

A IMPORTÂNCIA DO COMPORTAMENTO DA ESPÉCIE CANINA COMO POTENCIAL FATOR DE RISCO DE TRANSMISSÃO DA LEPTOSPIROSE

MORENO, Gabriela Pinheiro Tirado
GALVÃO, André Luiz Baptista
BRESCIANI, Katia Denise Saraiva

Recebido em: 2018.04.02

Aprovado em: 2019.08.16

ISSUE DOI: 10.3738/21751463.3580

RESUMO: A leptospirose é uma enfermidade causada por bactérias do gênero *Leptospira*, que apresenta morfologia característica espiralada ou helicoidal. Doença infectocontagiosa, de apresentação clínica complexa, polissintomática, com elevada letalidade dos animais acometidos e que possui relevância em saúde pública em virtude do seu potencial zoonótico. A transmissão desta enfermidade é resultante do contato direto ou indireto com a urina de animais infectados, sendo que no âmbito urbano, os roedores são considerados os principais reservatórios. Os seres humanos possuem maior risco de infecção ao entrarem em contato intenso com a água ou o solo, contaminado com a bactéria. Entretanto, atividades que envolvem contato com animais, especialmente com órgãos genitais, coleta e processamento de amostras de urina são também consideradas de risco, como no exercício da Medicina Veterinária. Os cães têm sido considerados hospedeiros de manutenção da *Leptospira interrogans* sorogrupo Canicola sorovar Canicola e seu comportamento natural, como socializar, se reproduzir e marcar território, pode atuar como fator de risco tanto para o animal adquirir a infecção quanto para a transmissão da leptospirose para outro cão e/ou favorecendo a infecção humana. Dessa forma, no presente estudo, objetiva-se abordar a importância do comportamento da espécie canina como potencial fator de risco na transmissão da leptospirose.

Palavras-chave: Cães. Roedores. Urina

THE IMPORTANCE OF CANINE SPECIES BEHAVIOR AS A POTENTIAL FACTOR FOR RISK OF INFECTION AND TRANSMISSION OF LEPTOSPIROSIS

SUMMARY: Leptospirosis is a disease caused by bacteria of the genus *Leptospira*, which presents a peculiar spiral or helical form. It is an infectious illness, with a complex clinical presentation and a variety of clinical signs. The disease presents high lethality of the affected animals and has relevance in public health by virtue of the zoonotic potential. The transmission of the disease is the result of direct or indirect contact with the urine of infected animals, and in the urban context rodents are considered the main reservoirs. Humans have a higher risk of infection when they engage in activities involving intense contact with water or soil contaminated with the bacteria. However, activities involving contact with animals, especially with genital organs, and the collection and processing of urine samples are also considered to be at risk, as in the practice of Veterinary Medicine. Dogs have been considered to be hosts of Canicola serovar, the natural behavior of the canine species, such as socialization, reproduction and marking of territory, can behave as a risk factor both for the animal to acquire the infection and for the transmission of leptospirosis to another dog and / or supporting human infection. Therefore, the present study aimed to evaluate the importance of the behavior of the canine species as a potential risk factor in the transmission of leptospirosis.

Keywords: Dogs. Rodents. Urine

INTRODUÇÃO

O cão (*Canis familiaris*) é a única espécie, entre as trinta e oito pertencentes à família Canidae, que foi totalmente domesticada. Os cães possuem um contato estreito com o homem, com diferentes finalidades, como companhia, guarda e caça (DAMASCENO; RIGUETTI, 2013).

Interessante notar que, no Brasil, a população de cães estimada em 2013 era de 52,2 milhões cães nos lares (ABINPET, 2017). Mas, essa proximidade entre os cães e o homem, pode representar risco de transmissão zoonótica (SILVA et al. 2017), dentre elas, a leptospirose.

A leptospirose é uma doença cosmopolita, causada por bactérias da ordem *Spirochatales*, família *Leptospiraceae*, gênero *Leptospira* (LEVETT; HAAKE 2010). Este agente apresenta forma espiralada, flexível, com 0,1 a 0,2µm de comprimento, com extremidades similares a pontos de interrogação. Essa enfermidade acomete animais domésticos, selvagens e seres humanos, sendo considerada a zoonose de maior disseminação mundial (SILVA et al., 2016).

A classificação antigênica da *Leptospira*, foi padronizada pela diferenciação de antígenos de superfície. Sorovares com antígenos comuns são categorizados em sorogrupos. Atualmente, são conhecidos 24 sorogrupos, possuindo cerca de 250 sorovares. Estudos da homologia do DNA estabeleceram alterações taxonômicas em relação à classificação antigênica, de tal modo que o gênero *Leptospira* passou a ser classificado em genoespécies (PAES, 2016).

O gênero *Leptospira* foi caracterizado em genoespécies, por meio da classificação genética. Desse modo, são reconhecidas 20 espécies e, em cada uma são identificados vários sorovares, que são classificados em não patogênicos, intermediários e patogênicos. Adicionalmente, os sorovares patogênicos e não patogênicos podem pertencer à mesma genoespécie. As espécies não patogênicas são: *Leptospira biflexa*, *Leptospira meyeri* e *Leptospira wolbachii*; as consideradas espécies intermediárias são: *Leptospira inadai*, *Leptospira fainei* e *Leptospira broomii*; e as patogênicas: *Leptospira interrogans*, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira alexanderi*, *Leptospira kirschneri*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira weilii* e *Leptospira alstonii* (PAES, 2016).

Na espécie canina, *L. interrogans* é a espécie patogênica mais comum e prevalente, pois inclui os sorogrupos Icterohaemorrhagiae e Canicola, os quais possuem os sorovares que geralmente acometem os cães (PAES, 2016).

Os principais hospedeiros de manutenção da enfermidade no meio urbano são os roedores sinantrópicos e, estes, quando infectados, albergam a bactéria nos rins e conseqüentemente, ocorrem emissões frequentes da bactéria na urina, por períodos de aproximadamente 30 meses, contaminando a água, o solo, e os alimentos ofertados aos animais domésticos, principalmente cães (BRASIL, 2009). Em um estudo realizado na zona urbana da Colômbia, foi observado positividade para *Leptospira* spp. em 64 de 254 (25,19%) ratos pela técnica de soroaglutinação microscópica, sendo os sorovares Icterohaemorrhagiae (20,4%) e Canicola (15,9%), os mais prevalentes (FLÓREZ et al., 2010).

Os cães são os principais hospedeiros de manutenção de *L. interrogans* sorogrupo Canicola sorovar Canicola. Como ocorre em ratos, as leptospirosas são eliminadas pela urina de

animais doentes ou portadores inaparentes e, com isso infectam outros cães susceptíveis pelas vias oral, nasal e conjuntival (PAES, 2016)

A transmissão da doença pode acontecer por contato direto com a urina de animais infectados ou indireto por meio de água e alimentos contaminados, fômites ou carcaças de animais infectados (CHIDEROLI et al., 2016). Esta, também pode ocorrer por meio de feridas por mordeduras, contato venéreo e ingestão de tecidos infectados (HAGIWARA et al., 2015).

A bactéria pode infectar outros cães e/ou homem por conta do contato direto ou, então pela contaminação do meio ambiente, representando um importante fator de risco (MODOLO, 2006). Considerando o comportamento canino para manutenção de sua higiene, aspectos sexuais e o fato de lambar e cheirar a genitália e urina de outros animais merece especial atenção (DAMASCENO; RIGUETTI, 2013). Na leptospirose, as bactérias permanecem nos túbulos renais do cão doente convalescente, e são eliminadas na urina por períodos prolongados (PAES, 2016). Assim, o estreito contato entre o homem e o cão pode representar um fator de risco a doenças, principalmente a leptospirose (NEGRÃO; GONÇALVES, 2012; SILVA et al., 2017).

Diante do exposto, no presente trabalho objetiva-se abordar a importância do comportamento da espécie canina como potencial fator de risco na transmissão da leptospirose para outros cães, animais e/ou homem.

EPIDEMIOLOGIA

As leptospirosas patogênicas colonizam os rins de uma variedade de hospedeiros domésticos e silvestres. Estes, hospedeiros naturais de manutenção, não demonstram sinais clínicos da infecção ou, quando apresentam, são imperceptíveis, possuindo um papel importante na transmissão desta enfermidade, pois as leptospirosas são excretadas na urina desses animais. Importante evidenciar que as leptospirosas sobrevivem em terrenos úmidos, pântanos, lagos e estábulos com excesso de umidade (FAINE et al., 1999; OLIVEIRA; PIRES-NETO, 2004).

A ocorrência de leptospirose depende fatores como: um hospedeiro portador que dissemina a bactéria no ambiente; contaminação e sobrevivência do agente no ambiente; umidade, temperatura e pH favoráveis para a bactéria e a presença de indivíduos suscetíveis (OLIVEIRA; PIRES-NETO, 2004; BRASIL, 2014).

Os roedores sinantrópicos das espécies *Rattus norvegicus* (ratazana ou rato de esgoto), *Rattus rattus* (rato de telhado ou preto) e *Mus musculus* (camundongo) são considerados os principais reservatórios, são resistentes à doença e atuam como portadores, albergando o agente nos rins e eliminando-o no meio ambiente (POLACHINI, 2015; RAMIREZ, et al., 2017).

Os roedores geralmente possuem valores de pH urinário entre 5,4 a 5,8, mas caso estes se alimentem de vegetais, os níveis de pH sobem para 7,0 a 8,0, tornando-se um meio mais favorável a leptospira (ZUELZER, 1935). Em casos de urina levemente alcalina, as leptospiras podem permanecer virulentas por um tempo bem mais prolongado (TORTEN, 1979). De modo geral, as leptospiras são sensíveis ao pH ácido igual ou menor que 6,8, contudo, sua multiplicação é otimizada em pH levemente alcalino entre 7,2 e 7,4 (FAINE, 1999; LANGONI, 1999).

O maior registro de leptospirose em casos humanos e caninos relaciona-se com a infecção pelas leptospiras do sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* (sorovares *Icterohaemorrhagiae* ou *Copenhageni*) que são albergados por roedores (HAGIWARA et al, 2015).

Os cães infectados pelo sorogrupo *Canicola* sorovar *Canicola* apresentam uma doença de curso crônico (KIKUTI et al., 2012), mas quando são acometidos acidentalmente por sorogrupos como *Icterohaemorrhagiae*, a doença aguda pode ocorrer, predominantemente com comprometimento de função renal ou hepática com a manifestação clínica associada (RISSI; BROWN, 2014). Adicionalmente, quando os cães se recuperam da enfermidade podem tornar-se portadores, albergando o microrganismo no rim e eliminando-os para o meio ambiente por períodos indeterminados, favorecendo a infecção humana (ELLIS, 2015).

Carnívoros silvestres não representam uma fonte de infecção significativa. Isto devido estes animais terem uma dieta baseada em carnes e o pH urinário ácido, um ambiente adverso para a manutenção das leptospiras. Entretanto, caninos domésticos são comumente alimentados com rações comerciais, logo, a diminuição da acidez torna o meio mais apropriado para a sobrevivência dos microrganismos, sendo a principal fonte de infecção no meio urbano (ZARAGOZA et al., 2003). No Brasil, as rações contêm geralmente elevadas concentrações de cálcio, fósforo e magnésio, contribuindo para a formação de urina alcalina (CARCIOFI, 2007).

Comportamento canino e leptospirose

Na leptospirose canina, o contato direto, venéreo ou pela urina infectada por vias oral, nasal e conjuntival são formas de transmissão importantes, principalmente quando é considerado o comportamento da espécie canina. Assim, a doença nesta espécie animal não apresenta distinção de sexo, idade e faixa etária (PAES, 2016).

No contexto do comportamento canino, a micção dos cães machos é uma característica comum, que além de servir como meio de eliminação de toxinas também possui funções adicionais como a comunicação, informação sobre status sexual e marcação de território (LANDSBERG et al., 2013). Quando portador da *Leptospira* o cão alberga o microrganismo no rim, eliminando-o para o meio ambiente por meio da urina favorecendo a infecção de outros cães, a eliminação da leptospira na urina é denominada de leptospiúria, sua intensidade e duração

variam com o sorovar infectante e a resposta individual do animal (GREENE et al., 2015). Em cães, a infecção por sorogrupos Canicola, Bratislava e Grippotyphosa foram associados ao envolvimento renal (MONAHAN et al., 2009).

Por meio da técnica de reação em cadeia da polimerase, *Leptospira* foi isolada em sêmen de touros (HEINEMANN et al, 1999). Também, em cães infectados experimentalmente, foi possível detectar DNA de leptospira no sêmen de dezesseis dos vinte cães inoculados com a cepa de *L. interrogans* (SANTANA, 2008).

O contato venéreo como supracitado constitui em importante forma de transmissão da doença, feridas por mordeduras também foram descritas como forma de transmissão, assim as aglomerações de animais, como as observadas em canis e em cães errantes ao avistar uma fêmea no cio facilitam a infecção nos cães (MELLO; MANHOSO, 2007; GREENE et al., 2015).

A via nasal constitui em forma susceptível para adquirir a infecção, e, para os cães, a olfação está relacionada às suas características fisiológicas e comportamentais, incluindo identidade individual, sexo, reprodução e estado emocional, desempenhando papel fundamental no desenvolvimento social, materno e comportamento reprodutivo. Esses animais são atraídos por secreções a exemplo da saliva, urina e corrimento vaginal e, cada um deles possui características individuais, e podem atuar na propagação de enfermidades como a leptospirose (LANDSBERG et al., 2013), pois o hábito do cão cheirar a genitália de outros cães facilita a infecção por via direta, por meio da via nasal (PAES, 2016).

Em uma população de 1.067.214 de cães, 340 casos de leptospirose foram reportados, provenientes de 22 hospitais de ensino veterinário nos Estados Unidos e Canadá, entre os anos de 1983 e 1998, não sendo identificado os sorovares envolvidos. Nesse estudo, observou-se que a ocorrência da enfermidade foi maior em cães não castrados, correspondendo a 31%, quando comparados aos machos castrados que foi observada a ocorrência em 16%. Ademais, a ocorrência em fêmeas não castradas foi de 22%. Os dados sugerem que a esterilização minimiza os riscos da infecção na espécie canina (WARD, 2002). Na tabela 1 estão apresentados dados da ocorrência de anticorpos séricos contra *Leptospira* spp. em cães de diferentes regiões países.

Tabela 1. Ocorrência de anticorpos séricos contra *Leptospira* spp. em cães de diferentes países.

Ano	Autor(es)	Local	Técnica diagnóstica	Nº de soros avaliados	% de Positivos	Sorovar mais prevalente
2010	Romero et al.	Colômbia	SAM*	850	21,4%	Grippotyphosa (82,4 %)
2017	Azócar-Aedo et al	Chile	SAM*	99	37,3	Canicola (24.3%)
2018	Samir et al.	Egito	SAM*	168	11.30%	Canicola (52,6%)

Nota: SAM: Soroaglutinação Microscópica

Ademais, os cães possuem papel importante no âmbito epidemiológico da doença, pois são considerados reservatórios e, muitas vezes, apresentam infecções subclínicas, e devido ao estreito com seus tutores, podem representar uma potencial fonte de infecção zoonótica (GREENE et al., 2015). Na tabela 2 estão expressos dados da ocorrência de anticorpos séricos contra *Leptospira* spp. em cães de diferentes regiões brasileiras.

Tabela 2. Ocorrência de anticorpos séricos contra *Leptospira* spp. em cães de diferentes regiões brasileiras.

Ano	Autor (es)	Local	Técnica diagnóstica	Nº de soros avaliados	% de Positivos	Sorovar mais prevalente
2011	Castro et al.	Minas Gerais	SAM*	268	28,4%	Autumnalis (34,2%)
2017	Mesquita et al	Porto Alegre	SAM*	142	18,3%	Icterohaemorrhagiae (46%)
2018	Fernandes et al.	Paraíba	SAM*	1.043	9,3%	Icterohaemorrhagiae (47,4%)
2018	Silva et al.	Piauí	SAM*	558	13,8	Icterohaemorrhagiae (49,2%)

Nota: SAM: Soroaglutinação Microscópica

Em soros de cães e humanos em Uberlândia, Minas Gerais, foi detectado principalmente reatividade aos sorovares Autumnalis (34,2%) e Tarassovi (23,7%), sendo que este também havia sido detectado em humanos, no mesmo estado, em 2008. A ocorrência destes sorovares pode estar relacionada a uma fonte de infecção comum entre as duas espécies ou a hipótese de que o cão possa ser a fonte de infecção para o homem (CASTRO et al., 2011). No estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 18,3% dos cães foram positivos, sendo o sorovar mais prevalente o Icterohaemorrhagiae, encontrado em 46% das amostras. (MESQUITA et al., 2017). A positividade em caninos no estado da Paraíba foi de 9,3%, destas, 47,4 % pertenciam ao sorovar Icterohaemorrhagiae (FERNANDES et al., 2018). Em Teresina, Piauí 13,8% dos soros demonstraram aglutininas anti-*Leptospira* spp., com 49,2% das amostras positivas também para o sorovar Icterohaemorrhagiae (SILVA et al., 2018).

As diferenças entre a percentagem de positividade podem ser explicadas pelos inúmeros fatores que influenciam a ocorrência da enfermidade, entre eles a topografia, temperatura, umidade, índices pluviométricos e variação individual entre a população estudada (FERNANDES et al., 2018).

Em outros países, o percentual de positividade em caninos também apresentou oscilações: 21,4% na Colômbia, com os sorovares Grippotyphosa (82,4 %) o mais prevalentes (ROMERO et al., 2010); 11,3% de casos foram registrados no Egito, com predomínio dos sorovares Canicola

(52,6%) (SAMIR et al., 2015) e no Chile, a percentagem identificada foi de 37,3%, com predominância do sorovar Canicola (24,3%) (AZÓCAR-AEDO et al., 2017).

Por estas variações, é possível inferir que a soropositividade da doença apresenta flutuações temporais e regionais (GENOVEZ, 2016).

A prevalência de cães machos positivos foi maior que a de fêmeas em diversos estudos como de Rossetti, (1999); Ward (2002); Modolo, (2006); Aguiar, (2007); Castro, (2011); Kikuti, (2012) e Silva-Zacarias (2014). Esta observação pode ser justificada pelo fato da maior atração por fêmeas no cio, que podem estar infectadas e serem portadoras e transmitir a infecção para outros animais por meio da urina, além do fato descrito por Sleight e Williams (1961) onde a convergência entre a anatomia dos aparelhos urinário e genital dos machos, passando pela uretra tanto urina quanto sêmen, favoreça a contaminação do sêmen por leptospiros na fase de leptospirúria.

Nas grandes áreas urbanas, fatores socioeconômicos, condições precárias de infraestrutura, deficiência em saneamento básico e o crescimento desordenado de comunidades favorecem a ocorrência da doença (VASCONCELOS et al., 2012). Contudo, existem outros fatores a serem considerados, como o comportamento reprodutivo do cão associado ao aumento da susceptibilidade a infecção por *Leptospira* spp., que não é bem descrito na literatura. Cães considerados errantes possuem maior probabilidade de se infectar, isso pode ser explicado, em parte, pela formação de grupos ao se depararem com fêmeas no cio, além de serem mais suscetíveis à exposição de restos de lixo, água de esgoto, lagoas ou empoçada contaminadas com urina de animais infectados (SILVA et al., 2016).

Os cães que residem áreas rurais possuem o hábito de caçar, e estes quando comparados aos animais domiciliados, apresentam maior soroprevalência. A caça representa um risco potencial, devido a exposição dos cães aos roedores. A predação de roedores por cães está associada a manifestação clínica grave da doença (PAES, 2016). O sorovar Pomona foi o mais isolado em um estudo com 27 cães caçadores, entretanto, outros sorovares foram isolados como Bataviae, Australis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa e Autumnalis, que reforçam que o hábito de caça representa risco de infecção aos cães (DA SILVA et al., 2017).

Os conhecimentos epidemiológicos de determinadas regiões são importantes, principalmente os relacionados à ocupação humana, que envolve falta de saneamento básico, grandes centros urbanos, alta densidade demográfica e comunidades carentes, condições que propiciam a ocorrência de epidemias, principalmente as de veiculação hídrica (OLIVEIRA et al., 2012).

Em algumas regiões, a ocorrência da doença é marcadamente sazonal, com acentuada elevação no final do verão e outono em países de clima temperado e, durante as estações

chuvosas em regiões tropicais. Após mudanças climáticas, tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento, a leptospirose é considerada uma doença infecciosa emergente devido às constantes ondas de desastres naturais (PICARDEAU et al., 2014; LEHMANN et al., 2014).

Enchentes e inundações são considerados seus principais fatores de dispersão, sendo que sua incidência aumenta quando ocorre maior precipitação pluviométrica, variável em cada região do Brasil (PELISSARI et al., 2011). Não obstante, em épocas de altos índices pluviométricos associados à impermeabilização do solo, que interfere na absorção da água, ocorre favorecimento da ocorrência de novas enchentes e, conseqüentemente, novos casos de leptospirose (FILHO et al., 2018). Entre o período de 2001 a 2015, em um estudo da relação entre a Leptospirose, precipitação pluviométrica e ação pública, no estado do Mato Grosso do Sul, a ocorrência da doença em humanos foi predominante nas regiões onde a precipitação foi maior, o que infere a influência das chuvas para com a disseminação da doença (ALVES et al., 2018).

Atividades com potencial risco de infecção ao homem estão relacionadas as práticas agrícolas, pecuária e sanitária, bem como em abatedouros e no exercício da clínica em Medicina Veterinária (WARD, 2002), assim como a exposição ao lixo (SUNUGAN et al., 2009). Atividades recreativas, como nadar e tomar banho em rios, também são consideradas de risco, pois existe a possibilidade de maior exposição do contato com a água contaminada (SAKUNDARNO et al., 2014), além das atividades de caça à vida silvestre (DA SILVA, 2017).

Em humanos, a leptospirose ocorre por todo o mundo, entretanto os maiores registros de casos ocorrem nos países tropicais. No Brasil, 23.574 casos humanos foram registrados durante o período de 1997 a 2008, com a taxa de letalidade de 11,2% (TALL et al., 2016).

Adicionalmente, entre os anos de 2000 a 2018, foram confirmados 69.775 casos de Leptospirose no Brasil, havendo 6.689 óbitos registrados, sendo as regiões Sul e Sudeste com a maior prevalência (BRASIL, 2019). Na tabela 3 estão expressos o número de casos confirmados de Leptospirose em Humanos, Brasil, considerando as regiões.

Tabela 3 - Casos confirmados de Leptospirose em Humanos, Brasil, Grandes Regiões, dados referentes aos anos de 2010 a 2018.

Regiões/Anos	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Região Norte	264	497	536	944	1707	1295	490	517	451
Região Nordeste	717	920	411	531	564	422	325	472	427
Região Sudeste	1548	1818	1342	1506	1266	963	990	925	911
Região Sul	1241	1704	929	1100	1077	1586	1199	1057	941
Região Centro-Oeste	48	28	50	69	62	77	74	54	56
Brasil	3818	4967	3268	4150	4676	4343	3078	3025	2786

Fonte: Adaptado de Brasil (2019).

PATOGENIA

As leptospirosas podem penetrar as mucosas das vias digestória, respiratória, conjuntival, genital, bem como na pele íntegra ou lesada. O contato prolongado com a água também favorece tal penetração da bactéria. Posteriormente, a bactéria dissemina-se pela circulação sanguínea e multiplica-se ativamente, realizando a leptospiremia, acometendo o endotélio dos vasos, no sistema linfático, no líquido, fígado, baço, olhos, pulmões, rins e sistema geniturinário e nervoso (FAINE et al., 1999).

As lesões nos órgãos são caracterizadas por dano celular considerável em presença de poucos microrganismos, sugerindo o envolvimento de citocinas inflamatórias produzidas pelo próprio hospedeiro, bem como de componentes da bactéria que produzem intensa resposta inflamatória (HAGIWARA, et al., 2015).

Nos rins, as leptospirosas promovem o desenvolvimento de hipersensibilidade tipo III, com lesões predominantes de nefrite intersticial, a bactéria pode ser eliminada na urina por semanas e de forma intermitente. A resposta imune deficiente e a dificuldade de acesso de antimicrobianos nos rins permitem a sobrevivência da bactéria (HAGIWARA et al., 2015).

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Em cães com leptospirose as manifestações clínicas e a gravidade dependem da virulência do sorovar infectante, do status imunológico do hospedeiro, da idade e da imunização prévia (PAES, 2016).

Os sinais clínicos iniciais mais comuns em cães são inespecíficos e incluem apatia, letargia, mialgia, tremores musculares, anorexia, vômito, letargia e febre (SILVA, 2017). Contudo, pode ocorrer sintomatologia respiratória, como taquipneia e dispnéia leve a grave, em decorrência ao edema pulmonar, pneumonia e pleurite (SILVA, 2017).

No exame físico do paciente com leptospirose, as mucosas conjuntival, oral, peniana ou vaginal, bem como a pele, particularmente a parte ventral do abdômen e os pavilhões auriculares, podem apresentar icterícia (PAES, 2016).

Os cães podem ainda desenvolver hemorragias intra-alveolares, evoluindo de maneira rápida e progressiva para hemoptise maciça, geralmente causada por sorovares como o Icterohaemorrhagiae (KOHN et al., 2010). Nesse caso, há prognóstico reservado, caracterizado pelo desenvolvimento da síndrome icterohemorrágica, sendo apresentada na forma de prostração, icterícia e hemorragias difusas, principalmente nos pulmões e trato gastrintestinal (LEVETT,

2001). A urina pode adquirir a coloração âmbar e ocorre redução da frequência de micção (HAGIWARA et al., 2015).

Pode haver evidência de sangramento, como hemoptise, epistaxe, hematêmese, hematoquezia, melena, hematúria e petéquias (MASTRORILLI et al., 2007; KOHN et al., 2010). Quadros de intussuscepção intestinal como complicação podem ocorrer associados aos distúrbios da motilidade (íleo adinâmico) (SCHULZ et al., 2010).

Manifestações cardíacas foram descritas em humanos e cães com leptospirose, alteração no traçado eletrocardiográfico anormal, apresentando taquiarritmias ventriculares e elevações das concentrações séricas de troponina em alguns cães sugerem dano miocárdico (MASTRORILLI et al., 2007).

As anormalidades oftalmológicas consistem em aumento em epífora, secreção ocular mucopurulenta, diminuição dos reflexos pupilares, conjuntivite, hifema, papiledema, descolamento de retina e hemorragias retinianas (MARTINS et al., 1998; TOWNSEND et al., 2006).

Afecções do sistema reprodutivo são pouco relatadas, sendo descrito um caso de aborto e infertilidade associado à infecção pelo sorovar Bratislava em um cão (ELLIS, 1986). O sorovar Buenos Aires (sorogrupo Djasiman) foi isolado de um feto abortado de uma cadela infectada (ROSSETTI et al., 2005).

Atualmente, existem estudos limitados relacionados à reprodução de cães com leptospirose. A infecção uterina bacteriana é uma doença comum que tem sido observada 25% de todas as cadelas, principalmente quando há inflamação sistêmica (EGENVALL et al, 2001; HAGMAN; GREKO, 2005). Além disso, o acometimento do sistema reprodutor pode levar a infertilidade (WANG et al., 2014).

DIAGNÓSTICO

Testes laboratoriais de rotina

O diagnóstico é realizado primeiramente pelos achados sugestivos de leptospirose no exame físico, seguido dos achados laboratoriais do perfil hematológico, renal e hepático, seguido de exames teste específicos, como: microscopia de campo escuro, provas sorológicas, microbiológicos e moleculares. Ademais, achados necroscópicos e histopatológicos também auxiliam no diagnóstico (SARMENTO, 2012; SILVA et al., 2018).

O achado predominante no perfil eritrocitário é a presença de anemia regenerativa por perda sanguínea ou arregenerativa por comprometimento da função renal ou hepática. No perfil

leucocitário, o achado de leucocitose com ou sem desvio à esquerda é relatado, podendo ocorrer leucopenia no início do quadro devido ao intenso recrutamento de células (SCHULLER, 2017).

No perfil bioquímico sérico, na avaliação da função hepática, quando a doença instalada, pode ocorrer a elevação de ALT (alanina transaminase) AST (aspartato aminotransferase), FA (fosfatase alcalina) e bilirrubinas (PANIGRAHI et al., 2015). No que concerne ao comprometimento da função renal, o achado predominante é a azotemia renal (PANIGRAHI et al., 2015; SCHULLER, 2017).

Na urinálise, pode ser notada hematúria, presença de células epiteliais, leucócitos, cilindros e cristais na análise do sedimento, eventualmente com presença de glicosúria (KNOPFLER et al, 2017; SCHULLER, 2017).

Exames de imagem

Alterações ultrassonográficas são vistas principalmente em órgãos como o fígado e rins. Em relação a alterações hepáticas, as mais comuns são hepatomegalia e aumento de ecogenicidade, estando, na maioria das vezes, ausentes alterações no contorno hepático ou nas vias biliares. As alterações renais predominantes consistem em aumento dos rins e ecogenicidade da cortical (TASQUETI, 2014; KNOPFLER et al, 2017).

Radiografias torácicas demonstram com frequência anormalidades pulmonares, há ainda correlação entre cães que vieram à óbito possuem alterações mais significantes do que animais sobreviventes. A Imagem radiográfica abdominal é caracterizada por esplenomegalia e hepatomegalia (KNOPFLER et al., 2017).

MEIOS DE DIAGNÓSTICO ESPECÍFICOS PARA LEPTOSPIROSE NO CÃO

Microscopia de campo escuro

Por este método, a observação do movimento único que caracteriza as leptospiras fornece um resultado positivo (GONÇALVES, 2009). A microscopia de campo escuro, apresenta entre 30 a 60% de sensibilidade e cerca de 60 a 80% de especificidade (GENOVEZ, 2016). Algumas limitações são a necessidade de microrganismos intactos e de preferência viáveis e, principalmente que o paciente esteja em leptospiúria (ADLER; MOCTEZUMA, 2010).

Isolamento bacteriano

As leptospiras podem ser cultivadas em meio de Fletcher e de Stuart ou pelos meios EMJH (Elling-Hausen-Maccullough-Johnson-Harris), sendo que o pH adequado para o crescimento se encontra entre 6.8 e 7.4 e a temperatura entre 28°C a 30°C. O período de

crescimento pode variar de dias a quatro semanas (LEVETT, 2001). O isolamento do agente permite a identificação do sorogrupo/sorovar responsável pela infecção por meio do sangue, derrames cavitários, urina, fígado e rins colocados em meios seletivos para cultivo microbiológico (PAES, 2016).

Testes sorológicos

Entre os métodos laboratoriais, o teste de aglutinação microscópica (MAT) é o método sorológico recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2012). Anticorpos podem ser detectados no sangue de cinco a sete dias após o início dos sintomas, aproximadamente. Este teste consiste numa reação antígeno-anticorpo, em que são usados antígenos vivos que incluem geralmente entre 18-24 sorovares de *Leptospira interrogans*, com representação dos principais sorogrupos, incluindo o serovar de *L. biflexa* (NDEYANELAO, 2014).

Também é possível realizar a técnica conhecida por ELISA (*Enzime-linked immunosorbent assay*), que geralmente é utilizada em estudos epidemiológicos para avaliar a soroprevalência a enfermidade (WINSLOW et al., 1997). Este teste possui uma sensibilidade de 100%, sendo mesmo superior à observada pela técnica de referência (MAT), pois pode detectar mais precocemente a resposta imune, possibilitando assim, a correlação entre os resultados e o tempo de infecção, para além de poder utilizar também fragmentos bacterianos inativados (AVIAT et al., 2010; MOHAMMED et al., 2011). A técnica de ELISA permite detectar anticorpos IgM, durante a primeira semana da infecção, na fase aguda bem como na detecção tardia de IgG (ADLER; MONTEZUMA, 2010). No entanto, sua especificidade é baixa comparativamente com ao do mesmo, pois a identificação do sorovar não pode ser obtida (NDEYANELAO, 2014).

Diagnóstico Molecular

O material genético de leptospiros pode ser identificado a partir da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo considerado um diagnóstico rápido mas que não fornece qual é o sorovar infectante (BROWN et al., 2003). Esta técnica consiste na amplificação dos fragmentos específicos de DNA do agente, podendo ser utilizados o soro, sangue, urina, liquor ou tecidos (post-mortem) de diferentes órgãos (VIEIRA, 2006). Apesar de ser uma técnica onerosa, sua utilização apresenta vantagens pela rapidez na obtenção de resultados, alta sensibilidade e especificidade que permite identificar quantidades mínimas de DNA (ANZAI, 2006).

Achados de necropsia

Entre os achados de necropsia mais comumente é observada a icterícia, em graus variáveis, podendo acometer as mucosas externamente visíveis (oral, conjuntival e genital), do tecido subcutâneo, das serosas, da íntima de grandes artérias e, nos casos mais graves, da pele, do periósteo, da cápsula articular, da esclera e das meninges. Também comumente são notadas hemorragias caracterizadas por petéquias e sufusões (incluindo víbices), de forma isolada ou multicêntrica, acometendo os pulmões, cavidades (hemotórax, hemoperitônio, hemopericárdio) assim como alterações macroscópicas hepáticas como alteração de coloração, palidez acentuação do padrão lobular e hepatomegalia. Alterações renais macroscópicas são definidas por descolorações, estriações brancas na superfície de corte e nefromegalia. Além disso, os animais muitas vezes apresentam lesões da síndrome urêmica como gastropatias, enteropatias e glossite ulcerativas. Outros achados comuns são edema pulmonar, caquexia e linfadenomegalia generalizada (TOCHETTO et al., 2012).

TRATAMENTO

O tratamento varia de acordo com cada caso. Entre as possibilidades de terapêuticas, se destacam a fluidoterapia e correção de distúrbios hidrico-eletrolíticos, diálise, transfusão sanguínea e antibioticoterapia (GUIDUGLI, 2000).

A eficácia do tratamento da leptospirose canina depende do diagnóstico precoce. Antibióticos como a doxiciclina são preconizados, especialmente por atuarem sobre as leptospiras encontradas nos túbulos renais (SCHULLER, 2017). De acordo com o Grupo de Estudos sobre Leptospirose da *American College of Veterinary Internal Medicine no Consensus Statement* on Leptospirosis é o fármaco de eleição (HAGIWARA, et al, 2015). Contudo, animais com êmese, acometimento renal ou hepático ou em anorexia, não toleram essa classe, sendo indicada terapia inicial com Penicilina ou derivados e terapia de suporte (SCHULLER, 2017). Estudos realizados em cães não demonstraram efeitos colaterais após uso de antibioticoterapia (PHIMDA et al., 2007).

O tratamento suporte é realizado e depende da gravidade da infecção e da existência de disfunção renal e hepática, bem como de outros fatores que causam complicações (GREENE et al., 2015).

PROFILAXIA

A prevenção da leptospirose envolve o combate aos roedores, higienização periódica das instalações, quarentena para animais recém-adquiridos e isolamento e tratamento dos animais

doentes. A vacinação também é uma importante medida profilática, pois as vacinas comerciais contra leptospirose são efetivas em reduzir a ocorrência da doença e a gravidade da sintomatologia clínica (PAES, 2016).

Técnicas semiológicas e de enfermagem de precaução padrão necessitam ser consideradas no exercício da Medicina Veterinária no exame físico do sistema reprodutor de machos e fêmeas, bem como na obtenção e processamento de amostras de urina (TAYLOR, 2011; SILVA; SILVA, 2018).

CONCLUSÃO

A partir do conteúdo abordado, é possível inferir que o comportamento da espécie canina, como o hábito de caça, associado as características anatômicas e fisiológicas como a conformação do trato gênito-urinário e pH da urina podem atuar como potenciais fatores de risco para a transmissão da leptospirose, visto que maximizam a exposição destes animais a fontes de infecção.

REFERÊNCIAS

ABINPET, Associação Brasileira da Indústria de Produtos Para Animais De Estimação. **Dados do Mercado, 2017**. Disponível em: <http://abinpet.org.br/site/mercado> Acesso em 23 de Janeiro de 2019.

ADLER B.; MOCTEZUMA, A.P. Leptospira and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**. v.140. n.3, p. 287-296, 2010.

ALVES, L.B.et al. A relação entre Leptospirose, Precipitação e Ação Pública no Estado de Mato Grosso do Sul. **Revista Eletrônica da Associação dos Geógrafos Brasileiros**. n. 28, p.133-150, 2018.

ANZAI, E.K. **Utilização PCR para o Diagnóstico da Leptospirose em cães naturalmente infectados por *Leptospira* spp.** 48f, Paraná. Dissertação do Mestrado em Ciências Animal Universidade Estadual de Londrina, 2006.

AVIAT, F.et al. Synthetic peptide issued from Hap1/LipL32 for new early serodiagnosis of human leptospirosis. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**. v.33, n.5, p.375-387, 2010.

AZÓCAR-AEDO, L.; SMITS, H.; MONTI, G. Diagnostic utility of an immunochromatography test for the detection of *Leptospira* IgM antibodies in domestic dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.7, p.708-712, 2017.

BRASIL, SINAN/SVS/MS 2019. **Casos confirmados de Leptospirose**. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000 a 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/08/Casos-Confirmados-por-Leptospirose-2000-2018.pdf>> Acesso em 28/01/2019.

BRASIL. **Leptospirose: Diagnóstico e Manejo Clínico**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/02/Miolo-manual-Leptospirose-17-9-2014.pdf>> Acesso em 26/01/2019

BROWN, P.D.et al. Direct detection of leptospiral material in human postmortem samples. **Research in Microbiology**, v.154, n.4, p.581-586, 2003.

CARCIOFI, A.C. Métodos para estudo das respostas metabólicas de cães e gatos a diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.235-249, 2007.

CASTRO, J.R.et al. Sorovares de *Leptospira* spp. predominantes em exames sorológicos de caninos e humanos no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 217-222, 2011.

CHIDEROLI, R.T.et al. Leptospirose canina associada à insuficiência renal aguda - Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 38, p.79-84, 2016.

CLAZER, M.et al. Leptospirose e seu aspecto ocupacional / revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**. 18, n. 3, 2015.

DA SILVA, J.D.et al. Caracterização epidemiológica e fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em cães de assentamentos rurais na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 2531-2542, 2017.

DAMASCENO, J.; RIGUETTI, R. S. Dogs: Domestication History, Behavior and Common Health Problems. **Hauppauge: Nova Science Publishers**, 2013. v. 1. 129p.

EGENVALL, A.et al. A, Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.15, n.6, p.530-538, 2001.

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

ELLIS, W.A. Animal Leptospirosis. Current Topics in Microbiology and Immunology. **Leptospira and Leptospirosis**, v. 387, 2015.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2nd ed. Melbourne, Austrália: Medicine Science, p.272, 1999.

FERNANDES, A.R.F.et al. Soropositividade e fatores de risco para leptospirose, toxoplasmose e neosporose na população canina do Estado da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**,v.38, n.5, p.957-966, 2018.

FILHO, J.G.et al. Temporal Analysis of the relationship between leptospirose pluviometric levels and seasonality, in the region of grande Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v.47 n.3, p.116-132, 2018.

FLÓREZ, P.A. et al. Serological evidence of *Leptospira* spp circulation in naturally-exposed rats (*Rattus norvegicus*) in a Colombian urban area. **Revista de Salud Publica**, v.12, n.6, p.990-999, 2010.

GENOVEZ, M. E. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. (Ed). **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; p. 378-387, 2016.

GONÇALVES, A.T.S. **Leptospirose em São Miguel**: caracterização dos primeiros isolados humanos de *Leptospira* sp. e diferenciação molecular de estirpes isoladas dos principais reservatórios silváticos. Lisboa, 114f. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Clínica, Universidade Nova de Lisboa, 2009.

GREENE, C. E. et al. **Infections Diseases of the Dog and Cat**. 5 ed. Saunders Elsevier, St Louis, p. 402-417, 2015.

GRIFFITH, M. E. et al. Efficacy of fluoroquinolones against *Leptospira interrogans* in a hamster model. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.51 n.7, p. 2615–2617, 2007.

GUIDUGLI, F. **Prevenção e tratamento da leptospirose**: revisão sistemática de ensaios clínicos aleatórios com metanálises. São Paulo, SP. Tese Doutorado - Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina, 2000.

HAGIWARA M.K.; MIOTTO, B.A.; KOGIKA, M.M. Leptospirose. JERICÓ, M. M.; Andrade Neto, J.P.; Kogika, M.M. In: **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015, p. 2678-708.

HEINEMANN, M.B. et al. Detection of leptospires in bovine semen by polymerase chain reaction. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 1, 1999.

HAGMAN, R.; GREKO, C. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. **Veterinary Record**, v.157, n.7. p.193-196, 2005.

KIKUTI, M. et al. Occurrence and risk factors associated with canine leptospirosis. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical**, v.18, n.1, 2012.

KOHN, B. et al. Pulmonary abnormalities in dogs with leptospirosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, n.6, p.1277-1282, 2010.

KNÖPFLER, S. et al. Evaluation of clinical, laboratory, imaging findings and outcome in 99 dogs with leptospirosis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 58, n.10, p. 582–588, 2017.

LANDSBERG, G. M.; HUNTHAUSEN, W.; ACKERMAN, L. **Behavior Problems of the Dog and Cat**. 3rd ed. Edinburgh: Saunders Elsevier, 2013.

LANGONI, L. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Revista de Educação Continuada do CRMV – SP**, v.2, n.1, p.52-58, 1999.

LEHMANN, J.S. ET AL. **Leptospiral Pathogenomics Pathogens**, V.3, N.2, P.280–308, 2014.

LEVETT, P.N.; HAAKE, D.A. **Leptospira species (Leptospirosis). Principles and Practice of Infectious Diseases**. Philadelphia, Churchill Livingstone/Elsevier, 2010.

- MAGALHÃES, D. F. et al. Perfil dos cães sororreagentes para aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001/2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, 1326-1329, 2007.
- MARTINS, M. G. et al. Ocular manifestations in the acute phase of leptospirosis. **Ocular Immunology & Inflammation** v.6, p.75-79, 1998.
- MASCOLLI, R. et al. Prevalence and risk factors for leptospirosis and brucellosis in the canine population of the Tourist Resort of Ibiúna, State of São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.83, 2016.
- MASTRORILLI, C. et al. Clinicopathologic features and outcome predictors of *Leptospira interrogans* Australis serogroup infection in dogs: a retrospective study of 20 cases (2001-2004). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.21, n.1, p. 3-10, 2007.
- MELLO, L. P. P.; MANHOSO, F. F. R. Aspectos epidemiológicos da leptospirose canina no Brasil. **Unimar Ciência**, v. 16, p. 27-32, 2007.
- MESQUITA, M.O. et al. Percepções ambientais e fatores associados à ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* sp. em cães de um reassentamento urbano no município de Porto Alegre, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saude**, Ananindeua, v. 8, n. 1, p. 23-27, 2017.
- MODOLO J. R. et al. Investigação soroepidemiológica de leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 598-604, 2006.
- MOHAMMED, H. et al. **Epidemiology of human Leptospirosis in Morocco**. Asian Journal of Epidemiology, v.4, n.1, p.17-22, 2011.
- MONAHAN, A.M.; MILLER, I.S.; NALLY, J.E. **Leptopirose: risks during recreating activities**. Journal Microbiology, v. 107, n. 3, p. 707-709, 2009.
- NDEYANELAO, E.G.E. **Leptospirose humana na província de Hulia: rastreio serológico e molecular de doentes assistidos no Hospital Central Dr. António Agostinho Neto, Lubango (Angola)**. Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas. Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, 2014.
- NEGRÃO, D.D.; GONÇALVES, D. Incidência de leptospirose em cães errantes acolhidos no centro de controle e zoonoses de Curitiba. **Revista Eletrônica da Faculdade Evangélica do Paraná**, Curitiba, v.2, n.4, p.63-68, 2012.
- OLIVEIRA S.J.; PIRES NETO, J.A.S. Aspectos etiológicos e diagnóstico nas leptospiroses. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v. 10, n.33, 2004.
- OLIVEIRA, T.V.S. et al. Variáveis climáticas, condições de vida e saúde da população: a leptospirose no município do Rio de Janeiro de 1996 a 2009. **Ciencia e Saúde Coletiva**, v.17, n.6, p.1569-1576, 2012.

PAES, A.C. Leptospirose canina, Megid,J.; Ribeiro,M.G.; Paes,A.C. In: **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. Roca, São Paulo, p.356-377, 2016.

PANIGRAHI P.N.; BEHERA, S.K.; DEY, S. Diagnosis and clinical management of leptospirosis in a dog. **Intas Polivet**, v.16,p. 361-4, 2015.

PELLISSARI, D.M.et al. Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000-2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.20, n.4, p.565-74, 2011.

PHIMDA, K. Doxycycline versus Azithromycin for Treatment of Leptospirosis and Scrub Typhus. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v.51, n.9, p. 3259–3263, 2007.

PICARDEAU, M.et al. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, , v.78, n.1, p.1-8, 2014.

POLACHINI, C.O.; FUJIMORI, K. Leptospirose canina e humana, uma possível transmissão conjuntival no Município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saude**. v.6, n.3, p.59-65, 2015.

RAMIREZ, C.V.H.et al. Prevalence and Risk Factors Associated with Serovars of *Leptospira* in Dogs, Related Human Seropositive. **Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research**, v.6, n. 2, 2017.

RISSI, D.R.; BROWN, C.A. Diagnostic features in 10 naturally occurring cases of acute fatal canine leptospirosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.26, n.6, 2014.

ROMERO, M. H.; SANCHEZ, J. A.; HAYEK, L. C. The prevalence of antibodies against *Leptospira* in urban human and canine populations from the Tolima Department. **Revista Salud Pública**, v.12, n.2, p.268-275, 2010.

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

ROSSETTI, C. A. **Leptospirosis en las especies de producción**. Revista de Medicina Veterinaria, v.80, p. 412-413, 1999.

SAKUNDARNO, M.et al. Risk factors for leptospirosis infection in humans and implications for public health intervention in Indonesia and the Asia-Pacific region. **Asia Pacific Journal of Public Health**, v.26, n.1, p.15-32, 2014.

SANTANA, L.S.S. **Alterações espermáticas e dos níveis plasmáticos de testosterona em cães experimentalmente infectados por *Leptospira interrogans* sorovar Canicola**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2008. Disponível em: <<http://javali.fcav.unesp.br/sgcd/Home/download/pgtrabs/mvp/m/3248.pdf>> Acesso em: 27 de janeiro de 2019.