/2011**

| Hemograma                   | Valor | Valores Referência | Unidades             |
|-----------------------------|-------|--------------------|----------------------|
| Leucócitos                  | 19.2  | 6.0-17.0           | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Linfócitos                  | 2.7   | 1.2-5.0            | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Granulócitos                | 14.9  | 3.5-12.0           | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Relação N:L                 | 1.6   | 0.3-1.0            | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Hematócrito                 | 40.0  | 37.0-55.0          | %                    |
| VCM                         | 62.4  | 56.0-75.0          |                      |
| Eritrócitos                 | 6.41  | 5.50-8.50          | x10 <sup>6</sup> /mm |
| Hemoglobina                 | 12.9  | 12.0-18.0          | g/dl                 |
| CHM                         | 20.2  | 19.5-24.5          | pg                   |
| CHCM                        | 32.4  | 33.0-38.0          | g/dl                 |
| RDW%                        | 11.7  | 12.0-16.0          | %                    |
| RDWa                        | 41.4  | 1.0-199.9          |                      |
| Plaquetas                   | 106   | 200-500            | x10 <sup>3</sup> /mm |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |       |                    |                      |
| Albumina                    | 2.9   | 2.70-3.80          | g/dl                 |
| ALT                         | 442   | 10-100             | U/L                  |
| BUN                         | 57    | 7.0-27.0           | mg/dl                |

| Parâmetro Bioquímico | Valor | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|-------|--------------------|----------|
| Creatinina           | 3.2   | 0.50-1.80          | mg/dl    |
| Fosfatase Alcalina   | 575   | 23-212             | U/L      |
| Glucose              | 56    | 77-125             | mg/dl    |

Uma vez que as análises da 'Bolota' manifestavam algumas alterações da função renal e hepática e, tendo em conta a leishmaniose prévia, optou-se pela hospitalização para fluidoterapia intravenosa (NaCl 0,9%, a uma taxa 2,5 vezes superior à sua taxa de manutenção) e medicação parenteral, bem como para monitorização da evolução do estado clínico.

Considerou-se como diagnóstico diferencial a Leptospirose e foram recolhidas amostras para serologia de *Leptospira* e *Leishmania*, posteriormente enviadas para o laboratório externo.

A medicação prescrita e realizada aquando da hospitalização encontra-se descrita na tabela seguinte (Tabela 17).

**Tabela 17: Medicação administrada à 'Bolota' durante a hospitalização (18/01/2011-21/01/2011)**

| Medicação                                             | Dose       | Via | Frequência |
|-------------------------------------------------------|------------|-----|------------|
| Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Noroclav®, Norbrook) | 8,75 mg/kg | IM  | SID        |
| Ranitidina (Bloculcer®, Labesfal)                     | 2 mg/kg    | IM  | BID        |
| Metoclopramida (Metoclopramida, Labesfal)             | 0,5 mg/kg  | SC  | BID        |
| S-adenosilmetionina (Zentonil™ 400, Vétoquinol)       | 17 mg/kg   | PO  | SID        |

No dia seguinte (19/01/2011) foi realizada uma ecografia abdominal onde a única alteração registada esplenomegalia. Realizou-se cistocentese e posterior urianálise (Tabela 18), não se assinalando nenhuma alteração à excepção da presença de eritrócitos e glicosúria. O exame físico estava normal.

**Tabela 18: Urianálise da 'Bolota', 19/01/2011**

| Urianálise       | Valor    |
|------------------|----------|
| Leucócitos       | Negativo |
| Nitritos         | Negativo |
| Sangue           | ++       |
| Densidade        | 1.020    |
| Corpos cetónicos | Negativo |
| Glucose          | ++       |

Ao 3º dia de hospitalização (20/01/2011), parou a administração de metoclopramida, uma vez que já não existia vômito. Ao exame físico não existia nenhuma alteração.

No dia seguinte (21/01/2011) realizaram-se novamente análises bioquímicas para monitorizar a evolução do caso (Tabela 19).

**Tabela 19: Bioquímicas da 'Bolota', 21/01/2011**

| Parâmetro Bioquímico | Valor | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|-------|--------------------|----------|
| ALT                  | 736   | 10-100             | U/L      |
| BUN                  | 29    | 7.0-27.0           | mg/dl    |
| Creatinina           | 1.9   | 0.50-1.80          | mg/dl    |
| Fosfatase Alcalina   | 1584  | 23-212             | U/L      |

Embora os valores dos parâmetros hepáticos apresentassem um aumento considerável em relação à análise anterior, os valores dos parâmetros renais diminuíram e juntamente com a melhoria clínica da 'Bolota' optou-se pela alta hospitalar. A medicação prescrita está descrita na tabela seguinte (

Tabela 20), sendo adicionada à terapêutica já prescrita anteriormente para a Leishmaniose (Alopurinol).

**Tabela 20: Medicação prescrita à 'Bolota', 21/01/2011**

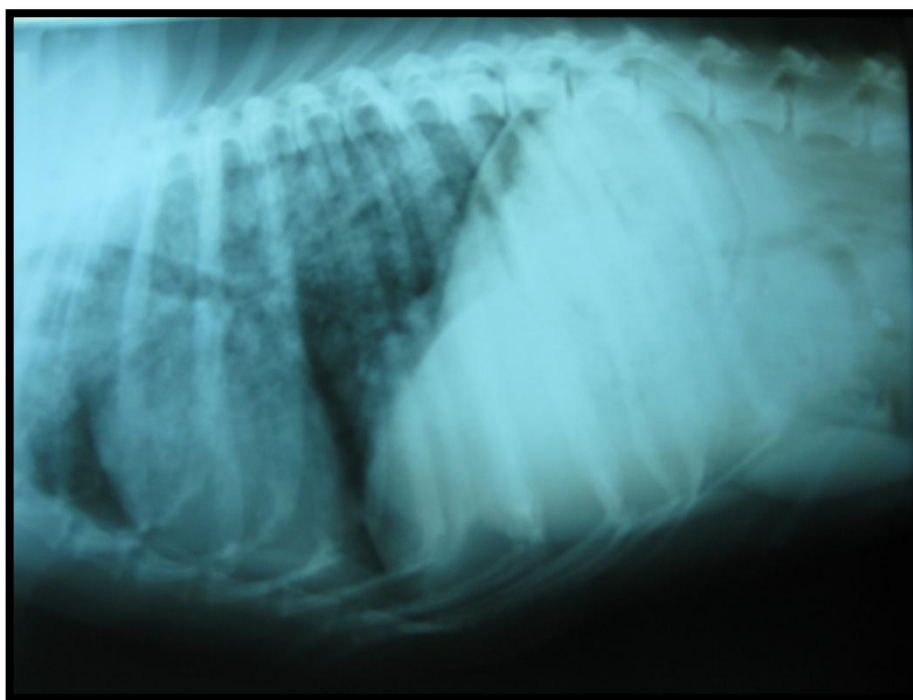
| Medicação                                                     | Dose     | Via | Frequência | Duração           |
|---------------------------------------------------------------|----------|-----|------------|-------------------|
| Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Clavubactin® 500 mg, Le Vet) | 14 mg/kg | PO  | BID        | 3 dias            |
| Doxiciclina (ACTIDOX®100, Saninter)                           | 10 mg/kg | PO  | SID        | 14 dias           |
| S-adenosilmetionina (Zentonil™ 400, Vétoquinol)               | 17 mg/kg | PO  | SID        | 25 dias           |
| Alopurinol (Zyloric® 300, GlaxoSmithKline)                    | 10 mg/kg | PO  | BID        | <i>ad eternum</i> |

Passados 4 dias (25/01/2011), recebemos o resultado das análises serológicas da 'Bolota', demonstrando a existência de leptospirose. A serologia de *Leptospira* demonstrou um título de anticorpos de 1:400 para o serovar Bratislava e 1:200 para o serovar Pomona. O resultado da serologia encontra-se em anexo (Anexo 1 -1.5).

Neste mesmo dia, a 'Bolota' apresentou-se para consulta. A proprietária mostrou-se muito preocupada porque a 'Bolota' tinha estado a correr atrás da mota do proprietário e caiu, tendo ficado muito dispneica e prostrada.

Ao exame físico, a temperatura era de 38.4 °C. O exame físico estava normal sendo a única anomalia a presença de sons pulmonares abafados, especialmente no hemitórax direito.

Fez-se radiografia torácica, a qual evidenciou um padrão pulmonar alveolar difuso, sugestivo de hemorragia pulmonar extensa (Figura 20).



**Figura 20: Radiografia torácica da 'Bolota' demonstrando a presença de padrão pulmonar alveolar**

Ficou hospitalizada para repouso em jaula e tratamento direccionado para a leptospirose.

A medicação realizada está descrita na tabela seguinte (Tabela 21), tendo sido prescrito fitomenadiona para colmatar possíveis desequilíbrios hemostáticos.

**Tabela 21: Medicação administrada à 'Bolota' durante a hospitalização (25/01/2011-28/01/2011)**

| Medicação                                                      | Dose                                  | Via | Frequência |
|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----|------------|
| Alopurinol (Zyloric® 300, GlaxoSmithKline)                     | 10 mg/kg                              | PO  | BID        |
| Doxiciclina (ACTIDOX®100, Saninter)                            | 10 mg/kg                              | PO  | SID        |
| S-adenosilmetionina (Zentonil™ 400, Vétoquinol)                | 17 mg/kg                              | PO  | SID        |
| Penicilina G (Peni-kél LA®, Zoopan)                            | 30 000 U.I/kg                         | IM  | SID        |
| Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Noroclav® 10 mg/ml, Norbrook) | 8,75 mg/kg                            | IM  | SID        |
| Fitomenadiona (Konakion® 10 mg, Roche)                         | 1º dia – 5 mg/kg;<br>depois 2,5 mg/kg | SC  | SID        |

Nos dois dias seguintes (26/01 e 27/01), esteve sempre alerta, e o exame físico não mostrava qualquer alteração à excepção da dispneia.

Ao 3º dia de hospitalização (28/01), observou-se a presença de um coágulo debaixo do estrado da jaula onde a 'Bolota' estava hospitalizada. Na auscultação do hemotórax direito identificou-se a presença de fervores. Como o repouso em jaula no hospital demonstrou um maior potencial excitatório, embora ainda apresentasse tosse e fervores, optou-se pela alta hospitalar com a continuação do tratamento em casa (Tabela 22).

**Tabela 22: Medicação prescrita à 'Bolota', 28/01/2011**

| Medicação                                                     | Dose     | Via | Frequência | Duração                 |
|---------------------------------------------------------------|----------|-----|------------|-------------------------|
| Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Clavubactin® 500 mg, Le Vet) | 14 mg/kg | PO  | BID        | 16 dias                 |
| Doxiciclina (ACTIDOX®100, Saninter)                           | 10 mg/kg | PO  | SID        | 16 dias                 |
| S-adenosilmetionina (Zentonil™ 400, Vétoquinol)               | 17 mg/kg | PO  | SID        | Até finalizar embalagem |
| Alopurinol (Zyloric® 300, GlaxoSmithKline)                    | 5 mg/kg  | PO  | BID        | 16 dias                 |
| Fitomenadiona (Vitamina K pasta, Chemical Iberica)            | 0,1 g/kg | PO  | SID        | 7 dias                  |

Recomendou-se repouso absoluto durante 2 semanas.

Decorridos 14 dias após a alta hospitalar (11/02/2011), a 'Bolota' apresentou-se à consulta para controlo. A proprietária referiu que a 'Bolota' se havia apresentado bem-disposta, alerta, com apetite, sem tosse e com aumento de peso (24,500 Kg).

Ao exame físico, não existia qualquer alteração do estado fisiológico.

Realizaram-se novas análises bioquímicas hepáticas para monitorizar a evolução do caso, cujos resultados se encontram apresentados na tabela seguinte (Tabela 23).

**Tabela 23: Bioquímicas da 'Bolota', 11/02/2011**

| Parâmetro Bioquímico | Valor | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|-------|--------------------|----------|
| ALT                  | 27    | 10-100             | U/L      |
| Fosfatase Alcalina   | 111   | 23-212             | U/L      |

As análises bioquímicas mostraram uma diminuição dos parâmetros hepáticos concordantes com a melhoria clínica da 'Bolota'.

Continuou a terapêutica com doxiciclina (ACTIDOX®100, Saninter) durante mais 15 dias, e a medicação direccionada para a Leishmaniose foi ajustada: alopurinol (Zyloric® 300, GlaxoSmithKline) 5 mg/kg, BID durante mais 16 dias e depois passaria a fazer 10 mg/kg, BID, *ad eternum*.

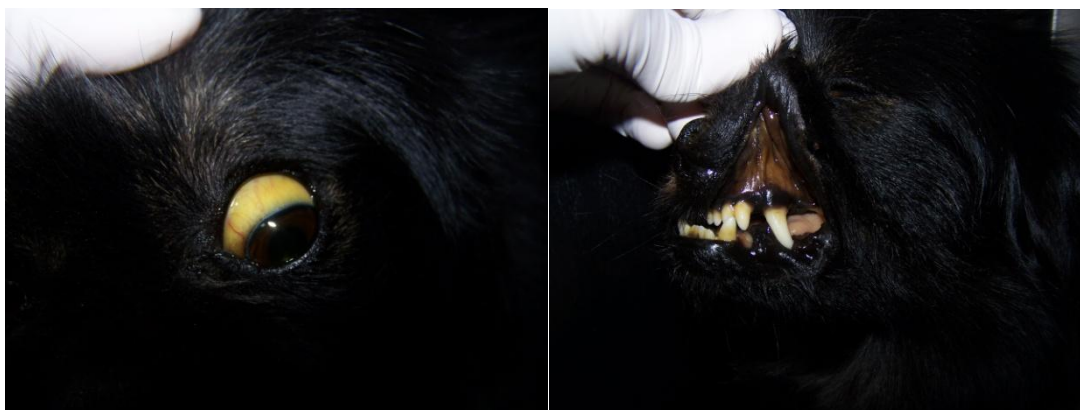
A 'Bolota' possuía uma coabitante (canídeo), a 'Libelinha'. A proprietária decidiu fazer a titulação de anticorpos anti-*Leptospira* à 'Libelinha', que teve um resultado negativo (Anexo 1-1.6).

### 1.3.6 'Júnior'

O 'Júnior', canídeo macho inteiro, de 4,500 Kg, de raça Pequínês, 1 ano de idade. Habitat *indoor/outdoor*, cão de companhia. Estado vacinal desactualizado (apenas possuía a vacinação anti-rábica em dia, e nunca recebera qualquer outro tipo de vacinação).

O 'Júnior' apresentou-se à consulta no dia 23 de Janeiro de 2011. Os proprietários referiram que o 'Júnior' não comia há 4 dias e apresentava diarreia de cor escura, mas nunca tinha tido vômitos. O 'Júnior' tinha acesso a uma horta grande no campo e, no dia anterior a ter deixado de comer teria ido à rua sozinho.

Ao exame físico apresentava hipotermia (temperatura de 35.7°C). Os restantes parâmetros do exame físico estavam normais, exceptuando a icterícia marcada da mucosa ocular e oral (Figura 21), dor à palpação abdominal e desidratação (5-8%).



**Figura 21: Fotografias do 'Júnior' demonstrando a icterícia exuberante na mucosa ocular e oral**

Foi realizado um painel de análises, das quais constou um hemograma e um painel de bioquímicas, apresentadas de seguida (Tabela 24).

**Tabela 24: Hemograma e bioquímicas do 'Júnior', 23/01/2011**

| <b>Hemograma</b>            | <b>Valor</b> | <b>Valores Referência</b> | <b>Unidades</b>      |
|-----------------------------|--------------|---------------------------|----------------------|
| Leucócitos                  | 34.2         | 6.0-17.0                  | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Linfócitos                  | 16.0         | 1.2-5.0                   | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Granulócitos                | 9.9          | 3.5-12.0                  | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Relação N:L                 | 8.3          | 0.3-1.0                   | x10 <sup>3</sup> /mm |
| Hematócrito                 | 33.0         | 37.0-55.0                 | %                    |
| VCM                         | 63.1         | 56.0-75.0                 |                      |
| Eritrócitos                 | 5.22         | 5.50-8.50                 | x10 <sup>6</sup> /mm |
| Hemoglobina                 | 10.7         | 12.0-18.0                 | g/dl                 |
| CHM                         | 20.5         | 19.5-24.5                 | pg                   |
| CHCM                        | 32.5         | 33.0-38.0                 | g/dl                 |
| RDW%                        | 10.9         | 12.0-16.0                 | %                    |
| RDWa                        | 41.0         | 1.0-199.9                 |                      |
| Plaquetas                   | 123          | 200-500                   | x10 <sup>3</sup> /mm |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |              |                           |                      |
| Albumina                    | 2.8          | 2.70-3.80                 | g/dl                 |
| ALT                         | 372          | 10-100                    | U/L                  |
| BUN                         | >130         | 7.0-27.0                  | mg/dl                |
| Creatinina                  | Inválido     | 0.50-1.80                 | mg/dl                |
| Fosfatase Alcalina          | 535          | 23-212                    | U/L                  |
| Glucose                     | 233          | 77-125                    | mg/dl                |

Os resultados dos exames complementares evidenciaram a presença de linfocitose, anemia normocítica hipocrômica ligeira e trombocitopenia. Demonstraram também, valores muito elevados dos parâmetros bioquímicos renais.

Os diagnósticos diferenciais considerados foram a ingestão de tóxicos e Leptospirose.

Foram enviadas amostras para serologia de *Leptospira*, para o laboratório externo.

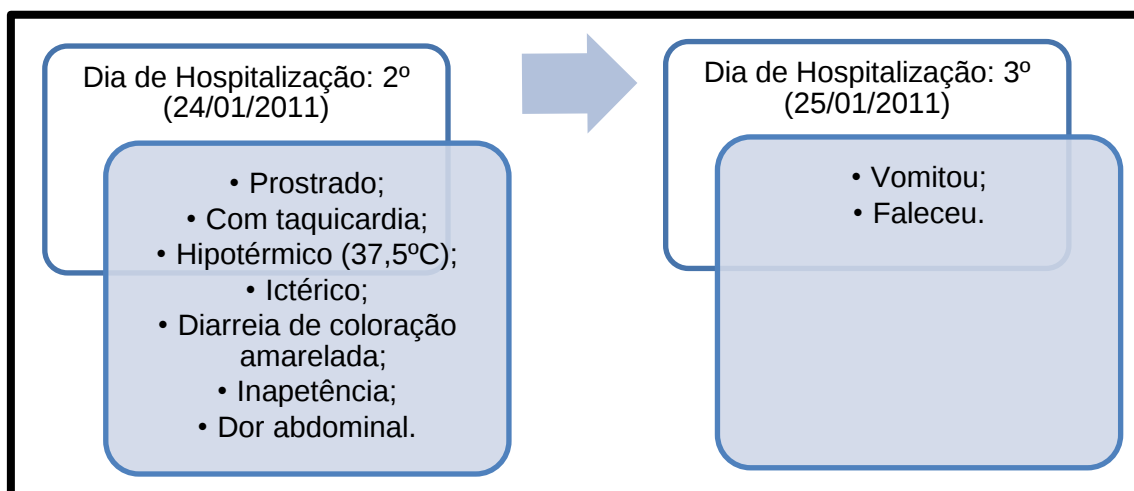
Enquanto esperava o resultado da serologia, tendo a conta o seu estado clínico, o 'Júnior' ficou hospitalizado para fluidoterapia intravenosa (NaCl 0,9 %, a uma taxa correspondente a 3 vezes a sua taxa de manutenção), medicação parenteral e monitorização da evolução clínica.

Foi prescrita e realizada a medicação apresentada na tabela seguinte (Tabela 25).

**Tabela 25: Medicação administrada ao 'Júnior' durante a hospitalização**

| <b>Medicação</b>                                | <b>Dose</b> | <b>Via</b> | <b>Frequência</b> |
|-------------------------------------------------|-------------|------------|-------------------|
| Ranitidina (Bloculcer®, Labesfal)               | 2 mg/kg     | IM         | BID               |
| S- adenosilmetionina (Denosyl® 90 mg, Nutramax) | 20 mg/kg    | PO         | SID               |
| Tramadol (Tramadol, Labesfal)                   | 4 mg/kg     | IM         | BID               |

A evolução do 'Júnior' durante a hospitalização encontra-se sistematizada na figura seguinte (Ilustração 3).



**Ilustração 3: Evolução clínica do 'Júnior' durante a hospitalização**

No 2º dia de hospitalização (24/01/2011) foi adicionada à restante medicação a penicilina G (Peni-kél LA®, Zoopan) – 30 000 U.I./kg, via IM, SID.

No dia seguinte (25/01/2011), decorridos 3 dias da admissão, o 'Júnior' acabou por falecer ao final do dia.

Após 2 dias (27/01/2011), foram conhecidos os resultados da serologia de *Leptospira*, confirmando o diagnóstico suspeito. A serologia do 'Júnior' mostrava um título de anticorpos de 1:800 para o serovar Icterohaemorrhagiae e um título de 1:400 para o serovar Bratislava. A análise serológica pode ser observada em pormenor no anexo (Anexo 1- 1.7).

### 1.3.7 'Baltazar' e 'Dingo'

Optei por apresentar em conjunto os casos destes dois pacientes. O 'Baltazar' e o 'Dingo' não eram coabitantes directos, pois não se encontravam na mesma habitação, no entanto, os seus proprietários eram familiares e vizinhos. Por esse mesmo motivo, os dois cães estavam quase permanentemente em contacto.

O 'Baltazar', canídeo macho inteiro, de 13,700 Kg, de raça indeterminada, 10 anos de idade. Habitat *outdoor*, cão de companhia. Estado vacinal desactualizado (última vacinação há 2 anos).

O 'Dingo', canídeo macho inteiro, de 29,800 Kg, de raça Basset Hound, 3 anos de idade. Habitat *outdoor*, cão de companhia. Estado vacinal actualizado.

O 'Baltazar' e o 'Dingo' foram recebidos no HVBA dia 14 de Fevereiro de 2011. A consulta dos dois pacientes foi realizada em conjunto. O proprietário afirmou que o 'Dingo' se encontrava prostrado há 2 dias, com anorexia total e vômitos. Informou que o 'Baltazar' se encontrava doente há mais tempo, apresentando anorexia parcial e perda de peso.

Ao exame físico, o 'Baltazar' apresentava-se mais responsivo e menos apático que o 'Dingo'. O 'Dingo' apresentava hipotermia (36.7°C) e o exame físico não tinha alterações, exceptuando dor moderada à palpação abdominal e sinais de otite. O 'Baltazar' estava normotérmico (38.1°C) e o exame físico não apresentava alterações, à excepção da condição corporal muito baixa.

Foi proposto e realizado um painel geral de análises aos dois pacientes, englobando hemograma e bioquímicas séricas, apresentado nas tabelas seguintes (Tabela 26; Tabela 27)

**Tabela 26: Hemograma e bioquímicas do 'Dingo', 14/02/2011**

| Hemograma                   | Valor | Valores Referência | Unidades                |
|-----------------------------|-------|--------------------|-------------------------|
| Leucócitos                  | 41.6  | 6.0-17.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Linfócitos                  | 14.4  | 1.2-5.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Granulócitos                | 16.9  | 3.5-12.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Relação N:L                 | 10.3  | 0.3-1.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Hematócrito                 | 29.9  | 37.0-55.0          | %                       |
| VCM                         | 66.3  | 56.0-75.0          |                         |
| Eritrócitos                 | 4.51  | 5.50-8.50          | $\times 10^6/\text{mm}$ |
| Hemoglobina                 | 9.4   | 12.0-18.0          | g/dl                    |
| CHM                         | 20.9  | 19.5-24.5          | pg                      |
| CHCM                        | 31.6  | 33.0-38.0          | g/dl                    |
| RDW%                        | 10.0  | 12.0-16.0          | %                       |
| RDWa                        | 42.3  | 1.0-199.9          |                         |
| Plaquetas                   | 195   | 200-500            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |       |                    |                         |
| Albumina                    | 2.2   | 2.70-3.80          | g/dl                    |
| ALT                         | 80    | 10-100             | U/L                     |
| BUN                         | >130  | 7.0-27.0           | mg/dl                   |
| Creatinina                  | 5.5   | 0.50-1.80          | mg/dl                   |

**Tabela 27: Hemograma e bioquímicas do 'Baltazar', 14/02/2011**

| Hemograma    | Valor | Valores Referência | Unidades                |
|--------------|-------|--------------------|-------------------------|
| Leucócitos   | 6.7   | 6.0-17.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Linfócitos   | 2.5   | 1.2-5.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Granulócitos | 2.3   | 3.5-12.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Relação N:L  | 1.9   | 0.3-1.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Hematócrito  | 40.9  | 37.0-55.0          | %                       |
| VCM          | 63.1  | 56.0-75.0          |                         |

| Hemograma                   | Valor | Valores Referência | Unidades                |
|-----------------------------|-------|--------------------|-------------------------|
| Eritrócitos                 | 6.00  | 5.50-8.50          | $\times 10^6/\text{mm}$ |
| Hemoglobina                 | 13.2  | 12.0-18.0          | g/dl                    |
| CHM                         | 22.0  | 19.5-24.5          | pg                      |
| CHCM                        | 32.3  | 33.0-38.0          | g/dl                    |
| RDW%                        | 13.2  | 12.0-16.0          | %                       |
| RDWa                        | 48.5  | 1.0-199.9          |                         |
| Plaquetas                   | 448   | 200-500            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |       |                    |                         |
| BUN                         | 119   | 7.0-27.0           | mg/dl                   |
| Creatinina                  | 5.7   | 0.50-1.80          | mg/dl                   |

Aquando da centrifugação do sangue para obtenção de soro, observou-se que o soro do 'Dingo' se apresentava icterico. O hemograma do 'Dingo' demonstrava a presença de uma anemia normocítica e hipocrômica ligeira, leucocitose, maioritariamente linfocítica, severa. Ambos os animais possuíam os valores dos parâmetros bioquímicos renais muito elevados.

Os diagnósticos diferenciais foram Erliquiose e Leptospirose.

Foram recolhidas amostras dos dois cães, posteriormente enviados para laboratório externo, para análise serológica de *Leptospira*.

Foi proposta a hospitalização dos dois pacientes, para fluidoterapia intravenosa (NaCl 0,9%, sendo as taxas de infusão adaptadas diariamente consoante a desidratação estimada no exame físico), medicação parenteral e monitorização da evolução do quadro clínico recorrendo à repetição de análises bioquímicas renais em 48 horas.

Os animais receberam a mesma medicação enquanto hospitalizados, variando apenas a quantidade administrada em função do peso. A medicação realizada durante a hospitalização encontra-se descrita na tabela seguinte (Tabela 28).

**Tabela 28: Medicação administrada ao 'Dingo' e 'Baltazar' durante a hospitalização**

| Medicação                                 | Dose 'Dingo'   | Dose 'Baltazar' | Via | Frequência |
|-------------------------------------------|----------------|-----------------|-----|------------|
| Ranitidina (Bloculcer®, Labesfal)         | 2 mg/kg        | 2 mg/kg         | IM  | BID        |
| Metoclopramida (Metoclopramida, Labesfal) | 0,5 mg/kg      | 0,5 mg/kg       | SC  | BID        |
| Penicilina G (Peni-kél LA®, Zoopan)       | 30 000 U.I./kg | 30 000 U.I./kg  | IM  | SID        |
| Doxiciclina (RONAXAN® 100 mg, Merial)     | 5 mg/kg        | 10 mg/kg        | PO  | SID        |

A doxiciclina só foi introduzida à medicação do 'Dingo' no 2º dia de hospitalização (15/02/2011), quando deixou de apresentar vômito e náusea.

A evolução dos pacientes durante a hospitalização encontra-se resumida nos esquemas abaixo (Ilustração 4; Ilustração 5).

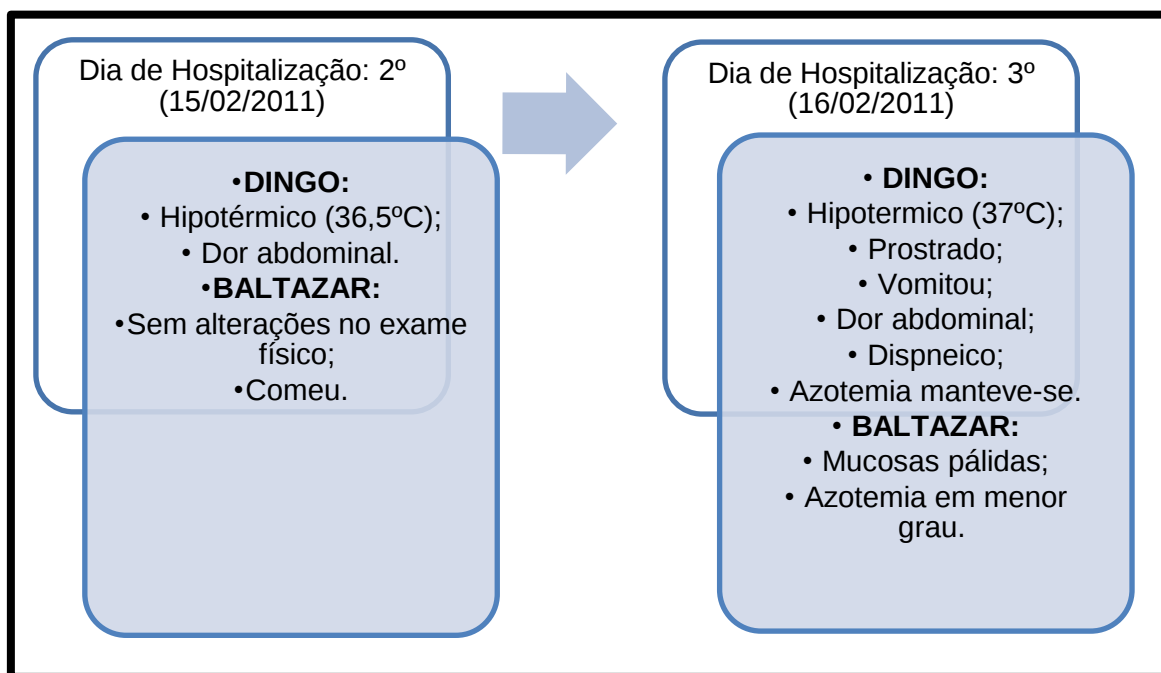


Ilustração 4: Evolução clínica do 'Dingo' e 'Baltazar' durante a hospitalização (2º- 3º dia)

Como haviam decorrido 48 horas após a chegada dos animais ao hospital, ao 3º dia de hospitalização (16/02/2011) foi efectuado novo painel de análises, para monitorizar a evolução dos casos. Os resultados encontram-se descritos na tabela seguinte (Tabela 29).

Tabela 29: Análises bioquímicas do 'Dingo' e 'Baltazar', 16/02/2011

| Parâmetro Bioquímico | Valor 'Dingo' | Valor 'Baltazar' | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|---------------|------------------|--------------------|----------|
| BUN                  | >130          | 76               | 7.0-27.0           | mg/dl    |
| Creatinina           | 5.7           | 2.3              | 0.50-1.80          | mg/dl    |

Ao avaliar as novas análises, constatou-se que teria existido uma evolução favorável do quadro clínico do 'Baltazar' enquanto em relação ao 'Dingo' não pareceu existir melhoria. Os proprietários foram informados acerca do estado dos animais, bem como das novas análises. Ambos os proprietários decidiram manter os pacientes hospitalizados durante mais 24 horas. Os dois pacientes continuaram com a mesma medicação prescrita anteriormente.

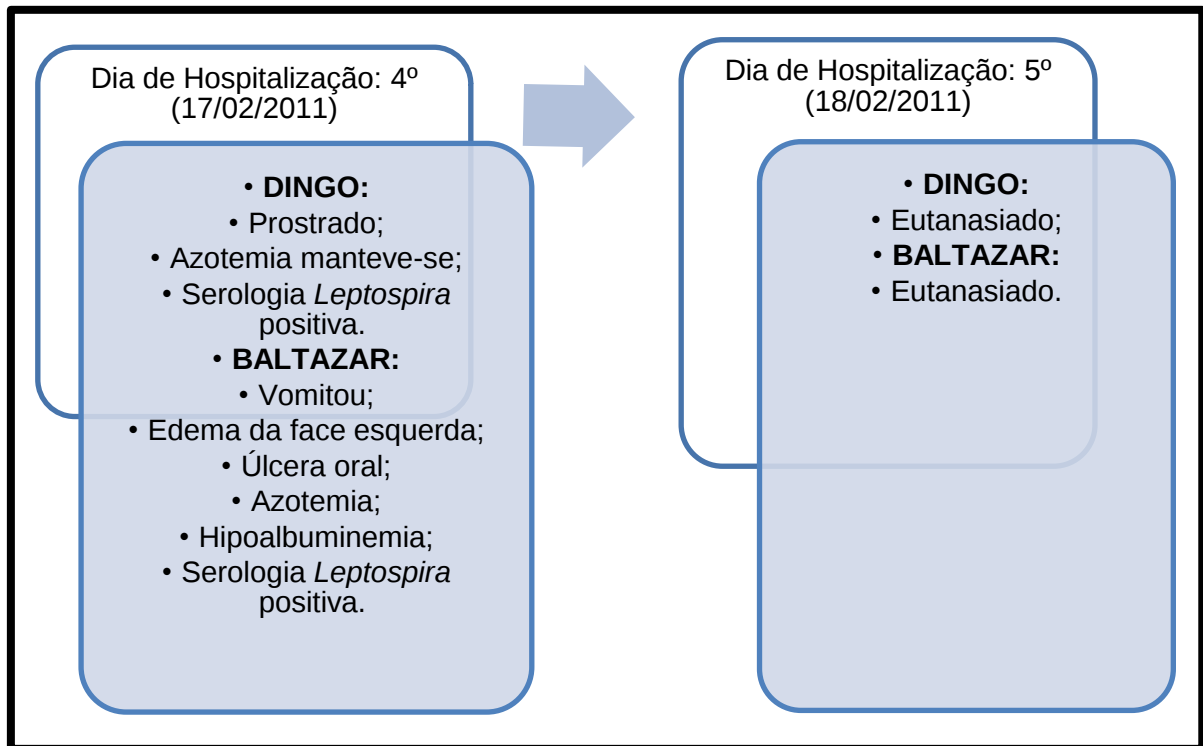


Ilustração 5: Evolução clínica do 'Dingo' e 'Baltazar' durante a hospitalização (3º- 4º dia)

Ao 4º dia de hospitalização (17/02/2011) foram realizadas novas análises bioquímicas, onde se pode constatar que o 'Dingo' apresentava um valor de creatinina mais baixo que o anterior, mas ainda assim demasiado elevado (creatinina = 4,2 mg/dl), sendo que o valor de ureia sérica continuava acima do valor máximo do leitor. Em relação ao 'Baltazar', pôde observar-se um aumento no valor da creatinina (creatinina = 3,1 mg/dl) em relação ao valor da análise anterior, juntamente com a existência de hipoalbuminemia (albumina = 1,2 g/dl).

Nesse mesmo dia (17/02/2011), foram recebidos os resultados das serologias de *Leptospira* de ambos os pacientes, indicando a presença de títulos compatíveis com leptospirose. Curiosamente, os títulos dos dois pacientes eram exactamente iguais para os mesmos serovares, sendo o título mais elevado 1:3200 para o serovar Bratislava, em ambos. As análises serológicas encontram-se anexadas (Anexo 1 – 1.8 e 1.9).

Após comunicação dos resultados da serologia aos proprietários, bem como da falta de evolução do quadro clínico, ambos optaram pela eutanásia dos respectivos animais. Assim sendo, o 'Baltazar' e o 'Dingo' foram eutanasiados 4 dias após a admissão (18/01/2011).

### 1.3.8 'Handek'

O 'Handek', canídeo macho inteiro, de 26,400 Kg, de raça Pit Bull Terrier, 3 anos de idade. Habitat *outdoor*, cão de companhia. Estado vacinal desatualizado (última vacinação teria sido há 3 anos atrás).

O 'Handek' foi recebido no HVBA, no dia 13 de Março de 2011. Os proprietários referiram que aproximadamente há uma semana notaram o 'Handek' com "menos apetite e a ficar amarelo". Já haviam consultado outro veterinário, que lhe diagnosticara hepatite e administrara tratamento parenteral (princípios activos utilizados não identificados). Os proprietários indicaram que o 'Handek' estava em anorexia há 4 dias, apresentava polidipsia e vômito esporádico. Os proprietários informaram que o 'Handek' costuma permanecer num armazém onde existem ratos, mas que a hipótese de existência de roenticidas não era provável.

Ao exame físico, apresentava hipotermia (36.7°C), era evidente a caquexia e as mucosas conjuntivais e oral encontravam-se congestionadas e ictéricas. Apresentava também taquipneia e não se evidenciavam outras alterações no restante exame físico.

Foi realizado um painel de análises – hemograma e bioquímicas séricas, cujos resultados estão apresentados na tabela seguinte (Tabela 30).

**Tabela 30: Hemograma e bioquímicas do 'Handek', 13/03/2011**

| Hemograma                   | Valor    | Valores Referência | Unidades                |
|-----------------------------|----------|--------------------|-------------------------|
| Leucócitos                  | 37.1     | 6.0-17.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Linfócitos                  | 16.1     | 1.2-5.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Granulócitos                | 11.7     | 3.5-12.0           | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Relação N:L                 | 9.3      | 0.3-1.0            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| Hematócrito                 | 50.4     | 37.0-55.0          | %                       |
| VCM                         | 64.6     | 56.0-75.0          |                         |
| Eritrócitos                 | 7.80     | 5.50-8.50          | $\times 10^6/\text{mm}$ |
| Hemoglobina                 | 15.9     | 12.0-18.0          | g/dl                    |
| CHM                         | 20.4     | 19.5-24.5          | pg                      |
| CHCM                        | 31.5     | 33.0-38.0          | g/dl                    |
| RDW%                        | 13.3     | 12.0-16.0          | %                       |
| RDWa                        | 45.5     | 1.0-199.9          |                         |
| Plaquetas                   | 312      | 200-500            | $\times 10^3/\text{mm}$ |
| <b>Parâmetro Bioquímico</b> |          |                    |                         |
| Albumina                    | 3.5      | 2.70-3.80          | g/dl                    |
| ALT                         | 442      | 10-100             | U/L                     |
| BUN                         | >130     | 7.0-27.0           | mg/dl                   |
| Creatinina                  | Inválido | 0.50-1.80          | mg/dl                   |
| Fosfatase Alcalina          | Inválido | 23-212             | U/L                     |
| Glucose                     | 150      | 77-125             | mg/dl                   |

O hemograma evidenciava linfocitose. As análises bioquímicas identificaram uma azotemia acentuada bem como um aumento considerável dos parâmetros hepáticos.

Os diagnósticos diferenciais foram ingestão de tóxicos e Leptospirose.

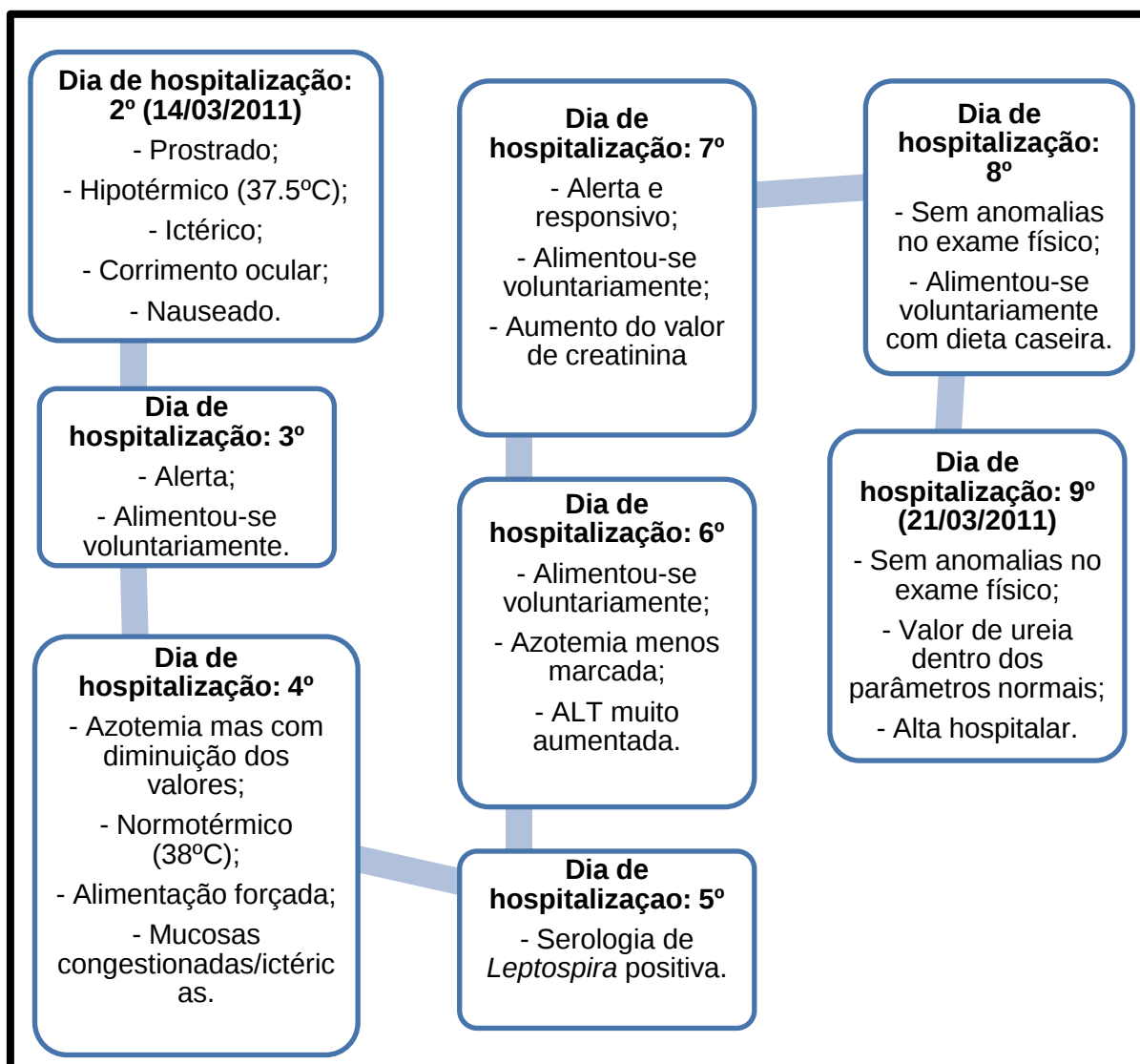
Recolheu-se amostra para envio posterior para o laboratório externo, para titulação de anticorpos anti-*Leptospira*.

Enquanto aguardou os resultados da serologia, optou-se pela hospitalização do 'Handek', para medicação parenteral (Tabela 31), fluidoterapia (NaCl 0,9%, sendo as taxas de infusão adaptadas diariamente consoante a desidratação estimada no exame físico), monitorização do estado clínico e reavaliação analítica em 48 horas.

**Tabela 31: Medicação administrada ao 'Handek' durante a hospitalização**

| Medicação                                                  | Dose       | Via | Frequência |
|------------------------------------------------------------|------------|-----|------------|
| Ranitidina (Bloculcer®, Labesfal)                          | 2 mg/kg    | IM  | BID        |
| Citrato de Maropitant (Cerenia®, Pfizer)                   | 1 mg/kg    | SC  | SID        |
| Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Noroclav®, Norbrook)      | 8,75 mg/kg | IM  | SID        |
| Ampicilina (Hiperbiótico® 500 mg, Laboratórios Atral,S.A.) | 20 mg/kg   | IV  | TID        |

A evolução clínica do 'Handek' durante a hospitalização pode encontrar-se, de forma resumida, no esquema seguinte (Ilustração 6).



**Ilustração 6: Evolução clínica do 'Handek' durante a hospitalização**

No 4º dia de hospitalização, foram realizadas as análises bioquímicas renais, para avaliação da evolução do caso. As análises demonstraram uma melhoria dos parâmetros renais, os valores de ureia descenderam para 81 mg/dl e de creatinina para 2.8 mg/dl. Perdeu peso desde o 1º dia de hospitalização (peso = 24 Kg). Adicionou-se à medicação S-adenosilmetionina (Denosyl® 425 mg, Nutramax) – 15 mg/kg, PO, SID.

Após 5 dias de hospitalização (17/03/2011), foram conhecidos os resultados da serologia de *Leptospira*, confirmando a doença. O 'Handek' correspondeu ao animal cujos títulos foram de maior dimensão, com títulos de anticorpos para o serovar Bratislava superiores a 1:6400. Títulos para outros serovares também estavam muito elevados, especialmente para o serovar Grippotyphosa e Autumnalis. A análise serológica encontra-se em anexo (Anexo 1- 1.10).

No dia seguinte, 6º dia de hospitalização, o 'Handek' recebeu a última dose de Citrato de Maropitant (Cerenia®, Pfizer) e voltaram a avaliar-se os parâmetros bioquímicos, com resultados apresentados na tabela seguinte (Tabela 32).

**Tabela 32: Análises bioquímicas do 'Handek', 18/03/2011**

| Parâmetro Bioquímico | Valor | Valores Referência | Unidades |
|----------------------|-------|--------------------|----------|
| ALT                  | 524   | 10-100             | U/L      |
| BUN                  | 57    | 7.0-27.0           | mg/dl    |
| Fosfatase Alcalina   | >2000 | 23-212             | U/L      |

As análises bioquímicas mostram uma diminuição dos parâmetros renais e hepáticos, à exceção da ALT.

No 7º dia de hospitalização (19/03/2011), foi adicionado à medicação um suplemento de carbonato de cálcio e quitosano (Ipakitine®, Vétoquinol) – 0,2 g/kg, PO, BID. Este suplemento impede a absorção exagerada de fósforo pelo organismo, que vai estar aumentada em casos de insuficiência renal, como é o caso. Foi medido o valor de creatinina, que apresentou um aumento em relação à análise anterior (creatinina = 3.2 mg/dl).

Após 9 dias de hospitalização, analisaram-se novamente, os valores renais, os quais apresentaram uma melhoria, o valor de ureia diminuiu para 26 mg/dl e o valor de creatinina para 2.4 mg/dl.

Tendo em conta estes valores e o estado clínico do paciente, propôs-se a alta hospitalar com retorno ao fim de 4 dias para monitorizar os valores renais.

A medicação prescrita encontra-se discriminada na tabela seguinte (Tabela 33).

**Tabela 33: Medicação prescrita ao 'Handek', 21/03/2011**

| Medicação                                                | Dose     | Via | Frequência | Duração |
|----------------------------------------------------------|----------|-----|------------|---------|
| Amoxicilina + Ácido Clavulânico 1 g                      | 20 mg/kg | PO  | BID        | 8 dias  |
| S- adenosilmetionina (Denosyl® 425 mg, Nutramax)         | 15 mg/kg | PO  | SID        | 8 dias  |
| Carbonato de cálcio e quitosano (Ipakitine®, Vétoquinol) | 0,2 g/kg | PO  | BID        | 8 dias  |

O 'Handek' retornou ao HVBA, 4 dias após a alta hospitalar (25/03/2011), para o 1º controlo da evolução clínica. A proprietário referiu a ausência de sinais de doença no 'Handek', tendo este apetite ainda que caprichoso.

Ao exame físico aumentou de peso (peso = 25,500 Kg), apresentou-se menos ictérico, sem outras alterações.

Foram realizadas análises bioquímicas para controlo dos valores renais, indicando um aumento no valor de ureia para 45 mg/dl e, uma diminuição no valor de creatinina para 2.2 mg/dl. Optou-se por marcação de consulta ao fim de 7 dias, para novas análises de controlo.

Recorridos 11 dias após a alta hospitalar (01/04/2011), o 'Handek' apresentou-se novamente à consulta, para controlo da evolução do caso. Continuou a aumentar de peso, pesando 27,500 Kg, sem outras alterações ao exame físico.

As análises bioquímicas demonstraram uma evolução notável dos parâmetros renais (ureia = 13 mg/dl; creatinina = 1.9 mg/dl), embora o valor da fosfatase alcalina ainda se mantivesse elevado (440 U/L).

Recolheram-se novamente, amostras para envio posterior para laboratório externo, para análise serológica de *Leptospira*.

Continuou com a mesma medicação prescrita no dia da alta hospitalar (21/03/2011), por mais 7 dias.

Decorridos 7 dias da última consulta de controlo (08/04/2011), foram recebidos os resultados da serologia de *Leptospira*, indicando uma diminuição nos títulos de anticorpos, mas ainda assim com valores muito elevados. A análise serológica do 'Handek' correspondente à fase de convalescença também se encontra em anexo (Anexo 1- 1.11).

Neste mesmo dia, o 'Handek' apresentou-se novamente para consulta de controlo. Os proprietários afirmaram que o seu estado clínico continuava bem, e ao exame físico não apresentou qualquer alteração do estado fisiológico. Não apresentava qualquer sintomatologia. Continuou a aumentar de peso (peso = 28,500 Kg).

Parou a administração de amoxicilina + ácido clavulânico, bem como a s-adenosilmetionina. Iniciou a doxiciclina (ACTIDOX® 100, Saninter) na dosagem de 5 mg/kg, BID, durante 15 dias.

## 1.4 Discussão de Resultados

Os resultados obtidos através do estudo aprofundado de cada caso clínico permitem retirar algumas elações acerca da doença. Embora a amostra seja pequena e não exista nenhum grupo de controlo uniformizado, essas conclusões revelam-se interessantes e despertam algumas questões, passíveis de ser estudadas com mais pormenor num futuro próximo.

A bibliografia descreve uma predisposição da leptospirose em machos, com idades compreendidas entre os 4-10 anos, de raça média-grande (Gaschen, 2007). Os resultados obtidos nos casos estudados permitiram corroborar esta predisposição, uma vez que 7 dos 9 animais (77,7%) eram machos e 8 dos 9 pacientes (89%), embora nem todos de raça pura, eram de estatura média-grande. Em relação às idades dos pacientes, a divisão foi diferente sendo que a percentagem de animais com idades inferiores a 4 anos é maior do que a percentagem de animais com idades superiores a 4 anos. Assim, 5 dos 9 pacientes (55,6%) apresentavam idades inferiores a 4 anos e, 4 dos 9 pacientes (44,4%) apresentavam idades superiores a 4 anos.

O habitat do animal, tal como referido na revisão bibliográfica, tem muita relevância para a infecção e desenvolvimento da doença, uma vez que animais que habitem ou passem a maior parte do tempo no exterior vão estar mais susceptíveis a produtos contaminados bem como a HM. A maioria dos animais contidos no estudo correspondia a cães de caça ou cães que permaneciam em quintas/herdades, ou seja animais com muito contacto com o ambiente rural e todas as suas envolventes. Nenhum dos animais do estudo estava confinado apenas ao interior da casa onde habitava. A maior percentagem dos animais estudados, 8 em 9 (88,9%), permanecia no exterior da casa e, 1 dos 9 pacientes (11,1%) tinha acesso constante ao exterior.

A história vacinal torna-se importante, apenas para duas conclusões: indica que a vacinação continua a ser pouco respeitada pelos proprietários, tendo apenas 2 em 9 pacientes (22,2%) a vacinação actualizada; e indica também que talvez o prazo para re-vacinação contra a leptospirose, para que exista eficácia, seja mais curto que aquele actualmente aplicado (na maioria dos casos 6 meses).

Os sinais clínicos apresentados pelos pacientes foram variáveis. A maioria dos sinais clínicos encaixa naqueles descritos pela bibliografia disponível actualmente e referenciada no capítulo I, a tabela seguinte resume os principais sinais clínicos apresentados e a percentagem dos pacientes que os exibiu (Tabela 34).

**Tabela 34: Principais sinais clínicos apresentados pelos pacientes estudados**

| <b>Sinal Clínico</b>                  | <b>Quantidade de pacientes</b> | <b>Percentagem de pacientes</b> |
|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Anorexia                              | 7                              | 77,8%                           |
| Prostração                            | 5                              | 55,6%                           |
| Dor abdominal                         | 5                              | 55,6%                           |
| Icterícia                             | 5                              | 55,6%                           |
| Hipotermia                            | 4                              | 44,4%                           |
| Vômitos                               | 4                              | 44,4%                           |
| Dispneia                              | 3                              | 33,3%                           |
| Alteração das fezes (sangue,diarreia) | 2                              | 22,2%                           |
| Perda de peso                         | 2                              | 22,2%                           |
| Hipertermia                           | 1                              | 11,1%                           |
| PU/PD                                 | 1                              | 11,1%                           |
| Hematuria                             | 1                              | 11,1%                           |

O principal sinal apresentado foi a anorexia, seguida de prostração, dor abdominal e icterícia. Uma percentagem maior de pacientes apresentou hipotermia ao contrário de hipertermia, no entanto, esta última está descrita numa fase muito inicial da doença e os animais que contribuíram para o estudo apresentaram-se à consulta numa fase mais avançada da doença. Esta hipotermia também pode ser derivada da IR. É de ter em atenção que uma percentagem razoável (33,3%) dos pacientes estudados apresentou dispneia, podendo estar associada a uma possível síndrome hemorrágica pulmonar. Os dois animais que apresentaram perda de peso muito marcada corresponderam a animais que apresentaram sinais de doença por um período prolongado de tempo, comparativamente aos restantes ('Baltazar' e 'Handek'). Embora esteja descrita como muito frequente, a percentagem de PU/PD nos pacientes em estudo não foi correspondente, uma vez que só um animal (11,1%) apresentou PU/PD marcada. Todos os outros animais apresentaram uma taxa de ingestão de água e de produção de urina normais. No entanto, nenhum dos animais apresentou oligúria nem anúria, que são achados menos comuns tal como afirma a bibliografia (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011).

As alterações na patologia clínica foram bastante mais específicas, com a maioria dos animais a apresentar as mesmas alterações, as normalmente descritas em pacientes com leptospirose. As tabelas seguintes demonstram as principais alterações ao nível da patologia clínica dos 9 pacientes (Tabela 35) e a média dos valores de cada parâmetro da patologia clínica nos pacientes, bem como o intervalo de confiança (IC) (Tabela 36).

**Tabela 35: Alterações da patologia clínica apresentadas pelos pacientes estudados**

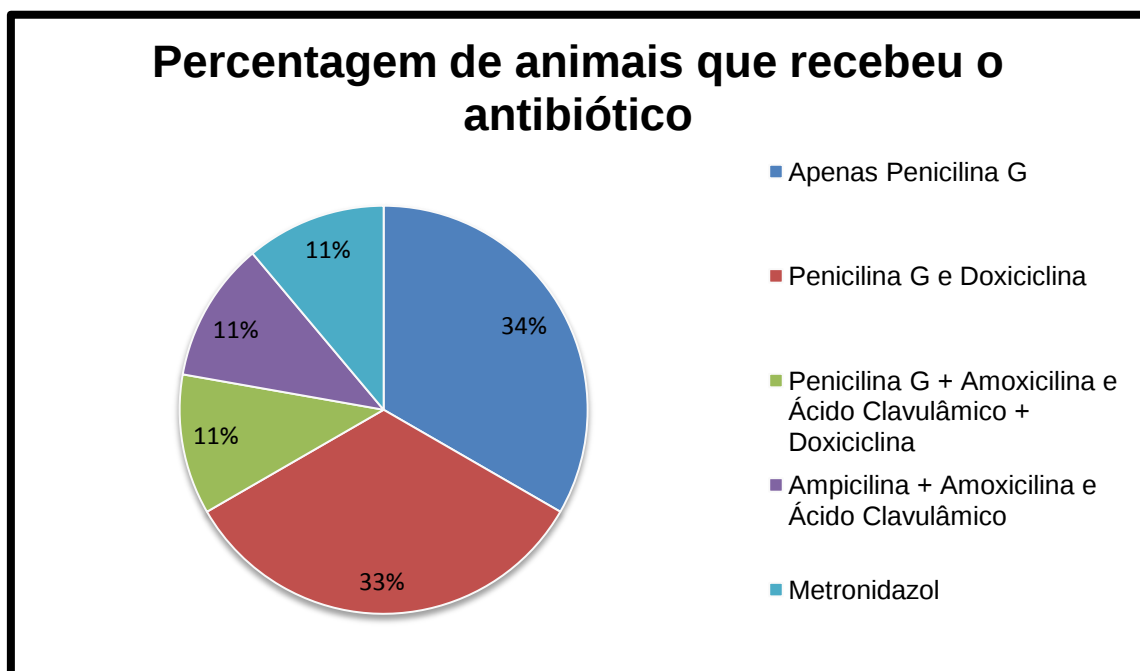
| <b>Alteração da patologia clínica</b> | <b>Quantidade de pacientes</b> | <b>Percentagem de pacientes</b> |
|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Azotemia                              | 8                              | 88,9%                           |
| Leucocitose                           | 7                              | 77,8%                           |
| Aumento da ALP                        | 7                              | 77,8%                           |
| Aumento da ALT                        | 5                              | 55,6%                           |
| Trombocitopenia                       | 4                              | 44,4%                           |
| Anemia                                | 3                              | 33,3%                           |
| Bilurrubinúria                        | 1                              | 11,1%                           |

**Tabela 36: Média e Intervalo de Confiança para os valores dos principais parâmetros da patologia clínica nos pacientes estudados**

| <b>Parâmetro da patologia clínica</b> | <b>Eritrócitos</b> | <b>Leucócitos</b> | <b>Plaquetas</b> | <b>ALP</b> | <b>ALT</b> | <b>BUN</b> |
|---------------------------------------|--------------------|-------------------|------------------|------------|------------|------------|
| ‘Kaskai’                              | 5,18               | 31,4              | 127              | 275        | 56         | 33         |
| ‘Óscar’                               | 6,31               | 36,3              | 167              | 1707       | 465        | 106        |
| ‘Kokki’                               | 7,1                | 18,3              | 251              | 437        | 20         | 6          |
| ‘Traquina’                            | 6,31               | 40,3              | 212              | 456        | 163        | 130        |
| ‘Bolota’                              | 6,41               | 19,2              | 106              | 575        | 442        | 57         |
| ‘Júnior’                              | 5,22               | 34,2              | 123              | 535        | 372        | 130        |
| ‘Dingo’                               | 4,51               | 41,6              | 195              | -          | 80         | 130        |
| ‘Baltazar’                            | 6                  | 6,7               | 448              | -          |            | 5,7        |
| ‘Handek’                              | 7,8                | 37,1              | 312              | -          | 442        | 130        |
| <b>Média dos valores</b>              | 6,09               | 29,46             | 215,67           | 442,78     | 255        | 80,86      |
| <b>Desvio Padrão</b>                  | 1,01               | 11,96             | 109,43           | 521,25     | 193,33     | 55,23      |
| <b>IC 95% Limite inferior</b>         | 4,96               | 16,08             | 93,29            | -          | 29,45      | 19,09      |
| <b>IC 95% Limite superior</b>         | 7,23               | 42,83             | 338,04           | -          | 494,24     | 142,62     |

Ao nível do hemograma, a principal alteração denotada foi a leucocitose. A trombocitopenia, apesar de descrita em mais de 58% dos cães (Sykes, Hartmann, Lunn, Moore, Stoddard, & Goldstein, 2011), apresentou uma percentagem inferior no estudo. A anemia, quando existente, foi sempre de intensidade leve, tal como mencionado na literatura. Em relação aos parâmetros bioquímicos renais e hepáticos, a principal alteração foi a azotemia (presente em 88,9% dos casos), como seria de esperar tendo em conta a insuficiência renal produzida pela doença. Seguida de um aumento das enzimas de lesão hepática e colestase, revelando a distribuição multiorgânica da leptospirose.

As opções terapêuticas tomadas variaram de caso para caso. A escolha do antibiótico a aplicar foi baseada na terapia standardizada para a leptospirose no passado (penicilina G). Dos 9 animais em estudo, apenas 2 receberam doxiciclina somente na fase convalescente da doença ('Kokki' e 'Handek'), para eliminação da fase renal da infecção, tendo ambos sobrevivido à fase aguda recorrendo a outros antibióticos. Todos os restantes pacientes receberam doxiciclina na fase aguda da doença, associada ou não a outro antibiótico. A maioria dos pacientes recebeu tratamento com penicilina G, associada ou não a outros antibióticos. Assim sendo, 3 dos 9 animais (33,3%) receberam apenas penicilina G como antibioterapia; a mesma percentagem (33,3%) recebeu penicilina G e doxiciclina; 1 paciente em 9 (11,1%) recebeu penicilina G, amoxicilina + ácido clavulânico e doxiciclina; 1 paciente em 9 (11,1%) recebeu ampicilina e amoxicilina + ácido clavulânico; 1 paciente (11,1%) recebeu metronidazol. Nenhum dos animais recebeu apenas doxiciclina como antibioterapia. Mais uma vez devo frisar que esta distribuição se refere apenas aos antibióticos utilizados na fase aguda da doença. O gráfico circular abaixo (Ilustração 7) torna mais fácil a compreensão da distribuição dos dados.



**Ilustração 7:** Gráfico circular representando a percentagem de pacientes que recebeu determinado antibiótico

A evolução dos casos foi variável. A evolução de 4 dos 9 animais (44,4%) foi boa, tendo sobrevivido e recuperado da doença, no entanto 5 dos 9 animais (55,6%) não tiveram uma boa evolução, tendo falecido ou sido eutanasiados. Dos 5 animais que faleceram, 2 foram eutanasiados (40%).

A relação entre a evolução dos casos e a terapia instituída é difícil de demonstrar, no entanto todos animais que receberam apenas penicilina G acabaram por falecer (100%). Dos 3 pacientes que receberam penicilina G e doxiciclina, apenas 1 sobreviveu (33,3%). Os 2 pacientes que receberam a associação de amoxicilina + ácido clavulânico juntamente com ampicilina ou penicilina G, tiveram uma boa evolução, recuperando da doença (100%). O paciente a que foi administrado metronidazol também recuperou e sobreviveu (100%). A amostra é demasiado diminuta e pouco uniforme para tirar uma conclusão correcta, no entanto a terapia recorrendo apenas à penicilina G parece pouco eficaz no tratamento e recuperação da doença. Por outro lado, nos casos em que foi adicionada a doxiciclina (considerada actualmente o antibiótico de eleição para a leptospirose) à penicilina G, a perspectiva não melhorou o quanto seria expectável. Talvez a explicação para este fenómeno seja a via de administração da doxiciclina (via oral), que poderá ter influenciado a sua eficácia nos pacientes em questão, tendo em conta que poderá ter existido uma possível diminuição da absorção pelo tracto gastrointestinal afectado pela doença. A administração da associação de amoxicilina + ácido clavulânico e ampicilina pareceu, em termos clínicos, a melhor opção terapêutica, correspondendo a uma melhoria do estado clínico do paciente num período de tempo relativamente curto, no entanto a amostra peca pelo seu número diminuto. Talvez a via de administração da ampicilina (IV) possa representar vantagem em relação à desvantagem já mencionada anteriormente da doxiciclina.

Uma das 'conclusões' mais importantes e interessantes que o estudo permitiu tem o seu foco nos serovares leptospirais. Todos os 9 casos estudados foram submetidos a um ou mais testes de aglutinação microscópica, permitindo a determinação dos serovares presentes na infecção. Embora o teste tenha algumas limitações a ter em conta, permite tirar algumas conclusões. A maioria dos animais apresentava no MAT títulos direccionados para vários serovares embora, de acordo com a bibliografia, seja raro existir infecção por mais do que um serovar concomitantemente – assim sendo, consideramos infectante o serovar para o qual o título de anticorpos é mais alto. De acordo com esta premissa, os principais serovares detectados foram o Bratislava e o Grippotyphosa. A maioria dos pacientes, 6 em 9 (66,7%) possuía títulos altos de anticorpos para o serovar Bratislava e, 2 dos 9 pacientes (22,2%) possuíam títulos elevados de anticorpos para o serovar Grippotyphosa. Apenas 1 paciente (11,1%) possuía um título elevado de anticorpos para um serovar diferente – Icterohaemorrhagiae. A conclusão que pode ser retirada destes números, embora pouco representativos, é que os serovares responsáveis pela maioria das infecções não são os serovares incluídos na vacinação contra a leptospirose disponível em Portugal. Tal como descrito na parte de epidemiologia do capítulo I, os serovares Bratislava

e Grippotyphosa têm vindo a aumentar a sua prevalência nos países europeus, e o panorama da situação em Beja parece corroborar essa realidade. O facto da maioria dos animais infectados serem cães com acesso ao exterior e de zonas rurais aumenta a probabilidade de contacto com os HM destes serovares. Outra conclusão que deve ser tida em consideração é a perspectiva vacinal. Embora a maioria dos animais estudados não apresentasse o plano vacinal actualizado, mesmo que o fizesse acabaria por não existir qualquer benefício, uma vez que a vacinação leptospiral canina em Portugal apenas engloba dois serovares e nenhum desses dois parece ser predominantemente responsável pela infecção, pelo menos no estudo efectuado em Beja. Dos animais estudados, apenas 1 apresentava um título de anticorpos elevado para um dos serovares contido na vacina – Icterohaemorrhagiae.

A questão que se coloca será se a vacinação é actualmente relevante para a protecção dos animais, uma vez que parece existir uma mudança e ocorrência de novos serovares, que não se encontram incluídos na vacina disponível no país. Poucos ou nenhuns estudos foram efectuados recentemente em Portugal acerca da prevalência de serovares leptospirais em canídeos. Um estudo mais aprofundado da doença e tentativas concorrentes de isolamento de serovares leptospirais em cães e animais silvestres (HM) favoreceriam um melhor entendimento da doença e possivelmente, uma boa argumentação para a possibilidade de inclusão de novos serovares na vacina, bem como a sua disponibilidade em Portugal, caso se mostrasse necessário. Outra vertente que beneficiaria com estudos mais pormenorizados da doença seria a terapêutica, uma vez que, no presente estudo, a mortalidade foi alta e a evolução do quadro clínico apresentou-se muitas vezes fulminante. Creio que a doença seja subestimada pelos médicos veterinários do nosso país, quando, na verdade, demonstra ser uma patologia não tão rara quanto se supõe e revelando-se, muitas vezes, impossível de reverter/tratar. Deveria existir uma maior sensibilização para a doença, englobando um aumento da prevenção e uma maior atenção por parte dos clínicos veterinários para a consideração da patologia nos seus diagnósticos diferenciais. Com um estudo mais cuidado da doença, englobando várias vertentes como a terapia de suporte e a sensibilidade aos antibióticos, poderia ser mais fácil a tarefa de tratar um animal leptospirótico.

# CAPÍTULO III – RESUMO DE CASOS DE LEPTOSPIROSE CANINA EM PORTUGAL

## 1.1 Objectivos

O objectivo deste capítulo foi a tentativa de compreensão do estatuto sanitário da leptospirose canina em Portugal. De acordo com o Capítulo II, que visou a descrição de casos da doença no concelho de Beja, foi concluído que o estatuto sanitário da leptospirose canina se encontra mal avaliado, sendo a sua ocorrência bastante mais comum do que seria de esperar. Tentou-se avaliar os principais sinais da doença, a sua correspondência com o estado vacinal e o habitat do animal, bem como a evolução do quadro clínico.

## 1.2 Materiais e métodos

O estudo englobou 14 dos 18 distritos de Portugal continental. Os 14 distritos avaliados no estudo foram: Viana do Castelo; Braga; Vila Real; Bragança; Porto; Aveiro; Viseu; Leiria; Santarém; Portalegre; Lisboa; Setúbal; Évora e Faro. Os restantes distritos não foram avaliados por impossibilidade de contacto ou, no caso do distrito de Beja, porque já havia sido avaliado no capítulo anterior.

Dentro dos distritos avaliados, foram escolhidos um ou mais centros de atendimento Médico-Veterinários (CAMV's) por distrito, de forma aleatória, através de pesquisa por internet.

Todos os CAMV's escolhidos previamente foram contactados por via telefónica para explicação do objectivo do estudo e pedido de participação no mesmo. Aos CAMV's que aceitaram participar no estudo foi enviado um questionário elaborado para recolha dos dados (Anexo III), bem como as instruções para preenchimento do mesmo.

Todos os questionários eram iguais, tendo como requisito, que apenas constassem os casos ocorridos no período de 1 de Janeiro de 2010 até 1 de Janeiro de 2011.

O estudo incluiu 18 animais (13 machos e 5 fêmeas), na sua maioria com idades superiores a 4 anos e estatura média-grande. A maior parte dos animais vivia em regime *outdoor* e o estado vacinal não estava actualizado.

### 1.3 Resultados e Discussão de Resultados

Aquando do contacto telefónico, alguns CAMV's relataram a inexistência de casos ocorridos no período de tempo em questão, e por isso permanece desconhecida a avaliação do estatuto da doença em determinados distritos. O número de casos obtidos, por distrito, encontra-se descrito na tabela seguinte (Tabela 37).

**Tabela 37: Número de casos de leptospirose, por distrito, no período de 01/01/2010 a 01/01/2011**

| <b>Distritos avaliados no estudo</b> | <b>Número de casos obtidos</b> |
|--------------------------------------|--------------------------------|
| Viana do Castelo                     | 0                              |
| Braga                                | 0                              |
| Vila Real                            | 0                              |
| Bragança                             | 0                              |
| Porto                                | 7                              |
| Aveiro                               | 4                              |
| Viseu                                | 1                              |
| Leiria                               | 1                              |
| Santarém                             | 0                              |
| Portalegre                           | 1                              |
| Lisboa                               | 3                              |
| Setúbal                              | 0                              |
| Évora                                | 5                              |
| Faro                                 | 0                              |

De acordo com os dados obtidos, embora sejam pouco objectivos, existe uma maior prevalência da doença no distrito do Porto, seguida do distrito de Évora. A região do Norte do país, representada no estudo por 7 distritos, é a que apresenta um maior número de casos de leptospirose canina, correspondendo a 13 dos 22 casos obtidos no estudo.

Dos 22 casos de canídeos obtidos no estudo, apenas 18 tiveram o diagnóstico de leptospirose confirmado, sendo os 4 restantes apenas suspeitos, em que não se obteve a confirmação do diagnóstico.

Dos 18 casos confirmados de leptospirose avaliados neste capítulo, 13 canídeos eram machos (72%) e os 5 restantes eram fêmeas (28%). Mais uma vez, como a bibliografia afirma, demonstra-se uma predisposição em canídeos machos (Gaschen, 2007). A idade dos animais e a estatura também corroboram a fonte bibliográfica, na medida em que 9 dos

18 casos (50%) tinham idades superiores a 4 anos, e apenas 7 dos 18 casos (39%) tinham idades inferiores a 4 anos, sendo que 2 casos não tinham informação acerca da idade do paciente. Em relação à estatura, 10 dos 18 casos (55,5%) pertenciam ao escalão médio-grande. O habitat do animal, que representa uma das vertentes mais importantes a considerar na predisposição para a infecção, também foi abordado no questionário. Como seria de esperar, 10 dos 18 casos (55,5%) eram animais *indoor/outdoor*, 7 dos 18 casos (39%) eram animais exclusivamente *outdoor* e, apenas 1 dos 18 casos (5,5%) tinha um regime exclusivamente *indoor*.

O estado vacinal representou o que já havia sido descrito no capítulo anterior, com a maioria dos animais a evidenciar um plano vacinal completamente desactualizado. A maioria dos casos, 11 em 18 (61,1%), não possuía um plano vacinal actualizado. Sendo que apenas 7 dos 18 casos (39%) o apresentavam.

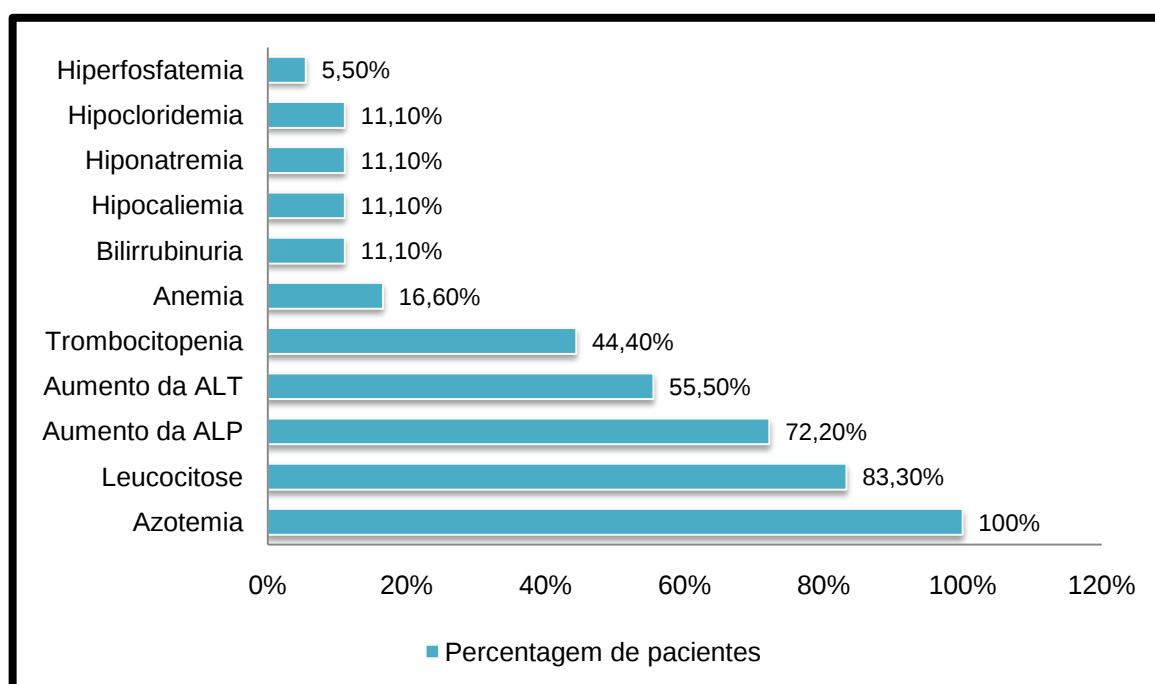
Os sinais clínicos dos 18 casos confirmados foram de encontro aos citados na bibliografia e aos apresentados pelos 9 casos estudados em pormenor no capítulo II. Os sinais clínicos principais e a percentagem de animais que os exibiu encontram-se descritos na tabela seguinte (Tabela 38).

**Tabela 38: Principais sinais clínicos apresentados pelos 18 casos obtidos no estudo**

| Sinal Clínico                          | Quantidade de pacientes | Percentagem de pacientes |
|----------------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Prostração                             | 13                      | 72,2%                    |
| Anorexia                               | 12                      | 66,6%                    |
| Icterícia                              | 6                       | 33,3%                    |
| Vómito                                 | 6                       | 33,3%                    |
| Desidratação                           | 5                       | 27,7%                    |
| Perda de peso                          | 4                       | 22,2%                    |
| Dor abdominal                          | 3                       | 16,6%                    |
| Hipotermia                             | 2                       | 11,1%                    |
| Hipertermia                            | 2                       | 11,1%                    |
| Alteração das fezes (sangue, diarreia) | 2                       | 11,1%                    |
| Dispneia                               | 1                       | 5,5%                     |
| Hematuria                              | 1                       | 5,5%                     |
| PU/PD                                  | 1                       | 5,5%                     |

Os principais sinais clínicos documentados nos 18 casos obtidos no estudo foram a prostração e anorexia, que são achados comuns de qualquer estado de doença. A icterícia, vômito, desidratação e perda de peso assumiram um papel mais marcante que o observado aquando do estudo do 9 casos do capítulo II. A hipertermia e hipotermia mostraram um valor de igualdade, o que não se verificou no capítulo II, uma vez que mais casos demonstraram hipotermia, possivelmente podendo ser explicada pela fase da doença em que o paciente se apresentava quando compareceu à consulta.

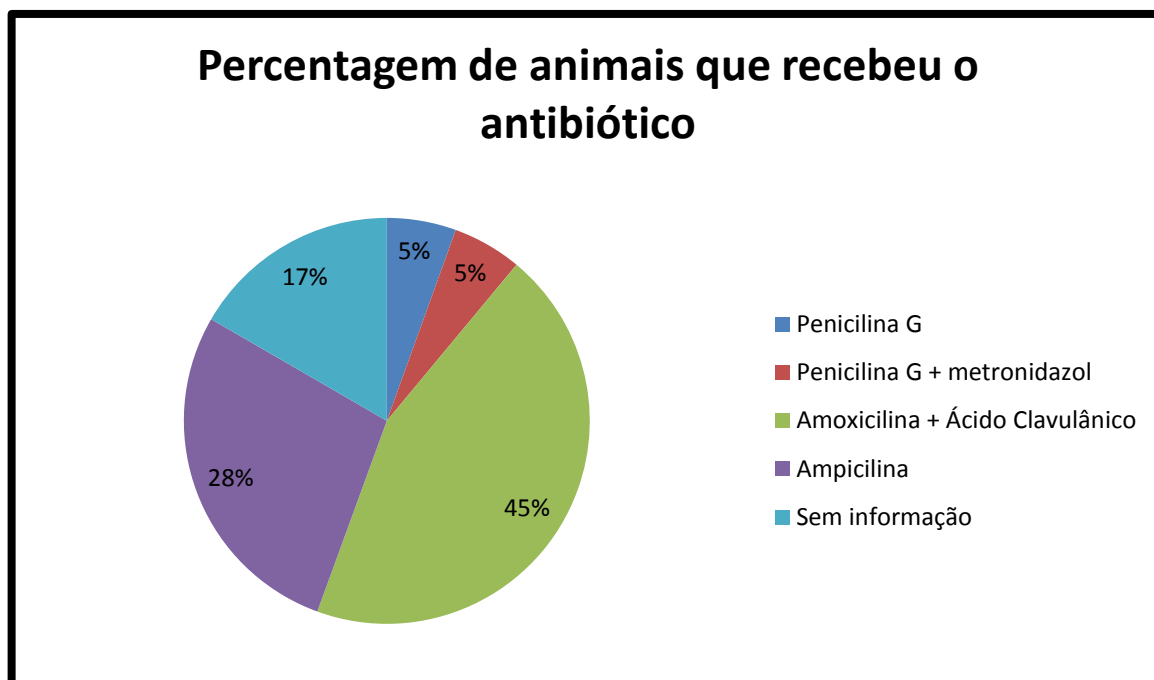
As alterações da patologia clínica também foram tidas em conta, e os resultados manifestaram uma concordância muito uniforme, quer com o que está descrito na bibliografia, quer com os resultados obtidos previamente no estudo do capítulo II. A azotemia continuou a ser o achado da patologia clínica mais comum, seguido de leucocitose, aumento das enzimas hepáticas e trombocitopenia. Os achados da patologia clínica e a percentagem de pacientes que os apresentou podem ser observados no gráfico seguinte (Ilustração 8).



**Ilustração 8:** Gráfico de barras representando a percentagem de pacientes que exibiu determinada alteração da patologia clínica

A terapêutica instituída em cada caso variou, de acordo com o protocolo de eleição de cada CAMV. Tal como no capítulo II, só será tido em conta a antibioterapia aplicada na fase aguda da doença. As escolhas terapêuticas executadas nos 18 animais obtidos no estudo, com diagnóstico confirmado de leptospirose foram: Penicilina G; associação de

penicilina G e metronidazol; amoxicilina + ácido clavulânico; ampicilina. Sendo ainda, de esclarecer, que 3 dos 18 casos (16,6%) não possuem informação acerca da terapêutica realizada. O gráfico circular abaixo (Ilustração 9) indica a percentagem de animais que recebeu determinado antibiótico.



**Ilustração 9:** Gráfico circular representando a percentagem de pacientes que recebeu determinado antibiótico

A evolução clínica dos casos estudados foi, na sua maioria favorável, com 10 dos 18 casos (55,5%) tendo sobrevivido à fase aguda da doença e recuperado o seu estado fisiológico. Por outro lado, 6 dos 18 casos (33,3%) não tiveram uma evolução favorável, tendo morrido ou sido eutanasiados. Convém enunciar que 2 dos 18 casos (11,1%) não possuem informação acerca da evolução do caso clínico.

Pode ser sugerida uma relação entre a terapêutica instituída e a evolução do caso clínico. Nos 18 casos obtidos para estudo, a terapêutica que esteve associada a uma maior percentagem de sobrevivência e recuperação da doença foi a amoxicilina + ácido clavulânico sendo que, 6 dos 8 pacientes (75%) que receberam este fármaco, sobreviveram à fase aguda e recuperaram da doença. A ampicilina também aparentou ser uma boa escolha, uma vez que 3 dos 5 pacientes (60%) que receberam o tratamento tiveram uma evolução clínica favorável. A associação de penicilina G e metronidazol, administrada a 1 paciente (100%), também resultou numa evolução clínica favorável. A penicilina G isolada foi administrada apenas a 1 paciente (100%), não sortindo o efeito desejado, uma vez que a evolução clínica foi desfavorável. Nenhum dos 18 pacientes recebeu doxiciclina na fase

aguda da doença, tornando impossível corroborar a bibliografia actual que descreve a mesma como o antibiótico de eleição na fase aguda e crónica da doença.

A informação acerca dos serovares, tal como foi apresentada no capítulo anterior, não foi possível de avaliar. Todos os 18 casos tiveram a sua confirmação através de serologia, no entanto apenas 2 casos apresentaram determinação de serovares. Dos 2 casos com discriminação de serovares, 1 caso (50%) possuía um título de anticorpos elevado direccionado para o serovar Pomona e, 1 caso (50%) possuía um título de anticorpos direccionado para o serovar Icterohaemorrhagiae.

Todos os factores a ter em conta, revelaram ser de acordo com o estudado no capítulo II, com uma apresentação dos estados clínicos dos pacientes bastante idêntica, com a mesma lacuna na área da vacinação e, felizmente, com melhores resultados em termos de evolução clínica. A informação em falta neste capítulo relacionada com os serovares infectantes, seria de muita importância para obter algumas conclusões, ajudando a relacionar a vacinação com a doença, bem como se esta seria benéfica, uma vez que caso se demonstrasse o mesmo fenómeno relatado no capítulo II, a vacinação não teria qualquer influência (pois os serovares infectantes não correspondem aos presentes na vacina). Por outro lado, sem a problemática da vacinação, os serovares poderiam ainda fornecer a informação do aumento da população de HM da leptospirose em Portugal, alertando para um maior cuidado, especialmente em cães de regime *outdoor* ou cães com um maior acesso a zonas rurais.

## CONCLUSÃO

A problemática que envolve a leptospirose canina é deveras importante. No decorrer do estudo apresentado, deparamo-nos com várias dificuldades que representam problemas importantes nos dias de hoje e, às quais devemos dar bastante relevância.

No estudo conseguiu-se sumarizar os principais sinais clínicos da doença apresentados por animais portugueses e, as alterações da patologia clínica a que devemos estar mais atentos. Embora toda esta informação se encontrasse previamente descrita na bibliografia, este estudo pretendeu alertar os profissionais de veterinária em Portugal, para alguns sinais menos evidentes que não levariam a colocar a doença entre os diagnósticos diferenciais efectuados. Existe alguma subestimação da ocorrência e importância da doença no país, por parte dos clínicos veterinários, o que faz com que esta seja subdiagnosticada. Ao ser subdiagnosticada, existe uma maior probabilidade de não pertencer a uma lista de diagnósticos diferenciais, mesmo quando existem sinais concordantes, visando que todo este processo seja um ciclo vicioso que não permite a verdadeira avaliação do estatuto sanitário da doença em Portugal.

Um dos principais problemas sugeridos pelo estudo está relacionado com a vacinação. A maioria dos pacientes infectados não possuía um programa vacinal cumprido e actualizado. Este problema é muito importante, não só pela sua influência na infecção por *Leptospira*, como pela demonstração da falha num dos principais ângulos de actuação do médico veterinário – a prevenção. Existem muitos proprietários não informados acerca do plano vacinal nacional, sendo que esta área necessita urgentemente de melhorias. Outra das hipóteses formuladas, indirectamente relacionada com a vacinação, terá sido o aparecimento de serovares menos comuns, como causa da infecção. A maioria dos pacientes estudados no capítulo II evidenciou infecção por serovares não contidos na vacinação actualmente disponível em Portugal, sendo alguns deles contidos na vacinação disponível noutros países. Isto suscita boas hipóteses para um estudo epidemiológico dos serovares existentes em Portugal, podendo concluir a sua verdadeira prevalência e, se será justificável a introdução de vacinas adequadas a estes serovares no mercado português.

Outra problemática será inserida na área terapêutica, onde parece existir uma heterogeneidade de respostas à antibioterapia. A terapêutica antimicrobiana *standardizada* para a leptospirose canina inclui a penicilina G, a qual não demonstrou um elevado grau de eficácia – como se pode observar em vários pacientes descritos no capítulo II. Por outro lado, uma maior sobrevivência foi observada em pacientes que receberam amoxicilina e

ácido clavulânico (descritos no capítulo III) quando esta associação não se encontra descrita como escolha para tratamento da leptospirose, em nenhuma bibliografia existente. Esta heterogeneidade de respostas e controvérsia, suscita uma boa hipótese passível de investigação nesta área, tentando compreender melhor a actuação da bactéria e por conseguinte, avaliar qual o melhor antibiótico para o seu combate. Creio que este estudo se demonstraria bastante benéfico, tendo em conta que o tratamento de um animal com leptospirose na fase aguda necessita de rapidez, não existindo muito tempo para avaliar respostas e fazer trocas de antibioterapia.

No capítulo III, ao tentar avaliar a ocorrência da doença em várias regiões do país, concluiu-se que a leptospirose em cães se manifesta com frequência. Este estudo coloca a hipótese de uma possível investigação a nível nacional incidindo na doença, que assume especial importância por se tratar de uma zoonose. Embora os animais apresentem mais frequentemente doença por estarem expostos a maiores factores de risco intrínsecos à sua qualidade de vida, também os humanos são susceptíveis de infecção resultando em doença grave. Com o papel que os cães assumem actualmente na vida humana, existindo e participando no dia-a-dia como parte da família, exige-se obrigatoriamente um cuidado elevado em relação à doença – uma vez que estes não só podem ser infectados, como também podem actuar como fonte de infecção. A realização de um estudo de prevalência/incidência da leptospirose canina em Portugal seria muito útil, como também a possível implementação de uma rede epidemiológica, permitindo conhecer o estatuto sanitário do país em relação à doença.

Todas as hipóteses formuladas, caso posteriormente estudadas, iriam revelar-se uma ferramenta muito útil para uma melhor avaliação da doença, com consequente melhor actuação ao nível da prevenção e tratamento.

## BIBLIOGRAFIA

- Adler, B., & Faine, S. (1978). The antibodies involved in the human immune response to leptospiral infection. *J Med Microbiol* , 11, 387-400.
- Adler, B., Cousins, D. V., Faine, S., & Robertson, G. M. (1982). Bovine IgM and IgG response to *Leptospira interrogans* serovar hardjo as measured by enzyme immunoassay. *Vet Microbiol* , 7, 577-85.
- Adler, H., Vonstein, S., Deplazes, P., Stieger, C., & Frei, R. (2002). Prevalence of *Leptospira* spp. in various species of small mammals caught in an inner-city area in Switzerland. *Epidemiol Infect* , 128(1), 107-9.
- Armitage, J. P. (1992). Behavioral responses in bacteria. *Annu Rev Physiol* , 54, 683-714.
- Azevedo, F. J. (1942). On the leptospira infection of dogs, in Lisbon. *Bull. Soc. Port. Sciences Naturelles* , 14, 23-24.
- Barr, S. C., McDonough, P. L., Scipioni-Ball, R. L., & Starr, J. K. (2005). Serologic responses of dogs given a commercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar pomona and *Leptospira kirschneri* serovar grippotyphosa. *Am J Vet Res* , 66, 1780-4.
- Bernheimer, A. W., & Bey, R. F. (1986). Copurification of *Leptospira interrogans* serovar pomona hemolysin and sphingomyelinase C. *Infect Immun* , 54, 262-4.
- Bharti, A. R., Nally, J. E., Ricaldi, J. N., Matthias, M. A., Diaz, M. M., Lovett, M. A., et al. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis* , 3, 757-71.
- Brenner, D. J., Kaufmann, A. F., Sulzer, K. R., Steigerwalt, A. G., Rogers, F. C., & Weyant, R. S. (1999). 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* , 49 Pt 2, 839-58.
- Brown, R. A., Blumberman, S., Gay, C., Bolin, C., Duby, R., & Baldwin, C. L. (2003). Comparison of three different leptospiral vaccines for induction of a type 1 immune response to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. *Vaccine* , 21, 4448-58.
- Burr, P., Lunn, K., & Yam, P. (2009). Current perspectives on canine leptospirosis. *In Practice* , 31, 98-102.
- Céspedes, M. (2005). Leptospirosis: Enfermedad Zoonótica Emergente. *Rev. Perú. med. exp. salud publica* , 22, 290-307.
- Collares-Pereira, M. (1992). Contribuição para o estudo do género *Leptospira* em Portugal. Lisboa: Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.
- Ellis, W. A. (2010). Control of canine leptospirosis in Europe: time for a change? *Vet Rec* , 167, 602-5.
- Faine, S. (1994). *Leptospira and leptospirosis*. CRC Press.
- Faine, S., & Adler, B. (2006). The Genus *Leptospira*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. Schleifer, & E. Stackebrandt, *The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria* (pp. 294-316). New York: Springer Science+Business Media,LLC.

- Faine, S., Adler, B., & Ruta, G. (1974). A mechanism of immunity to leptospirosis. *Aust J Exp Biol Med Sci* , 52, 301-10.
- Farrelly, H. E., Adler, B., & Faine, S. (1987). Opsonic monoclonal antibodies against lipopolysaccharide antigens of *Leptospira interrogans* serovar hardjo. *J Med Microbiol* , 23, 1-7.
- Fraga, T. R., Barbosa, A. S., & Isaac, L. (2011). Leptospirosis: aspects of innate immunity, immunopathogenesis and immune evasion from the complement system. *Scand J Immunol* , 73, 408-19.
- Francey, T. (2010). Canine Leptospirosis and Its Challenges. *World Small Animal Veterinary Association World Congress*. Genebra, Suíça.
- Gaschen, F. (2007). Canine leptospirosis - A persisting challenge. *The North American Veterinary Conference*. Orlando, Florida.
- Greenlee, J. J., Alt, D. P., Bolin, C. A., Zuerner, R. L., & Andreasen, C. B. (2005). Experimental canine leptospirosis caused by *Leptospira interrogans* serovars pomona and bratislava. *Am J Vet Res* , 66, 1816-22.
- Haake, D. A. (2000). Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology* , 146 Pt 7, 1491-504.
- Haake, D. A., Champion, C. I., Martinich, C., Shang, E. S., Blanco, D. R., Miller, J. N., et al. (1993). Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding OmpL1, a transmembrane outer membrane protein of pathogenic *Leptospira* spp. *J Bacteriol* , 175, 4225-34.
- Haake, D. A., Chao, G., Zuerner, R. L., Barnett, J. K., Barnett, D., Mazel, M., et al. (2000). The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection. *Infect Immun* , 68, 2276-85.
- Haake, D. A., Martinich, C., Summers, T. A., Shang, E. S., Pruetz, J. D., McCoy, A. M., et al. (1998). Characterization of leptospiral outer membrane lipoprotein LipL36: downregulation associated with late-log-phase growth and mammalian infection. *Infect Immun* , 66, 1579-87.
- Haake, D. A., Mazel, M. K., McCoy, A. M., Milward, F., Chao, G., Matsunaga, J., et al. (1999). Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and LipL41 exhibit synergistic immunoprotection. *Infect Immun* , 67, 6572-82.
- Harkin, K. R. (2008). Leptospirosis. In J. Bonagura, & D. Twedt, *Kirk's Current Veterinary Therapy XIV* (pp. 1237-1240). Elsevier Saunders.
- Hartman, E. G., van Houten, M., van der Donk, J. A., & Frik, J. F. (1984). Determination of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in sera of experimentally infected dogs by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet Immunol Immunopathol* , 7, 43-51.
- Holt, S. C. (1978). Anatomy and chemistry of spirochetes. *Microbiol Rev* , 42, 114-160.
- Hübener, E. A., & Reiter, H. (1915). Beiträge zur Aetiologie der Weilschen Krankheit. *Dtsch. Med. Wochenschr* , 41, 1275-1277.
- Ido, Y., Hoki, R., Ito, H., & Wani, H. (1917). The Rat as a Carrier of *Spirochaeta Icterohaemorrhagiae*, the Causative Agent of Weil's Disease (*Spirochaetosis Icterohaemorrhagica*). *J Exp Med* , 26, 341-353.

- Inada, R., & Ido, Y. (1915). A report on the discovery of the causal organism (a new species of Spirochaeta) of Weil's Disease. *Tokyo Ijishinshi (Tokyo Medical Journal)* , 1908, 351-360.
- Inada, R., Ido, Y., Hoki, R., Kaneko, R., & Ito, H. (1915). Spirochaetosis icterohaemorrhagica. The etiology, morbid anatomy, pathology, symptoms, diagnosis, prophylaxis and treatment. *Nisshin Igaku* , 5, 1-277.
- Inada, R., Ido, Y., Hoki, R., Kaneko, R., & Ito, H. (1916). The Etiology, Mode of infection, and Specific Therapy of Weil's Disease (Spirochaetosis Icterohaemorrhagica). *J Exp Med* , 23, 377-402.
- Isogai, E., Isogai, H., Fujii, N., & Oguma, K. (1990). Macrophage activation by leptospiral lipopolysaccharide. *Zentralbl Bakteriell* , 273, 200-8.
- Isogai, E., Isogai, H., Kubota, T., Fujii, N., Hayashi, S., Indoh, T., et al. (1998). Apoptosis of lymphocytes in mice administered lipopolysaccharide from *Leptospira interrogans*. *Zentralbl Veterinarmed B* , 45, 529-37.
- Jansen, A., Luge, E., Guerra, B., Wittschen, P., Gruber, A. D., Loddenkemper, C., et al. (2007). Leptospirosis in urban wild boars, Berlin, Germany. *Emerg Infect Dis* , 13, 739-42.
- Jones, T., Hunt, R., & King, N. (1997). Diseases caused by bacteria - Leptospirosis. In T. Jones, R. Hunt, & N. King, *Veterinary Pathology* (pp. 467-473). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Jost, B. H., Adler, B., Vinh, T., & Faine, S. (1986). A monoclonal antibody reacting with a determinant on leptospiral lipopolysaccharide protects guinea pigs against leptospirosis. *J Med Microbiol* , 22, 269-75.
- Kelson, J. S., Adler, B., Chapman, A. J., & Faine, S. (1988). Identification of leptospiral flagellar antigens by gel electrophoresis and immunoblotting. *J Med Microbiol* , 26, 47-53.
- Klopfleisch, R., Kohn, B., Plog, S., Weingart, C., Nockler, K., Mayer-Scholl, A., et al. (2010). An emerging pulmonary haemorrhagic syndrome in dogs: similar to the human leptospiral pulmonary haemorrhagic syndrome? *Vet Med Int* , 928541.
- Ko, A. I., Goarant, C., & Picardeau, M. (2009). *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat Rev Microbiol* , 7, 736-47.
- Lee, S. H., Kim, S., Park, S. C., & Kim, M. J. (2002). Cytotoxic activities of *Leptospira interrogans* hemolysin SphH as a pore-forming protein on mammalian cells. *Infect Immun* , 70, 315-22.
- Letocart, M., Boerlin, P., Boerlin-Petzold, F., Goudet, J., Baranton, G., & Perolat, P. (1999). Genetic structure of the genus *Leptospira* by multilocus enzyme electrophoresis. *Int. J. Syst. Bacteriol.* , 49, 231-238.
- Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* , 14, 296-326.
- Li, C., Motaleb, A., Sal, M., Goldstein, S. F., & Charon, N. W. (2000). Spirochete periplasmic flagella and motility. *J Mol Microbiol Biotechnol* , 2, 345-54.
- McGrath, H., Adler, B., Vinh, T., & Faine, S. (1984). Phagocytosis of virulent and avirulent leptospire by guinea-pig and human polymorphonuclear leukocytes in vitro. *Pathology* , 16, 243-9.

Naiman, B. M., Alt, D., Bolin, C. A., Zuerner, R., & Baldwin, C. L. (2001). Protective killed *Leptospira borgpetersenii* vaccine induces potent Th1 immunity comprising responses by CD4 and gamma delta T lymphocytes. *Infect Immun* , 69, 7550-8.

Noel, R., & Latimer, K. (2000). *An Overview of Canine Leptospirosis*. Obtido em Março de 2011, de <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/noel/index.php>

*Overview of the leptospira bacterium itself*. (2004-2009). Obtido em Março de 2011, de The Leptospirosis Information Center: <http://www.leptospirosis.org>

Perolat, P., Chappel, R. J., Adler, B., Baranton, G., Bulach, D. M., Billinghamurst, M. L., et al. (1998). *Leptospira fainei* sp. nov., isolated from pigs in Australia. *Int J Syst Bacteriol* , 48 Pt 3, 851-8.

Postic, D., Riquelme-Sertour, N., Merien, F., Perolat, P., & Baranton, G. (2000). Interest of partial 16S rDNA gene sequences to resolve heterogeneities between *Leptospira* collections: application to *L. meyeri*. *Res Microbiol* , 151, 333-41.

Ramadass, P., Jarvis, B. D., Corner, R. J., Penny, D., & Marshall, R. B. (1992). Genetic characterization of pathogenic *Leptospira* species by DNA hybridization. *Int J Syst Bacteriol* , 42, 215-9.

*Research project - Leptospirosis and leptospires*. (s.d.). Obtido em Março de 2011, de Institut Pasteur: <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/en/research/scientific-departments/microbiology/units-and-groups/biology-of-spirochetes/research-project>

Ribotta, M. J., Higgins, R., Gottschalk, M., & Lallier, R. (2000). Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of leptospiral antibodies in dogs. *Can J Vet Res* , 64, 32-7.

Rocha, M. T. (2004). *Leptospirose equina em Portugal; Estudos sorológicos, imunológicos e microbiológicos*. *Dissertação de Doutoramento* . Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

Rojas, P., Monahan, A. M., Schuller, S., Miller, I. S., Markey, B. K., & Nally, J. E. (2010). Detection and quantification of leptospires in urine of dogs: a maintenance host for the zoonotic disease leptospirosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* , 29, 1305-9.

Shimizu, T., Matsusaka, E., Takayanagi, K., Masuzawa, T., Iwamoto, Y., Morita, T., et al. (1987). Biological activities of lipopolysaccharide-like substance (LLS) extracted from *Leptospira interrogans* serovar canicola strain Moulton. *Microbiol Immunol* , 31, 727-35.

Stimson, A. M. (1907). Note on an organism found in yellow-fever tissue. *Public Health Reports* , 22, 541.

Sykes, J. E., Hartmann, K., Lunn, K. F., Moore, G. E., Stoddard, R. A., & Goldstein, R. E. (2011). 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. *J Vet Intern Med* , 25, 1-13.

Trueba, G. A., Bolin, C. A., & Zuerner, R. L. (1992). Characterization of the periplasmic flagellum proteins of *Leptospira interrogans*. *J Bacteriol* , 174, 4761-8.

Uhlenhuth, P., & Fromme, W. (1915). Experimentelle Untersuchungen über die sogenannte Weilsche Krankheit (ansteckende Gelbsucht). *Med. Klin.* , 44, 1202-1203.

Vinh, T., Adler, B., & Faine, S. (1986). Glycolipoprotein cytotoxin from *Leptospira interrogans* serovar copenhageni. *J Gen Microbiol* , 132, 111-23.

- Wang, B., Sullivan, J., Sullivan, G. W., & Mandell, G. L. (1984a). Interaction of leptospires with human polymorphonuclear neutrophils. *Infect Immun* , 44, 459-64.
- Wang, B., Sullivan, J., Sullivan, G. W., & Mandell, G. L. (1984b). Role of specific antibody in interaction of leptospires with human monocytes and monocyte-derived macrophages. *Infect Immun* , 46, 809-13.
- Weil, A. (1886). Über eine eigenthümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende, acute Infektionskrankheit. *Deutsches Archiv für klinische Medicin* , 39, 209-232.
- Wolgemuth, C. W., Charon, N. W., Goldstein, S. F., & Goldstein, R. E. (2006). The flagellar cytoskeleton of the spirochetes. *J Mol Microbiol Biotechnol* , 11, 221-7.
- Yam, P. A., Miller, N. G., & White, R. J. (1970). A leptospiral factor producing a cytopathic effect on L cells. *J Infect Dis* , 122, 310-7.
- Yanagihara, Y., Kojima, T., & Mifuchi, I. (1982). Hemolytic activity of *Leptospira interrogans* serovar canicola cultured in protein-free medium. *Microbiol Immunol* , 26, 547-56.
- Yasuda, P. H., Hoshino-Shimizu, S., Yamashiro, E. H., & De Brito, T. (1986). Experimental leptospirosis (*L. interrogans* serovar icterohaemorrhagiae) of the guinea pig: leptospiral antigen, gamma globulin and complement C3 detection in the kidney. *Exp Pathol* , 29, 35-43.
- Yasuda, P. H., Steigerwalt, A. G., Sulzer, K., Kaufmann, A., Rogers, F., & Brenner, D. (1987). Deoxyribonucleic Acid Relatedness between Serogroups and Serovars in the Family Leptospiraceae with Proposals for Seven New *Leptospira* Species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* , 37, 407-415.

## ANEXOS

Anexo 1 – Análises serológicas dos casos clínicos apresentados no Capítulo II

Anexo 2 – Questionário formulado para permitir a recolha de dados dos vários CAMV's, descrito no Capítulo III

## Anexo 1 – Análises serológicas dos casos clínicos apresentados no Capítulo II

### 1.1 Resultados da serologia do 'Kaskai' (30/09/2010);

| IDEXX<br>LABORATORIES                                                                                                                                            |  | Vet Lab<br>LABORATORIOS              |                  |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------------------------------|------------------|
| PROPIETARIO: [REDACTED]                                                                                                                                          |  | HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO<br>(1282) |                  |
| NOMBRE ANIMAL: KAISKAI                                                                                                                                           |  | RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6         |                  |
| NUMERO DE MUESTRA: 467599                                                                                                                                        |  | 7800-386                             |                  |
| FECHA RECEPCION: 28/09/2010                                                                                                                                      |  | BEJA-PORTUGAL                        |                  |
| FECHA EMISION: 30/09/2010                                                                                                                                        |  |                                      |                  |
|                                                                                                                                                                  |  | Resultado                            | Val. Ref.        |
| <b>SEROLOGIA CANINA</b>                                                                                                                                          |  |                                      |                  |
| Ao ERLICHIA CANIS<br>IFI                                                                                                                                         |  | NEGATIVO                             | -                |
| Valores hasta 1/40 pueden ser producidos por la enfermedad o ser el resultado de reacciones inespecificas.<br>Valores superiores a 1/40 se consideran positivos. |  |                                      |                  |
| LEPTOSPIROSIS MAR                                                                                                                                                |  | SEROVAR                              | RESULT.VAL.REF.  |
|                                                                                                                                                                  |  | Bratislava                           | 1:800 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                  |  | CopenhagenI                          |                  |
|                                                                                                                                                                  |  | (Icterohemorragica)                  | 1:200 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                  |  | Australis                            | Negativo < 1/100 |
|                                                                                                                                                                  |  | Pomona                               | 1:200 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                  |  | Grippotyphosa                        | 1:1600 < 1/100   |
|                                                                                                                                                                  |  | Autumnalis                           | 1:100 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                  |  | Canicola                             | Negativo < 1/100 |
|                                                                                                                                                                  |  | Saxkoeb                              | Negativo < 1/100 |
| Microagglutination test                                                                                                                                          |  |                                      |                  |
| Muestra 467599 , Fecha 28/09/2010 KAISKAI [REDACTED] Página 1 de 1                                                                                               |  |                                      |                  |

## 1.2 Resultados da serologia do 'Óscar' (14/12/2010);

|                                                                                   |  |                                                                                     |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--|
|  |  |  |  |
| <b>PROPIETARIO:</b> [REDACTED]                                                    |  | <b>HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO</b>                                                   |  |
| <b>NOMBRE ANIMAL:</b> OSCAR                                                       |  | <b>(1282)</b>                                                                       |  |
| <b>NUMERO DE MUESTRA:</b> 487519                                                  |  | <b>RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6</b>                                                 |  |
| <b>FECHA RECEPCION:</b> 10/12/10                                                  |  | <b>7800-386</b>                                                                     |  |
| <b>FECHA EMISION:</b> 14/12/2010                                                  |  | <b>BEJA-PORTUGAL</b>                                                                |  |

|                          | Resultado         | Val. Ref. |
|--------------------------|-------------------|-----------|
| <b>SEROLOGIA</b>         |                   |           |
| <b>LEPTOSPIROSIS MAR</b> |                   |           |
| SEROVAR                  | . RESULT.VAL.REF. |           |
| Bratislava               | 1/1600            | < 1/100   |
| Copenhageni              |                   |           |
| (heterohemagglut)        | 1/100             | < 1/100   |
| Australis                | Negativo          | < 1/100   |
| Pomona                   | 1/400             | < 1/100   |
| Gripptypophosa           | 1/200             | < 1/100   |
| Autumnalis               | 1/100             | < 1/100   |
| Canicola                 | Negativo          | < 1/100   |
| Saxkoeb                  | Negativo          | < 1/100   |
| Microagglutination test  |                   |           |

|                                 |                  |               |
|---------------------------------|------------------|---------------|
| Muestra 487519 , Fecha 10/12/10 | OSCAR [REDACTED] | Página 1 de 1 |
|---------------------------------|------------------|---------------|

### 1.3 Resultados da serologia do 'Kokki' (29/12/2010);




PROPIETARIO: XXXXXXXXXX  
NOMBRE ANIMAL: KOKKI  
NUMERO DE MUESTRA: 491140  
FECHA RECEPCION: 23/12/10  
FECHA EMISION: 29/12/2010

HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO  
(1282)  
RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6  
7800-386  
BEJA-PORTUGAL

|                              | Resultado       | Val. Ref. |
|------------------------------|-----------------|-----------|
| <b>SEROLOGIA</b>             |                 |           |
| <b>LEPTOSPIROSIS MAR</b>     |                 |           |
| SEROVAR                      | RESULT.VAL.REF. |           |
| Bratislava                   | 1/800           | < 1/100   |
| Copenhageni                  |                 |           |
| (Icterohemorragica)          | 1/100           | < 1/100   |
| Australis                    | Negativo        | < 1/100   |
| Pomona                       | 1/400           | < 1/100   |
| Gripptophosa                 | 1/1600          | < 1/100   |
| Autumnalis                   | Negativo        | < 1/100   |
| Canicola                     | Negativo        | < 1/100   |
| Saxkoeb                      | Negativo        | < 1/100   |
| Microagglutination test      |                 |           |
| <b>SEROLOGIA CANINA</b>      |                 |           |
| Ao BABESIA                   | NEGATIVO        | < 1/40    |
| Imunofluorescencia indirecta |                 |           |

Valores entre 1/32 y 1/64 pueden ser producidos por la enfermedad o ser el resultado de reacciones inespecificas.

Valores superiores a 1/64 se consideran positivos.

Muestra 491140 , Fecha 23/12/10
KOKKI XXXXXXXXXX
Página 1 de 1

#### 1.4 Resultados da serologia da 'Traquina' (31/12/2010);

|                                                                                   |                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |
| PROPIETARIO: [REDACTED]                                                           | HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO                                                          |
| NOMBRE ANIMAL: TRAQUINA                                                           | (1282)                                                                              |
| NUMERO DE MUESTRA: 492146                                                         | RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6                                                        |
| FECHA RECEPCION: 29/12/10                                                         | 7800-386                                                                            |
| FECHA EMISION: 31/12/2010                                                         | BEJA-PORTUGAL                                                                       |

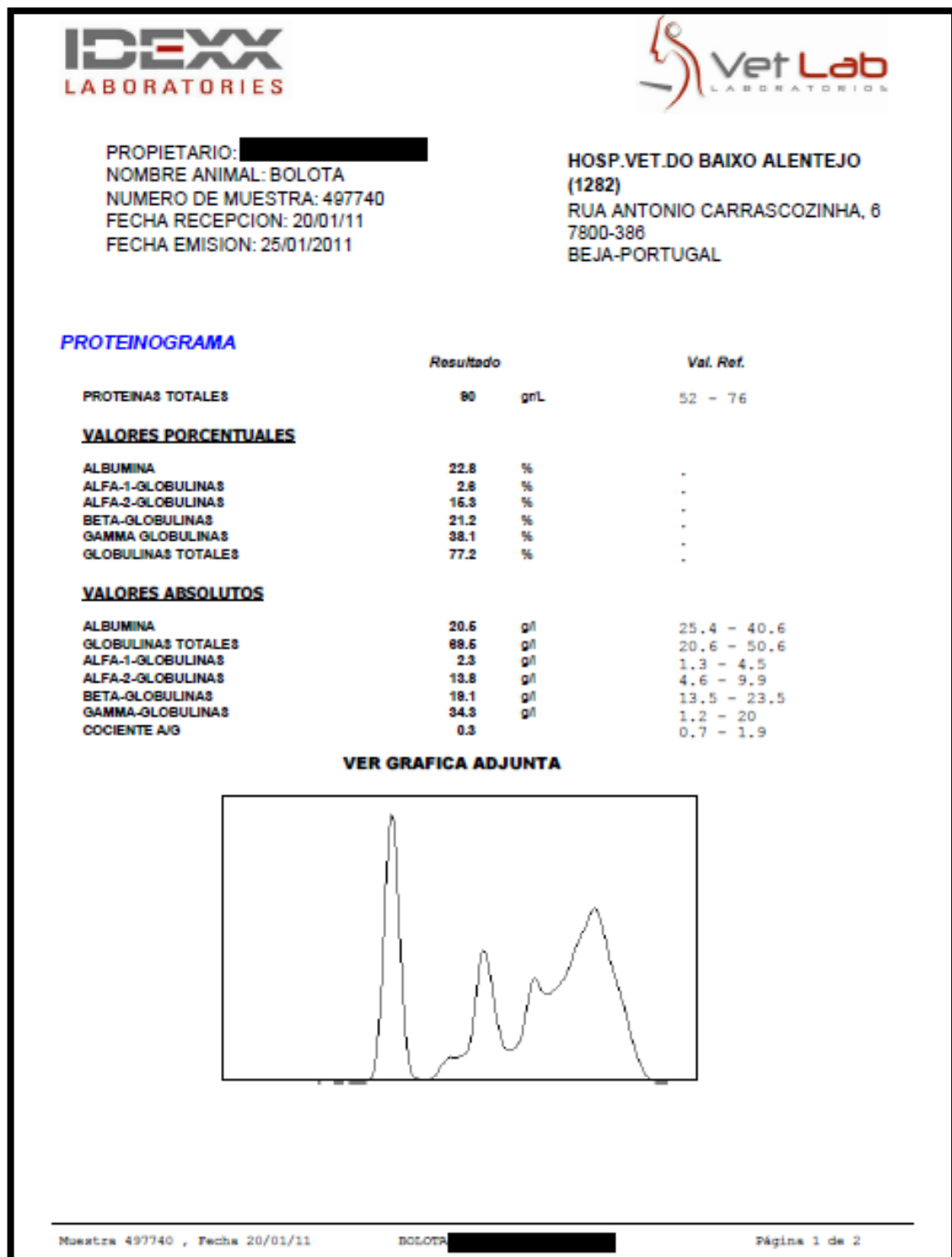
|                          | Resultado | Val. Ref. |
|--------------------------|-----------|-----------|
| <b>SEROLOGIA</b>         |           |           |
| <b>LEPTOSPIROSIS MAR</b> |           |           |
| SEROVAR                  | RESULT.   | VAL.REF.  |
| Bratislava               | 1/800     | < 1/100   |
| Copenhageni              |           |           |
| (Icterohemorragica)      | 1/800     | < 1/100   |
| Australis                | Negativo  | < 1/100   |
| Pomona                   | Negativo  | < 1/100   |
| Grippotyphosa            | Negativo  | < 1/100   |
| Autumnalis               | Negativo  | < 1/100   |
| Canicola                 | Negativo  | < 1/100   |
| Saxkoeb                  | Negativo  | < 1/100   |
| Microagglutination test  |           |           |

---

|                                 |                     |               |
|---------------------------------|---------------------|---------------|
| Muestra 492146 , Fecha 29/12/10 | TRAQUINA [REDACTED] | Página 1 de 1 |
|---------------------------------|---------------------|---------------|

## 1.5 Resultados da serologia da 'Bolota' (25/01/2011);



Resultado

Val. Ref.

**SEROLOGIA CANINA**

Ag LEISHMANIA  
IFI

1/160

-

Valores de normalidad se consideran de ausencia de título a 1/40.  
Valores de 1/80 se consideran dudosos.  
Valores superiores a 1/160 se consideran seropositivos

**SEROLOGIA**

LEPTOSPIROSIS MAR

SEROVAR . RESULT. VAL. REF.

Bratislava 1/400 < 1/100

CopenhagenI

(Icterohemorragica) Negativo < 1/100

Australis . Negativo . < 1/100

Pomona . 1/200 . < 1/100

Grippotyphosa Negativo . < 1/100

Autumnalis . Negativo . < 1/100

Canicola . Negativo . < 1/100

Saxkoeb . Negativo . < 1/100

Microagglutination test

## 1.6 Resultados da serologia da 'Libelinha' (11/02/2011);

|                                                                                                                                            |                                                                                                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                           |                |
| PROPIETARIO: [REDACTED]<br>NOMBRE ANIMAL: LIBELINHA<br>NUMERO DE MUESTRA: 504205<br>FECHA RECEPCION: 10/02/11<br>FECHA EMISION: 11/02/2011 | HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO<br>(1282)<br>RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6<br>7800-386<br>BEJA-PORTUGAL |

|                          | Resultado | Val. Ref. |
|--------------------------|-----------|-----------|
| <b>SEROLOGIA</b>         |           |           |
| <b>LEPTOSPIROSIS MAR</b> |           |           |
| SEROVAR                  | RESULT.   | VAL.REF.  |
| Bratislava               | Negativo  | < 1/100   |
| Copenhageni              |           |           |
| (Icterohemorragica)      | Negativo  | < 1/100   |
| Australis                | Negativo  | < 1/100   |
| Pomona                   | Negativo  | < 1/100   |
| Grippotyphosa            | Negativo  | < 1/100   |
| Autumnalis               | Negativo  | < 1/100   |
| Canicola                 | Negativo  | < 1/100   |
| Saxkoeb                  | Negativo  | < 1/100   |
| Microagglutination test  |           |           |

|                                 |                      |               |
|---------------------------------|----------------------|---------------|
| Muestra 504205 , Fecha 10/02/11 | LIBELINHA [REDACTED] | Página 1 de 1 |
|---------------------------------|----------------------|---------------|

### 1.7 Resultados da serologia do 'Júnior' (27/01/2011);

|                                                                                                                                                                                                     |  |                                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
|                                                                                                                    |  |                |           |
| PROPIETARIO: <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span><br>NOMBRE ANIMAL: JUNIOR<br>NUMERO DE MUESTRA: 500393<br>FECHA RECEPCION: 25/01/11<br>FECHA EMISION: 27/01/2011 |  | HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO<br>(1282)<br>RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6<br>7800-386<br>BEJA-PORTUGAL |           |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Resultado                                                                                         | Val. Ref. |
| <b>SEROLOGIA</b>                                                                                                                                                                                    |  |                                                                                                   |           |
| LEPTOSPIROSIS MAR                                                                                                                                                                                   |  | SEROVAR . RESULT.VAL.REF.                                                                         |           |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Bratislava 1/400                                                                                  | < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Copenhageni                                                                                       |           |
|                                                                                                                                                                                                     |  | (Icterohemorragica) 1/800                                                                         | < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Australis . Negativo .                                                                            | < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Pomona . Negativo .                                                                               | < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Grippotyphosa . Negativo .                                                                        | < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Autumnalis . Negativo .                                                                           | < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Canicola . Negativo .                                                                             | < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                     |  | Saxkoeb . Negativo .                                                                              | < 1/100   |
| Microagglutination test                                                                                                                                                                             |  |                                                                                                   |           |

---

|                                 |                                                                               |               |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Muestra 500393 , Fecha 25/01/11 | JUNIOR <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span> | Página 1 de 1 |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|---------------|

## 1.8 Resultados da serologia do 'Baltazar' (17/02/2011);

|                                                                                   |  |                                                                                     |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--|
|  |  |  |  |
| <b>PROPIETARIO:</b> [REDACTED]                                                    |  | <b>HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO</b>                                                   |  |
| <b>NOMBRE ANIMAL:</b> BALTAZAR                                                    |  | <b>(1282)</b>                                                                       |  |
| <b>NUMERO DE MUESTRA:</b> 505282                                                  |  | <b>RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6</b>                                                 |  |
| <b>FECHA RECEPCION:</b> 15/02/11                                                  |  | <b>7800-386</b>                                                                     |  |
| <b>FECHA EMISION:</b> 17/02/2011                                                  |  | <b>BEJA-PORTUGAL</b>                                                                |  |

|                          | Resultado | Val. Ref. |
|--------------------------|-----------|-----------|
| <b>SEROLOGIA</b>         |           |           |
| <b>LEPTOSPIROSIS MAR</b> |           |           |
| SEROVAR                  | RESULT.   | VAL.REF.  |
| Bratislava               | 1/3200    | < 1/100   |
| Copenhageni              |           |           |
| (icterohemorragica)      | 1/800     | < 1/100   |
| Australis                | 1/800     | < 1/100   |
| Pomona                   | 1/800     | < 1/100   |
| Grippotyphosa            | 1/100     | < 1/100   |
| Autumnalis               | 1/400     | < 1/100   |
| Canicola                 | Negativo  | < 1/100   |
| Saxkoeb                  | Negativo  | < 1/100   |
| Microagglutination test  |           |           |

|                                 |                     |               |
|---------------------------------|---------------------|---------------|
| Muestra 505282 , Fecha 15/02/11 | BALTAZAR [REDACTED] | Página 1 de 1 |
|---------------------------------|---------------------|---------------|

|                                                                                                                                                                                                    |  |                                                                                                   |                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
|                                                                                                                   |  |                |                  |
| PROPIETARIO: <span style="background-color: black; color: black;">XXXXXXXXXX</span><br>NOMBRE ANIMAL: DINGO<br>NUMERO DE MUESTRA: 505281<br>FECHA RECEPCION: 15/02/11<br>FECHA EMISION: 17/02/2011 |  | HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO<br>(1282)<br>RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6<br>7800-386<br>BEJA-PORTUGAL |                  |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Resultado                                                                                         | Val. Ref.        |
| <b>SEROLOGIA</b>                                                                                                                                                                                   |  |                                                                                                   |                  |
| LEPTOSPIROSIS MAR                                                                                                                                                                                  |  | SEROVAR                                                                                           | RESULT.VAL.REF.  |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Bratislava                                                                                        | 1/3200 < 1/100   |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Copenhageni                                                                                       |                  |
|                                                                                                                                                                                                    |  | (icterohemorragica)                                                                               | 1/800 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Australis                                                                                         | 1/800 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Pomona                                                                                            | 1/800 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Grippotyphosa                                                                                     | 1/100 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Autumnalis                                                                                        | 1/400 < 1/100    |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Canicola                                                                                          | Negativo < 1/100 |
|                                                                                                                                                                                                    |  | Saxkoeb                                                                                           | Negativo < 1/100 |
| Microagglutination test                                                                                                                                                                            |  |                                                                                                   |                  |
| <hr/> Muestra 505281 , Fecha 15/02/11 <span style="float: right;">Página 1 de 1</span>                                                                                                             |  |                                                                                                   |                  |

## 1.10 Resultados da serologia do 'Handek' (17/03/2011);

|                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                       |                                                               |
| <p>PROPIETARIO: [REDACTED]<br/>         NOMBRE ANIMAL: HANDEK<br/>         NUMERO DE MUESTRA: 511622<br/>         FECHA RECEPCION: 15/03/11<br/>         FECHA EMISION: 17/03/2011</p> | <p>HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO<br/>         (1282)<br/>         RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6<br/>         7800-386<br/>         BEJA-PORTUGAL</p> |

|  |                  |                  |
|--|------------------|------------------|
|  | <i>Resultado</i> | <i>Val. Ref.</i> |
|--|------------------|------------------|

**SEROLOGIA**

LEPTOSPIROSIS MAR

|  |                     |                  |
|--|---------------------|------------------|
|  | SEROVAR             | RESULT.VAL.REF.  |
|  | Bratislava          | >1/8400 < 1/100  |
|  | Copenhageni         |                  |
|  | (icterohemorragica) | 1/100 < 1/100    |
|  | Australis           | 1/200 < 1/100    |
|  | Pomona              | 1/320 < 1/100    |
|  | Grippotyphosa       | 1/8400 < 1/100   |
|  | Autumnalis          | 1/800 < 1/100    |
|  | Canicola            | Negativo < 1/100 |
|  | Saxkoeb             | Negativo < 1/100 |

Microagglutination test


---

|                                 |                   |               |
|---------------------------------|-------------------|---------------|
| Muestra 511622 , Fecha 15/03/11 | HANDEK [REDACTED] | Página 1 de 1 |
|---------------------------------|-------------------|---------------|

## 1.11 Resultados da serologia do 'Handek' (08/04/2011);

|                                                                                                                                         |                                                                                                   |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IDEXX</b><br>LABORATORIES                                                                                                            |                |
| PROPIETARIO: [REDACTED]<br>NOMBRE ANIMAL: HANDEK<br>NUMERO DE MUESTRA: 516884<br>FECHA RECEPCION: 05/04/11<br>FECHA EMISION: 08/04/2011 | HOSP.VET.DO BAIXO ALENTEJO<br>(1282)<br>RUA ANTONIO CARRASCOZINHA, 6<br>7800-386<br>BEJA-PORTUGAL |

|                         | Resultado                    | Val. Ref. |
|-------------------------|------------------------------|-----------|
| <b>SEROLOGIA</b>        |                              |           |
| LEPTOSPIROSIS MAR       | SEROVAR . RESULT.VAL.REF.    |           |
|                         | Bratislava 1/3200            | < 1/100   |
|                         | Copenhagen                   |           |
|                         | (Icterohemorragica) Negativo | < 1/100   |
|                         | Australis . Negativo .       | < 1/100   |
|                         | Pomona . 1/200 .             | < 1/100   |
|                         | Gripptypophosa 1/3200 .      | < 1/100   |
|                         | Canicola . Negativo .        | < 1/100   |
|                         | Saxkoeb . Negativo .         | < 1/100   |
| Microagglutination test |                              |           |

|                                 |                   |               |
|---------------------------------|-------------------|---------------|
| Muestra 516884 , Fecha 05/04/11 | HANDEK [REDACTED] | Página 1 de 1 |
|---------------------------------|-------------------|---------------|

## Anexo 2 – Questionário formulado para permitir a recolha de dados dos vários CAMV's, descrito no Capítulo III

### Leptospirose - Discriminação de casos

Este questionário pretende recolher algumas informações sobre os casos clínicos de Leptospirose existentes em cada clínica/hospital. Pretende-se, desta forma, tentar avaliar a associação da doença com a vacinação ou com a ausência desta, bem como os serotipos prevalentes a nível nacional. Obrigado pelo tempo dispendido no seu preenchimento.

**\*Obrigatório**  
Nome do Hospital/Clinica Veterinária \*

Nome do Animal

Status do Caso \*

☐ Confirmado

☐ Suspeito

Caso seja confirmado, qual o método de confirmação?

☐ Serologia

☐ PCR

☐ Outro

Caso tenha sido confirmado por Serologia, qual(ais) o(s) serotipo(s) identificado(s) e qual o título obtido?

Raça do Animal \*

Idade do Animal \*

Anexo 2 – Questionário formulado para permitir a recolha de dados dos vários CAMV's, descrito no Capítulo III (continuação)

**Habitat do Animal \***

☐ Indoor

☐ Outdoor

☐ Indoor/Outdoor

**Estado Vacinal do Animal \***

☐ Vacinado contra Leptospirose

☐ Não vacinado contra Leptospirose

**Se vacinado, qual o fabricante da vacina?**

☐ Eurican; Eurican CHPPi2 - L; Tetradog; Hexadog; Leptodog (Merial)

☐ Lepto Mals (Intervet)

☐ Canigen CHL; Canigen CHPL (Virbac)

☐ Vanguard 7 (Pfizer)

☐ Quantum (Schering Plough)

☐ Duramune 6; Duramune 8 (Farnocill)

**Se vacinado, qual a frequência da vacinação?**

**Quais os principais sinais clínicos observados? \***

**Quais os exames complementares executados e qual o seu resultado?**

**Qual a terapêutica instituída?**

**Qual a evolução do caso? \***