

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA  
LEPTOSPIROSE EM CÃES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Camila Tochetto**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2012**

# **ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA LEPTOSPIROSE EM CÃES**

**por**

**Camila Tochetto**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração em Patologia Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Medicina Veterinária**

**Orientador: Prof. Rafael A. Fighera**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2012**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA LEPTOSPIROSE EM  
CÃES**

elaborada por  
**Camila Tochetto**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Medicina Veterinária**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Rafael A. Fighera, Dr, UFSM**  
(Presidente/Orientador)

**Glauca Denise Kommers, PhD, UFSM**

**Ana Lucia Schild, Dra, UFPEL**

Santa Maria, 29 de fevereiro de 2012

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família pelo amor, apoio e compreensão.

Aos pós-graduandos e bolsistas do LPV e ao funcionário Serginho, pela amizade e pela contribuição na elaboração dessa dissertação.

À professora Glaucia pelos ensinamentos, pela amizade e pela essencial ajuda na realização desse trabalho.

Aos professores Claudio Barros, e Luiz Francisco Irigoyen por todos os ensinamentos transmitidos, pela amizade e pelos momentos de descontração.

Um agradecimento especial ao meu orientador, professor Rafael Figuera, pela confiança, dedicação intensa na elaboração dessa dissertação e pelos ensinamentos e incentivos diários que contribuíram fundamentalmente para minha formação profissional.

A todos os amigos pelo companheirismo e apoio, meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria

### ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA LEPTOSPIROSE EM CÃES

AUTORA: CAMILA TOCHETTO  
ORIENTADOR: RAFAEL A. FIGHERA  
Santa Maria, 29 de fevereiro de 2012

Leptospirose é uma zoonose causada por espiroquetas do gênero *Leptospira* e constitui uma das mais importantes doenças de distribuição mundial. Embora leptospirose seja reconhecidamente uma das doenças infecciosas mais frequentemente descritas em cães, não existem critérios morfológicos para a realização do diagnóstico definitivo com base apenas na necropsia. Assim, o objetivo principal deste trabalho é estabelecer critérios anatomopatológicos para o diagnóstico da leptospirose. Os arquivos de necropsia do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) foram acessados e todos os casos diagnosticados como leptospirose entre os anos de 1965 e 2011 foram revisados (n=135). Foi realizada imuno-histoquímica para confirmação do diagnóstico definitivo apenas nos casos em que o tecido renal foi considerado viável em quantidade e qualidade (n=79). Os casos positivos foram identificados e correspondem aos resultados aqui demonstrados (n=53). Na necropsia, as principais lesões observadas incluíram icterícia (79,2%) e hemorragia (75,5%), principalmente no pulmão (56,6%). Alterações macroscópicas hepáticas (56,6%) e renais (50,9%) foram frequentes e caracterizavam-se principalmente por descolorações (30,2% e 32,1% respectivamente), acentuação do padrão lobular hepático (26,4%) e estriações brancas na superfície de corte dos rins (22,6%). Lesões extrarrenais de uremia ocorreram na metade dos casos (50,9%). Hepatomegalia (11,3%), nefromegalia (9,4%) e irregularidade da superfície capsular dos rins (3,8%) foram menos comuns. Na histologia dos rins (n=53), as lesões encontradas (98,1%) foram quase que exclusivamente agudas ou subagudas (96,2%) e caracterizavam-se por graus variados nefrose tubular (86,8%) e nefrite intersticial não supurativa (60,4%), com evidente dissociação degenerativo-inflamatória. Na histologia do fígado (n= 42), as lesões encontradas (97,6%) eram constituídas principalmente por dissociação dos cordões de hepatócitos (78,6%), colestase intracanalicular (33,3%) e necrose hepática (31%). Lesões reativas, como hipertrofia das células de Kupffer, leucocitostase sinusoidal e infiltrado inflamatório mononuclear nos espaços porta, foram vistas em muitos casos (42,8%). Na histologia do pulmão (n=28), hemorragia (85,7%) e edema (57,1%) alveolares foram muito prevalentes. Neutrófilos e macrófagos nos espaços alveolares (35,7%) e neutrófilos no interior de pequenos vasos pulmonares (17,9%) também foram achados frequentes. Os resultados aqui demonstrados devem servir de alerta aos patologistas veterinários brasileiros, pois a apresentação anatomopatológica da leptospirose canina em nossa região (Região Central do Rio Grande do Sul, Brasil) não se modificou nos últimos 50 anos, mantendo-se semelhante àquela descrita internacionalmente até a década de 1980, mas muito diferente do que é atualmente reconhecido para os Estados Unidos, o Canadá e parte da Europa Ocidental. Recomendamos que os critérios histopatológicos para o diagnóstico da leptospirose canina devem incluir a presença concomitante de nefrite tubulointersticial aguda ou subaguda, hepatite reativa não específica e lesão alveolar difusa, incluindo hemorragia alveolar difusa com capilarite, em cães que durante a necropsia demonstrem icterícia, hemorragias e lesões extrarrenais de uremia na ausência de esplenomegalia.

Palavras-chave: Doenças de cães. Infectologia. Patologia. Leptospirose. *Leptospira icterohemorrhagiae*.

# ABSTRACT

MS Dissertation  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

## PATHOLOGICAL ASPECTS OF LEPTOSPIROSIS IN DOGS

AUTHOR: CAMILA TOCHETTO  
ADVISER: RAFAEL A. FIGHERA  
Santa Maria, February 29, 2012

Leptospirosis is a zoonotic disease caused by spirochetes of the genus *Leptospira* and it is one of the most important diseases with worldwide distribution. Although leptospirosis is recognized as one of the most commonly reported infectious diseases in dogs, there are no morphological criteria to achieve a definitive diagnosis based only on necropsy lesions. The objective of this study is to establish criteria for the pathological diagnosis of leptospirosis. The necropsy files of the Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) of the Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) were accessed and all cases diagnosed as leptospirosis between the years of 1965 and 2011 (n=135) were reviewed. Immunohistochemistry for confirmation of definitive diagnosis was performed only in those cases where the kidney tissue was considered viable in quantity and quality (n=79). The positive cases were identified and correspond to the results shown here (n=53). Main necropsy lesions included icterus (79.2%) and hemorrhage (75.5%), mainly in the lungs (56.6%). Gross hepatic (56.6%) and renal (50.9%) changes were frequently found and were characterized mainly by discoloration (respectively 30.2% and 32.1%), accentuation of hepatic lobular pattern (26.4%) and white streaks in the cut surface of kidneys (22.6%). Extrarenal lesions secondary to uremia occurred in half of the cases (50.9%). Enlarged livers (11.3%), and kidneys (9.4%), and rough renal capsular surfaces (3.8%) were less common findings. In the histopathology of the kidneys (n=53), the encountered lesions (98.1%) were almost exclusively acute or subacute (96.2%) and were characterized by varying degrees of tubular nephrosis (86.8%) and non-suppurative interstitial nephritis (60.4%), with evident degenerative-inflammatory dissociation. In the histopathology of the liver (n=42), the encountered lesions (97.6%) consisted mainly of hepatocellular dissociation (78.6%), intracanalicular cholestasis (33.3%) and hepatocellular necrosis (31%). Reactive lesions, such as Kupffer cell hypertrophy, sinusoidal leucocytostasis and inflammatory mononuclear infiltrate within portal triads were observed in several cases (42.8%). In the histopathology of the lung (n=28), alveolar hemorrhage (85.7%) and edema (57.1%) were rather frequent lesions. Neutrophils and macrophages in the alveolar spaces (35.7%) and neutrophils within small pulmonary vessels (17.9%) were also frequent findings. The findings stemming from the current study should serve as an alert for Brazilian veterinary pathologists, since the pathological presentations of canine leptospirosis in this region (Central Region of the State of Rio Grande do Sul, Brazil) did not change in the last 50 years, and is still similar to that described worldwide up to the decade of 1980's, but rather different from that currently recognized in the United States, Canada and part of West Europe. We recommend that the histopathological criteria for the diagnosis of canine leptospirosis should include the concomitant occurrence of acute or subacute tubulointerstitial nephritis, non specific reactive hepatitis and diffuse alveolar damage, including diffuse alveolar hemorrhage with capillaritis, in dogs which at necropsy had presented icterus, hemorrhage and extrarenal lesions of uremia without splenomegaly.

Keywords: Diseases of dogs. Infectology. Pathology. Leptospirosis. *Leptospira icterohemorrhagiae*.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>8</b>
<b>2. CAPÍTULO 1. Aspectos anatomopatológicos da leptospirose em cães: 53 casos (1965-2011).....</b>	<b>17</b>
Abstract.....	18
Resumo .....	19
Introdução.....	19
Material e Métodos.....	19
Resultados.....	20
Discussão .....	23
Conclusões.....	27
Referências .....	28
<b>3. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>32</b>

# 1. INTRODUÇÃO

Leptospirose é uma zoonose que acomete virtualmente qualquer espécie de mamífero, constitui uma das mais importantes doenças infecciosas já descritas e ocorre na maior parte dos países do mundo, senão em todos, mas principalmente naqueles em desenvolvimento (BHARTI et al., 2003). Para o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), leptospirose é a zoonose mais amplamente difundida no mundo (CDC, 2012).

Infecção por *Leptospira* spp. causa doença economicamente importante nas criações de animais domésticos de várias partes do mundo, principalmente em bovinos e suínos, espécies em que os distúrbios reprodutivos causam grande impacto econômico (BOLIN, 1996). Em cães, a doença é frequentemente fatal e, desde meados da década de 1990, recebeu o *status* de reemergente na América do Norte (SYKES et al., 2011). Na rotina do Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria, no Rio Grande do Sul, Brasil, leptospirose é responsável por 2,2% das causas de morte ou razão para eutanásia de cães e corresponde à quarta doença infecciosa mais frequentemente diagnosticada nessa espécie, com prevalência de 6,4% (FIGHERA et al., 2008).

Leptospirose é causada por *Leptospira interrogans*, uma bactéria da família Leptospiraceae, ordem Spirochaetales, classe Spirochaetia, filo Spirochaetes, que possui mais de 250 sorovares, divididos em mais de 20 sorogrupos. Leptospiras são organismos filamentosos, helicoidais e móveis, o que lhes conferiu a denominação espiroqueta, que inclusive influenciou o nome do filo, da classe e da ordem a que pertencem. Essas bactérias têm aproximadamente 10 a 20 µm de comprimento e 0,1 a 0,2 µm de largura, são Gram negativas e vivem em tecidos de animais, no solo úmido, na lama e em águas paradas, como em banhados (FAINE; STALLMAN, 1982).

A partir de 1995, com base em análises filogenéticas, o gênero *Leptospira* passou a contar com uma divisão taxonômica diferente, em que não mais havia apenas uma espécie patogênica (*L. interrogans*) e sim oito: *L. interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri*, *L. inadai*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. meyeri* e *L. weilii*. Em 2007, o Comitê para a Taxonomia dos Leptospiraceae, definiu em 13 as espécies patogênicas: *L. alexanderi*, *L. alstonii* (genomoespécie 1), *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. terpstrae* (genomoespécie 3), *L. weilii* e *L. wolffii*, e em seis as espécies saprófitas: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae* (genomoespécie 5), *L. kmetyi*, *L. vanthielii* (genomoespécie 4) e *L. wolbachii* (ADLER; DE LA PEÑA-



MOCTEZUMA, 2009). Entretanto, embora essas subdivisões taxonômicas sejam uma realidade devido aos avanços da biologia molecular, a maior parte dos especialistas é unânime em reconhecer que não há qualquer vantagem nessa nova classificação (AFIP, 2010).

Leptospiras são transmitidas por contato direto ou indireto. Transmissão direta ocorre principalmente através do contato com urina infectada, mas também através do sangue, de tecidos à necropsia e de envoltórios e líquidos fetais. Transmissão indireta ocorre quando cães suscetíveis são expostos ao solo, à água, a alimentos e a fômites (BOLIN, 1996). As bactérias são eliminadas na urina e o tempo de excreção varia individualmente e depende do sorovar infectante (VAN DE MAELE et al., 2008); por exemplo, a infecção pelo sorovar *canicola* em cães resulta em um longo período de excreção, que pode perdurar por mais de dois anos, enquanto cães infectados por outros sorovares, como *L. icterohemorrhagiae*, têm período de eliminação curto (DZIEZYC, 2000), com no máximo três meses, principalmente quando o tratamento é inadequado ou não é realizado (CDC, 2012).

A infecção por leptospiras ocorre basicamente através das mucosas intactas após a eliminação do microorganismo em excreções, principalmente urina dos hospedeiros de manutenção, mas também dos hospedeiros acidentais na fase aguda da doença (PRESCOTT, 2007). Além das mucosas, infecção via transcutânea também pode ocorrer, mas é necessário haver solução de continuidade. Pele íntegra, porém acentuadamente hidratada, é também considerada uma possível rota de infecção (GREENE et al., 2006).

Mais recentemente, por volta de 1980, o trato genital foi considerado um importante local para manutenção de leptospiras, primeiramente em bovinos e suínos, e posteriormente em cães. Com isso, atualmente, outras formas de transmissão incluem a venérea (coito e inseminação artificial) e a transplacentária. Além disso, sabe-se que cães podem ser infectados com sucesso através da ingestão de roedores infectados. Assim, embora a transmissão direta seja um ponto importante na epidemiologia da leptospirose, a transmissão indireta é considerada por alguns autores como a forma mais comum de transmissão da doença, já que leptospiras podem permanecer viáveis no ambiente por até 180 dias, dependendo principalmente da temperatura, da umidade e do pH do solo (GREENE et al., 2006).

Após a penetração no organismo e um período de incubação de quatro a 10 dias (média de sete dias), leptospiras ganham a circulação, fazem bacteremia (leptospirose), que varia de horas a sete dias, e disseminam-se por vários órgãos, mas principalmente rim, fígado e placenta, o que pode causar diferentes síndromes clínicas, como insuficiência renal, disfunção hepática, diátese hemorrágica (GREENE et al., 2006) e falha reprodutiva

decorrente de abortamento (BARSANTI, 1996), de acordo com cada sorovar. Em cães, convencionalmente, admite-se que a infecção pelo sorovar *canicola* causa doença primariamente renal, enquanto a infecção pelo sorovar *icterohemorrhagiae* causa doença primariamente hepática. Mais recentemente, casos de leptospirose associados à infecção pelos sorovares *grippotyphosa*, *pomona* e *autumnalis* têm sido associados à doença hepatorenal e casos de infecção pelo sorovar *bratislava* à doença renal (AFIP, 2010).

Os principais mecanismos envolvidos na patogênese da leptospirose incluem isquemia (SITPRIJA; EVANS, 1970), migração bacteriana (MARSHALL, 1976), resposta imune (MORRISON; WRIGHT, 1976), produção de toxinas (BRITO et al., 1966; SITPRIJA; EVANS, 1970; LEVETT, 2001; PRESCOTT, 2007) e ação direta sob o epitélio tubular (YANG, 2007). Os principais componentes de leptospiroses relacionados aos danos teciduais tóxicos são os lipopolissacarídeos presentes na parede celular, que induzem a adesão de neutrófilos, a ativação plaquetária e a síntese de citocinas, principalmente interleucina-1 (IL-1) e interferon (IFN), a partir da ativação de macrófagos (GREENE et al., 2006). Fatores de virulência como esfingomielinases, hemolisinas e porinas também são expressos durante a infecção (HAUK et al., 2005).

Na patogênese mais aceita para a lesão renal admite-se que leptospiroses recém saídas dos capilares persistem no interstício até migrarem para a luz tubular por entre as células de revestimento e aderirem-se às microvilosidades epiteliais, onde são engolfadas através da formação de fagossomos, o que culmina em degeneração e necrose tubular aguda. A presença de bactérias no interstício atrai células inflamatórias mononucleares, principalmente linfócitos e plasmócitos, que gradualmente infiltram o interstício (NEWMAN et al., 2007).

Em relação às hemorragias, não há unanimidade e várias teorias já foram aventadas. Alguns estudos têm encontrado evidências de que a hemorragia que é observada em casos de leptospirose em humanos e cães seja, pelo menos em parte, decorrente de dano endotelial da microvasculatura causado por toxinas (AREAN, 1962). Outros estudos demonstram que os lipopolissacarídeos presentes no envelope externo, e semelhantes aos de outras bactérias Gram negativas, são capazes de ativar plaquetas e causar coagulação intravascular disseminada (CID) (THOMSON et al., 1974). Nessa linha de raciocínio, toxinas causam grave lesão vascular, que resulta em coagulação intravascular disseminada (CID) e diátese hemorrágica (LEVETT, 2001), ou seja, uma associação entre lesão endotelial e CID é considerada há vários anos como a mais provável explicação para as hemorragias observadas nos pacientes afetados (JAROONVESAMA et al., 1975).

Virtualmente todos os mamíferos são susceptíveis à leptospirose e, portanto, uma determinada espécie funciona como hospedeiro para um ou mais sorovares. Na prática, atuam como fonte de infecção apenas os indivíduos doentes, convalescentes e portadores, ou seja, aqueles que desenvolvem períodos de leptospiremia e leptospirúria. De acordo com cada sorovar, uma determinada espécie de mamífero funciona como hospedeiro de manutenção, também denominado hospedeiro natural, ou como hospedeiro acidental, também chamado hospedeiro incidental (BOLIN, 1996). Embora basicamente leptospirosas utilizem mamíferos como hospedeiros, outros reservatórios, como aves anfíbios e répteis, são ocasionalmente descritos (DESVARS et al., 2011).

Hospedeiros de manutenção se caracterizam por serem bastante sensíveis à infecção, assim, pequenos inóculos do agente são capazes de infectar esses indivíduos. No entanto, embora muito sensíveis à infecção, hospedeiros de manutenção desenvolvem apenas doença subclínica ou, em alguns casos, doença crônica. A importância dos hospedeiros de manutenção na epidemiologia da leptospirose consiste no fato de que durante a infecção subclínica esses animais acabam por amplificar muitas vezes a quantidade de leptospirosas, excretando-as pela urina por longos períodos, às vezes até o final de suas vidas, e, assim, tornando-se os principais reservatórios da bactéria. Os exemplos de hospedeiros de manutenção mais conhecidos são a ratazana (*Rattus norvegicus*) e o cão, para os sorovares *icterohemorrhagiae* e *canicola*, respectivamente (BOLIN, 1996).

Diferentemente dos hospedeiros de manutenção, os hospedeiros acidentais são muito resistentes à infecção e, quando infectados, desenvolvem doença clínica aguda ou subaguda e grave que com frequência culmina em morte se não tratada. Como a fase renal é curta, a transmissão é ineficiente (BOLIN, 1996). Os humanos e os animais domésticos são considerados hospedeiros acidentais, entretanto, vale ressaltar que, ocasionalmente, a espécies domésticas podem comportar-se de modo intermediário entre as duas formas, com leptospirosas persistindo no rim, mas o indivíduo mostrando uma resposta antigênica marcada à infecção (CHERNUKCHA et al., 1974), exemplos disso incluem cães, bovinos, suínos e equinos, reservatórios dos sorovares *canicola*, *hardjo*, *pomona* e *bratislava*, respectivamente (BHARTI et al., 2003).

Por definição, os sorovares *icterohemorrhagiae* e *copenhageni* são mantidos no ambiente pela ratazana (*Rattus norvegicus*), o sorovar *canicola* é mantido pelo cão, o sorovar *pomona* é mantido por suínos, o sorovar *autumnalis* é mantido por camundongos (*Mus musculus*), o sorovar *bratislava* é mantido por equinos e suínos e o sorovar *grippotyphosa* é

mantido por roedores e animais selvagens, principalmente racum (*Procyon lotor*), *skunk* (*Mephitis mephitis*) e gambá-norte-americano (*Didelphis virginiana*) (PRESCOTT, 2007).

Os sinais clínicos da leptospirose são geralmente variáveis e, em muitos casos, inaparentes, como quando a doença ocorre em hospedeiros adaptados, como é o caso da infecção pelo sorovar *canicola* em cães (ANDRÉ-FONTAINE, 2006; PRESCOTT, 2007). A gravidade da doença depende de vários fatores, como idade, imunidade e virulência do sorovar infectante (HANSON, 1982; LANGSTON; HEUTER, 2003). Sinais clínicos frequentes em cães com leptospirose incluem principalmente aqueles relacionados com distúrbios do fígado, rins e microvasculatura (VAN DE MAELE et al., 2008) como icterícia, sinais de uremia (poliúria, úlceras orais, vômito, diarreia), desidratação, hemorragias cutâneas ou cutâneo-mucosas (petéquias e sufusões), epistaxe, melena ou hematoquezia e hematemese (CENTER et al., 1990; LAPPIN, 1992; GREENE, 2004). Outros sinais frequentemente descritos na literatura são: apatia, anorexia, febre, hiperestesia paralombar decorrente de mialgia, taquipneia, dispneia e taquicardia (CENTER et al., 1990; SWANGO et al., 1992; LAPPIN, 1992). Sinais menos comumente relatados incluem conjuntivite, rinite, tonsilite e tosse (LAPPIN, 1992). Experimentalmente, a infecção pelos sorovares *icterohemorrhagiae* e *canicola* causa sinais clínicos hepáticos, renais e hemorrágicos, de intensidade variável, com mortalidade ao redor de 60% dos casos (MINKE et al., 2009).

Para alguns autores (LANGSTON; HEUTER, 2003; PRESCOTT, 2007), leptospirose canina pode ser subdividida em quatro formas de apresentação clínica: hiperaguda, aguda, subaguda e crônica. Doença hiperaguda ocorre principalmente em filhotes, é quase sempre causada pelo sorovar *icterohemorrhagiae* e caracteriza-se por septicemia fulminante de no máximo três dias de evolução. Nesses casos, observa-se principalmente tendência a hemorragias, evidenciada por hematemese, melena, epistaxe e petéquias nas membranas mucosas (PRESCOTT, 2007). Na forma aguda, além da hemorragia, os cães apresentam febre, fraqueza muscular, vômito, desidratação e taquipneia. Para esses autores, nessas duas formas de apresentação, devido ao rápido curso da doença, não há tempo de desenvolver sinais de insuficiência hepatorenal (LANGSTON; HEUTER, 2003), mas hemorragia é uma constante (PRESCOTT, 2007). Doença subaguda, a forma mais frequentemente diagnosticada, caracteriza-se pelos mesmos sinais observados na fase aguda, porém, acrescidos de dor abdominal, mialgia, icterícia e sinais relacionados à insuficiência renal (LANGSTON; HEUTER, 2003; GREENE et al., 2006), ou seja, uma típica apresentação de doença hepatorenal de origem infecciosa. Para todos esses autores, a manifestação crônica da

leptospirose é incomum e caracteriza-se por icterícia decorrente de hepatite crônica e, eventualmente, encefalopatia hepática.

Achados hematológicos típicos em casos de leptospirose canina incluem leucocitose e trombocitopenia (EDWARDS et al., 1982; LANGSTON; HEUTER, 2003). Quando a hemostasia é afetada, anemia pode ocorrer como resultado de hemorragias (LAPPIN, 1992). Devido à coagulopatia de consumo também ocorre aumento dos produtos de degradação da fibrina e prolongamento do tempo de protrombina (NAVARRO; KOCIBA, 1982). O total de leucócitos depende da fase e gravidade da infecção. Leucopenia é comum durante a leptospiremia, mas evolui para leucocitose com (CENTER et al., 1990; LAPPIN, 1992) ou sem desvio à esquerda (LAPPIN, 1992). Experimentalmente, a infecção pelos sorovares *icterohemorrhagiae* e *canicola* causam trombocitopenia, de intensidade variável, em cerca de 40% e 75% dos cães infectados, respectivamente (MINKE et al., 2009). Esse achado é fortemente ressaltado por basicamente todos os grandes livros de clínica médica (CENTER et al., 1990; SWANGO et al., 1992; LAPPIN, 1992; GREENE, 2004).

Exames bioquímicos revelam aumento variável da ureia e creatinina (azotemia), dependente da gravidade da lesão renal. Hiperbilirrubinemia e níveis elevados de enzimas de vazamento hepatocelular (alanina aminotransferase [ALT] e aspartato aminotransferase [AST]) e colestase (fosfatase alcalina [FA]) são muito comuns e resultantes da lesão hepática (CENTER et al., 1990; SWANGO et al., 1992; LAPPIN, 1992). Hiponatremia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, hipoalbuminemia e hipocalcemia refletem lesão renal, perdas gastrintestinais e acidose (LAPPIN, 1992). Em estudo realizado no Canadá, os autores (PRESCOTT et al., 2002) encontraram alterações clinicopatológicas em 90% dos cães com leptospirose. Desses, 94% e 87% apresentaram aumento nos níveis de ureia e creatinina, respectivamente. Em mais de 50% dos casos havia aumento dos níveis de creatinoquinase, bilirrubinas e fosfatase alcalina.

Na doença aguda, a urinálise é caracterizada por proteinúria, bilirrubinúria (CENTER et al., 1990; SWANGO et al., 1992; LAPPIN, 1992) e pela presença de sedimento ativo, caracterizado por grande quantidade de cilindros granulares, leucócitos e eritrócitos (CENTER et al., 1990; LAPPIN, 1992; GREENE et al., 2006). Nos casos de doença crônica, os achados são típicos de insuficiência renal crônica, ou seja, diminuição na densidade urinária e proteinúria associados a sedimento inativo (EDWARDS; DOMM, 1960).

Em relação às alterações observadas na necropsia, há escassez de dados na literatura, com isso, as principais referências ainda são as lesões descritas em livros-textos de patologia e medicina interna. Macroscopicamente, cães com leptospirose apresentam principalmente

icterícia e petéquias nas membranas mucosas (SWANGO et al., 1992). Os rins podem estar aumentados em casos agudos e apresentar hemorragias subcapsulares na forma de petéquias (JONES et al., 2000), uma típica apresentação macroscópica do que atualmente é mais bem descrito como nefrite tubulointericial aguda (NEWMAN et al., 2007). Lesões de uremia podem ser observadas em diversos órgãos (SWANGO et al., 1992), basicamente quando o curso da doença é mais prolongado (JONES et al., 2000). Rins cronicamente afetados demonstram o típico aspecto da lesão atualmente denominada como nefrite tubulointericial crônica com padrão difuso, ou seja, são tumefeitos, com superfície natural castanho-clara com pontos acinzentados. A superfície de corte demonstra estrias radiadas e acinzentadas de intensidade variável, mas que não incomumente coalescem e obscurecem totalmente a arquitetura cortical (NEWMAN et al., 2007). O fígado também pode estar aumentado (CENTER et al., 1990; SWANGO et al., 1992), friável (CENTER et al., 1990) e de coloração vermelho-alaranjado. O comprometimento pulmonar é evidenciado principalmente por edema e hemorragias (SWANGO et al., 1992; GREENE et al., 2006; MAXIE; NEWMAN, 2007).

Histologicamente, as principais alterações renais incluem necrose tubular aguda, nefrite intersticial, presença de cilindros hialinos no lúmen tubular, edema intersticial e, progressivamente, fibrose, esclerose glomerular e espessamento da cápsula de Bowman (PRESCOTT et al., 2002). Para alguns autores, quanto mais aguda a lesão, maior o grau de degeneração e necrose, inclusive com regeneração tubular, enquanto mais tardiamente, no estágio subagudo, predomina inflamação mononuclear próximo à junção corticomedular (JONES et al., 2000; NEWMAN et al., 2007). O infiltrado intersticial é constituído principalmente por linfócitos e plasmócitos e por menor quantidade de macrófagos. Neutrófilos são vistos basicamente na luz tubular (NEWMAN et al., 2007)

Estudos mais antigos (TAYLOR et al., 1970) com leptospirose associada ao sorovar *canicola* descrevem nefrite intersticial como um achado muito comum, contudo, estudos mais recentes (ORTEGA-PACHECO et al., 2008) demonstraram glomerulonefrite como outro achado muito frequentemente associado à leptospirose por esse sorovar, entretanto, uma ocasional lesão glomerular leve é descrita já há vários anos e sempre foi considerada como um achado de envolvimento secundário (JONES et al., 2000).

No fígado, as alterações são usualmente muito leves. Pode haver aumento no número de neutrófilos no interior de sinusoides, hipertrofia das células de Kupffer e bilestase, ou seja, uma típica reação hepática à bacteremia (JONES et al., 2000). Bilestase é frequentemente aparente e necrose aleatória de hepatócitos também pode ser observada (CULLEN, 2007), assim como o aumento no número de figuras mitóticas e de células binucleadas o que

evidencia a tentativa de regeneração hepática (PRESCOTT, 2007). No entanto, embora icterícia e bilestase intracanalicular sejam frequentes, os ductos biliares comumente ficam vazios (JONES et al., 2000). A dissociação de hepatócitos é uma alteração hepática comum (JONES et al., 2000; CULLEN, 2007), mas não específica (CULLEN, 2007), pois não se limita somente à leptospirose (JONES et al., 2000).

Congestão e edema pulmonar são achados comuns, mas infiltrado inflamatório nos alvéolos não é proeminente. Outras alterações incluem deposição de fibrina (GREENE et al., 2006), formação de membrana hialina, caracterizando dano alveolar difuso (O'NEIL et al., 1991), e hemorragia (JONES et al., 2000). Segundo alguns poucos autores (GRENEE et al., 2006), o envolvimento do trato respiratório é comum na infecção pelo sorovar *icterohemorrhagiae*, contudo, quando se trata do sorovar *canicola*, podem-se observar lesões secundárias à uremia, como mineralização e necrose fibrinoide.

Os linfonodos podem estar aumentados de volume, edemaciados e/ou hemorrágicos. Histologicamente há depleção de linfócitos e aumento das células reticulares sinusoidais. Eritrofagocitose é proeminente (PRESCOTT, 2007). Uma lesão pouco citada em cães é a miocardite linfocítica (AREAN, 1962; GRENEE et al., 2006). Relatou-se que a infecção de cães por *Leptospira grippotyphosa* produz hepatite crônica (BISHOP et al., 1979), mas é improvável que leptospiras estejam envolvidas na patogênese da maioria dos casos de hepatite crônica (CULLEN, 2007).

O diagnóstico definitivo da leptospirose pode ser realizado através de dois tipos de procedimento: métodos de detecção de antígenos ou métodos de detecção de anticorpos. O aparecimento de anticorpos em cães depende da espécie afetada, do sorovar infectante e da rota de infecção, mas, em média, ocorre após 10 dias da infecção. Nessa fase há apenas IgM, que tem seu pico em duas a três semanas. A detecção de anticorpos na doença aguda é realizada através de microaglutinação ou ELISA. As amostras são coletadas na fase inicial da doença e após uma semana. Se possível estas amostras devem ser repetidas em intervalos semelhantes ou superiores há duas semanas. Em cães, os resultados são considerados positivos quando há elevação na titulação em, no mínimo, quatro vezes. Para alguns autores, a confirmação do diagnóstico com base na sorologia pareada necessita de uma ascensão de pelo menos 10 vezes (SWANGO et al., 1992).

É importante salientar que na maioria dos casos a titulação realizada na fase inicial da doença aguda tem resultado negativo (“janela imunológica”). Baseado nisso, cabe ressaltar que a sorologia é uma importante ferramenta de diagnóstico nos casos em que os cães sobrevivem à infecção aguda (BARR, 2005). Além disso, resultados positivos isolados podem

não estar relacionados com doença clínica, já que, cães saudáveis podem ser reagentes a certos sorovares de leptospira (GREENE et al., 2006). Para a maior parte dos autores, titulações de 1:50 são consideradas como indicativo de exposição ou vacinação (CULLEN; PEARSON, 2004). Titulações associadas com doença clínica devem ser de no mínimo 1:200 (LEVET, 2001). Entretanto, em estudos recentes realizados nos Estados Unidos (MOORE et al., 2006) e na Austrália (ZWIJNENBERG, 2008), têm sido observado que a maioria dos cães com leptospirose decorrente da infecção pelos sorovares *grippityphosa* e *australis* apresentavam titulação mínima de 1:800 e 1:400 respectivamente.

Nos animais que morrem da forma aguda da doença ou naqueles em que a doença inicial cursa com sorologia negativa devem ser utilizados métodos de detecção de antígenos. Técnicas de detecção de leptospira incluem cultura, imunofluorescência, microscopia de campo escuro, reação em cadeia de polimerase (PCR), histoquímica e imuno-histoquímica (LEVETT, 2001). Wild et al. (2002) consideram a imuno-histoquímica como uma técnica promissora no diagnóstico de leptospirose.

Embora leptospirose seja reconhecidamente uma das doenças infecciosas mais frequentemente descrita em cães, a falta de um padrão de lesão consistente dificulta o diagnóstico definitivo dessa doença com base apenas na necropsia. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é estabelecer critérios anatomopatológicos para o diagnóstico da leptospirose em cães, a fim de minimizar os problemas relacionados a essa enfermidade na rotina do diagnóstico em patologia.



## **2. CAPÍTULO 1**

### **Aspectos anatomopatológicos da leptospirose em cães: 53 casos (1965-2011)**

Camila Tochetto, Mariana M. Flores, Glaucia D. Kommers, Claudio S.L. Barros e Rafael A. Fighera

Artigo aceito para publicação na revista Pesquisa Veterinária Brasileira.

## Aspectos anatomopatológicos da leptospirose em cães: 53 casos (1965-2011)<sup>1</sup>

Camila Tochetto<sup>2</sup>, Mariana M. Flores<sup>2</sup>, Glaucia D. Kommers<sup>3</sup>, Claudio S.L. Barros<sup>3</sup>  
e Rafael A. Fighera<sup>3\*</sup>

**ABSTRACT.**- Tochetto C., Flores M.M., Kommers G.D., Barros C.S.L. & Fighera R.A. 2012. [**Pathological aspects of leptospirosis in dogs: 53 cases (1965-2011).**] Aspectos anatomopatológicos da leptospirose em cães: 53 casos (1965-2011). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32(00)00-00. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: [anemiaveterinaria@yahoo.com.br](mailto:anemiaveterinaria@yahoo.com.br)

The pathological aspects of canine leptospirosis were studied in 53 dogs with a conclusive diagnosis of the disease, as confirmed by immunohistochemistry on renal tissue. Main necropsy lesions included icterus (79.2%) and hemorrhage (75.5%), mainly in the lungs (56.6%). Gross hepatic (56.6%) and renal (50.9%) changes were frequently found and were characterized mainly by discoloration (respectively 30.2% and 32.1%), accentuation of hepatic lobular pattern (26.4%) and white streaks in the cut surface of kidneys (22.6%). Extrarenal lesions secondary to uremia occurred in half of the cases (50.9%). Enlarged livers (11.3%), and kidneys (9.4%), and rough renal capsular surfaces (3.8%) were less common findings. In the histopathology of the kidneys (n=53), the encountered lesions (98.1%) were almost exclusively acute or subacute (96.2%) and were characterized by varying degrees of tubular nephrosis (86.8%) and non-suppurative interstitial nephritis (60.4%), with evident degenerative-inflammatory dissociation. In the histopathology of the liver (n=42), the encountered lesions (97.6%) consisted mainly of hepatocellular dissociation (78.6%), intracanalicular cholestasis (33.3%) and hepatocellular necrosis (31%). Reactive lesions, such as Kupffer cell hypertrophy, sinusoidal leucocytostasis and inflammatory mononuclear infiltrate within portal triads were observed in several cases (42.8%). In the histopathology of the lung (n=28), alveolar hemorrhage (85.7%) and edema (57.1%) were rather frequent lesions. Neutrophils and macrophages in the alveolar spaces (35.7%) and neutrophils within small pulmonary vessels (17.9%) were also frequent findings. The findings stemming from the current study should serve as an alert for Brazilian veterinary pathologists, since the pathological presentations of canine leptospirosis in this region (Central Region of the State of Rio Grande do Sul, Brazil) did not change in the last 50 years, and is still similar to that described worldwide up to the decade of 1980's, but rather different from that currently recognized in the United States, Canada and part of West Europe. We recommend that the histopathological criteria for the diagnosis of canine leptospirosis should include the concomitant occurrence of acute or subacute tubulointerstitial nephritis, non specific reactive hepatitis and diffuse alveolar damage, including diffuse alveolar hemorrhage with capillaritis, in a dog which at necropsy had presented icterus, hemorrhage and extrarenal lesions of uremia without splenomegaly.

INDEX TERMS: Diseases of dogs, infectology, pathology, leptospirosis, *Leptospira icterohemorrhagiae*.

<sup>1</sup> Recebido em 30 de janeiro de 2012.

Aceito para publicação em 22 de fevereiro de 2012.

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia Veterinária, Centro de Ciências Rurais (CCR), Univer-

sidade Federal de Santa Maria (UFSM), Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Av. Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900. \*Autor para correspondência: [anemiaveterinaria@yahoo.com.br](mailto:anemiaveterinaria@yahoo.com.br)

**RESUMO.**- Os aspectos anatomopatológicos da leptospirose foram estudados em 53 cães que tiveram diagnóstico definitivo confirmado por imuno-histoquímica do tecido renal. Na necropsia, as principais lesões observadas incluíram icterícia (79,2%) e hemorragia (75,5%), principalmente no pulmão (56,6%). Alterações macroscópicas hepáticas (56,6%) e renais (50,9%) foram frequentes e caracterizavam-se principalmente por descolorações (30,2% e 32,1% respectivamente), acentuação do padrão lobular hepático (26,4%) e estriações brancas na superfície de corte dos rins (22,6%). Lesões extrarrenais de uremia ocorreram na metade dos casos (50,9%). Hepatomegalia (11,3%), nefromegalia (9,4%) e irregularidade da superfície capsular dos rins (3,8%) foram menos comuns. Na histologia dos rins (n=53), as lesões encontradas (98,1%) foram quase que exclusivamente agudas ou subagudas (96,2%) e caracterizavam-se por graus variados de nefrose tubular (86,8%) e nefrite intersticial não supurativa (60,4%), com evidente dissociação degenerativo-inflamatória. Na histologia do fígado (n=42), as lesões encontradas (97,6%) eram constituídas principalmente por dissociação dos cordões de hepatócitos (78,6%), colestase intra-canalicular (33,3%) e necrose hepática (31%). Lesões reativas, como hipertrofia das células de Kupffer, leucocitostase sinusoidal e infiltrado inflamatório mononuclear nos espaços porta, foram vistas em muitos casos (42,8%). Na histologia do pulmão (n=28), hemorragia (85,7%) e edema (57,1%) alveolares foram muito prevalentes. Neutrófilos e macrófagos nos espaços alveolares (35,7%) e neutrófilos no interior de pequenos vasos pulmonares (17,9%) também foram achados frequentes. Os resultados aqui demonstrados devem servir de alerta aos patologistas veterinários brasileiros, pois a apresentação anatomopatológica da leptospirose canina em nossa região (Região Central do Rio Grande do Sul, Brasil) não se modificou nos últimos 50 anos, mantendo-se semelhante àquela descrita internacionalmente até a década de 1980, mas muito diferente do que é atualmente reconhecido para os Estados Unidos, o Canadá e parte da Europa Ocidental. Recomendamos que os critérios histopatológicos para o diagnóstico da leptospirose canina devem incluir a presença concomitante de nefrite tubulointersticial aguda ou subaguda, hepatite reativa não específica e lesão alveolar difusa, incluindo hemorragia alveolar difusa com capilarite, em um cão que durante a necropsia demonstre icterícia, hemorragias e lesões extrarrenais de uremia na ausência de esplenomegalia.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** Doenças de cães, infectologia, patologia, leptospirose, *Leptospira icterohemorrhagiae*.

## INTRODUÇÃO

O diagnóstico da leptospirose pode ser realizado por diferentes técnicas, mas clinicamente os métodos baseiam-se na detecção direta ou indireta do agente ou de seu material genético (Levett 2001). A detecção de anticorpos específicos pode ser realizada pelo teste de aglutinação microscópica (MAT) ou por teste imunoenzimático (ELISA), já leptospirosas podem ser detectadas por cultura da urina, microscopia de campo escuro e reação em cadeia de polime-

rase (PCR) (Adler & De La Peña-Moctezuma 2010). Embora todos esses métodos possam dar uma falsa ideia de facilidade diagnóstica, é muito comum que casos suspeitos jamais sejam confirmados. Embora haja vários motivos para isso, a morte aguda dos cães infectados é a principal causa em nossa rotina, pois inviabiliza a sorologia pareada através do MAT, o método mais recomendado (“teste padrão ouro”) (Faine et al. 1999) e também o mais utilizado mundialmente no diagnóstico dessa doença (Van de Maele et al. 2008). Com base nessa problemática, quase a totalidade do diagnóstico definitivo de leptospirose em nossa região (Região Central do Rio Grande do Sul) tem sido realizado, ao longo dos anos (1965-2011), de acordo com os achados anatomopatológicos. Entretanto, muitos são os problemas enfrentados pelo patologista para realização desse diagnóstico, tais limitações incluem principalmente casos em que as lesões são escassas e aqueles em que técnicas de impregnação pela prata (por exemplo, Warthin-Starry) (Adin & Cowgill 2000) têm resultados duvidosos. A consequência disso pode ser contemplada na forma de resultados falso-positivos e falso-negativos e principalmente na arbitrariedade em firmar o diagnóstico definitivo à necropsia.

Embora leptospirose seja reconhecidamente uma das doenças infecciosas mais frequentemente descritas em cães e sua alta prevalência na Região Central do RS a coloque como a quarta doença infecciosa mais letal para essa espécie (Figuera et al. 2008), não existem critérios morfológicos para a realização do diagnóstico definitivo com base apenas na necropsia, o que têm colocado essa doença como um desafio ao patologista. Assim, o objetivo principal deste trabalho é estabelecer critérios anatomopatológicos para o diagnóstico da leptospirose, a fim de minimizar os problemas relacionados a essa doença na rotina do diagnóstico em patologia.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os casos incluídos neste trabalho ocorreram entre 1965 e 2011, no Município de Santa Maria, localizado na Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense, popularmente conhecida como Região Central do RS. Foram considerados apenas casos espontâneos e fatais da doença (n=53).

O método de inclusão dos casos no estudo seguiu a seguinte sistemática: 1) foram resgatados do arquivo do Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) todos os casos diagnosticados como leptospirose no referido período, independentemente dos critérios utilizados no diagnóstico por cada patologista (n=135); 2) foram reavaliados histologicamente todos os casos em que os blocos de parafina foram encontrados (n=112); 3) foram selecionados apenas os casos em que haviam lesões reconhecidas na literatura como associadas à leptospirose (n=103); 4) desses casos, apenas aqueles em que havia blocos de parafina de tecido renal foram incluídos (n=81); 5) foi realizada imuno-histoquímica<sup>4</sup> para confirmação do diagnóstico definitivo apenas nos casos em que o tecido renal foi considerado viável em quantidade e qualidade (n=79); 6) os casos positivos foram identificados e correspondem aos resultados aqui demonstrados (n=53).

<sup>4</sup> Serotec 5633-4956®, AbD Serotec, Business Park, Langford Lane, Kidlington, OX5 1GE, Oxford, Oxfordshire, UK.

## RESULTADOS

### Achados de necropsia

Na necropsia (n=53), a maior parte dos cães (42/53 [79,2%]) apresentava icterícia, que se caracterizava por graus variáveis de amarelamento das mucosas externamente visíveis (oral [Fig.1], 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. Algum grau de hemorragia foi observado em boa parte dos cães (40/53 [75,5%]). Essas hemorragias ocorriam na forma de petéquias e sufusões (incluindo víbices) e afetavam vários órgãos, de forma isolada ou multicêntrica, mas principalmente o pulmão (30/53 [56,6%]). Hemorragias cavitárias, na forma de hemotórax (3/53 [5,7%]), hemoperitônio (1/53 [1,9%]) e hemopericárdio (1/53 [1,9%]), também foram ocasionalmente observadas. Muitos dos cães (36/53 [67,9%]) apresentavam, concomitantemente, icterícia e hemorragia.



Fig.1. Mucosa oral com acentuado amarelamento (icterícia), na leptospirose canina.

O fígado apresentava alterações macroscópicas em vários cães (30/53 [56,6%]). Essas alterações incluíam, em ordem decrescente de frequência: mudança na cor do órgão (fígados descritos como pálido, amarelo, amarelado, vermelho-tijolo, vermelho-alaranjado, marrom-alaranjado e esverdeado) (16/53 [30,2%]) (Fig.2), acentuação do padrão lobular (14/53 [26,4%]) (Fig.3) e aumento difuso de volume (hepatomegalia) (6/53 [11,3%]). Hemorragias na vesícula biliar, incluindo a presença de bile com sangue (Fig.4), foram observadas em poucos casos (3/53 [5,7%]).

Alterações renais macroscópicas foram vistas em cerca de metade dos cães (27/53 [50,9%]). Descolorações (rins descritos como amarelos, amarelados, pálidos, esverdeados ou verdes) foram os achados mais frequentes (17/53 [32,1%]) (Fig.5), seguidas de estriações brancas na superfície de corte (12/53 [22,6%]), aumento difuso de volume (nefromegalia) (5/53 [9,4%]) e discreta irregularidade da superfície capsular (2/53 [3,8%]). Hemorragias na superfície capsular (Fig.6) foram observadas em poucos casos (3/53 [5,7%]).

Lesões extrarrenais de uremia foram observadas em aproximadamente a metade dos cães (27/53 [50,9%]) e incluíam: gastropatia urêmica (22/53 [41,5%]), enteropa-

tia urêmica (14/53 [26,4%]), pneumopatia urêmica (4/53 [7,5%]), mineralização da pleura parietal (3/53 [5,7%]), glossite ulcerativa (2/53 [3,8%]), endocardite mural ulcerativa (2/53 [3,8%]), mineralização da íntima da artéria aorta e hiperplasia difusa das glândulas paratireóides (1/53 [1,9%]).

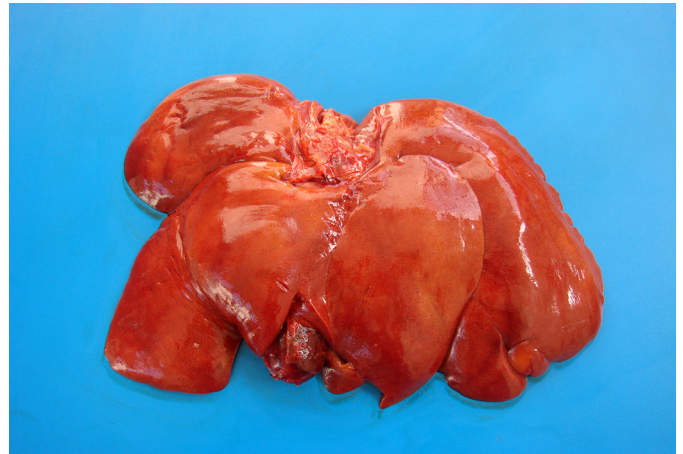


Fig.2. Fígado vermelho-alaranjado, uma forma de descoloração difusa frequentemente denominada pela coloquial expressão "fígado cor de tijolo", na leptospirose canina.



Fig.3. Marcada acentuação do padrão lobular do fígado, na leptospirose canina.

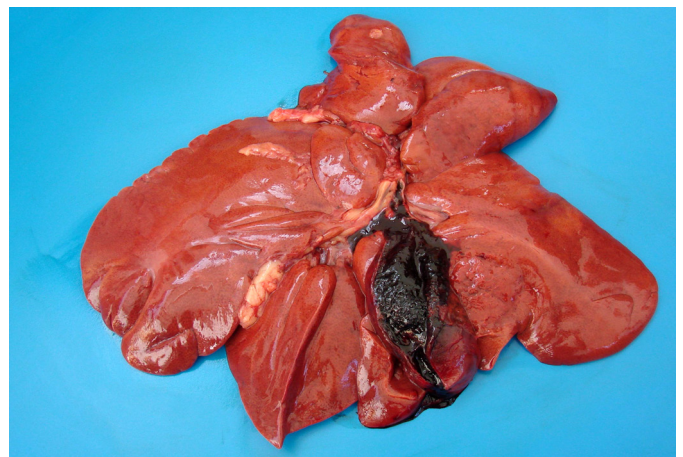


Fig.4. A vesícula biliar está aberta deixando fluir bile com sangue e o fígado demonstra a mesma descoloração vista na Figura 2, na leptospirose canina.

Havia edema pulmonar em aproximadamente a metade dos cães (22/53 [41,5%]) (Fig.7) e, em pelo menos um quarto dos casos (14/53 [26,4%]), edema e hemorragia ocorreram simultaneamente no pulmão (Fig.8). Nesses casos, os pulmões não colapsaram quando a cavidade torácica foi aberta; eram pesados, úmidos, brilhantes, difusamente vermelho-escuros, deixavam fluir muito líquido quando cortados e apresentavam variável quantidade de espuma amarela, rósea ou vermelha no interior da traqueia e dos grandes brônquios. Hidrotórax, hidropericárdio e ascite foram observados apenas ocasionalmente (5/53 [9,4%], 4/53 [7,5%] e 2/53 [3,8%], respectivamente).

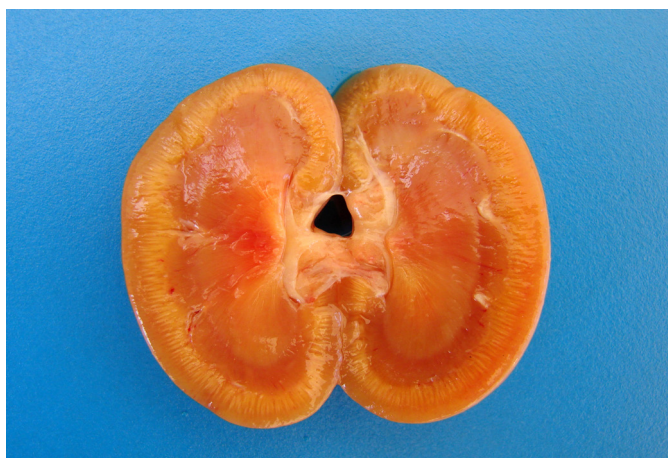
Achados de necropsia menos prevalentes incluíram: caquexia (6/53 [11,3%]), linfadenomegalia generalizada (5/53 [9,4%]), necrose da gordura abdominal (4/53 [7,5%]), palidez das mucosas e sangue aquoso (2/53 [3,8%]), tonsilomegalia (1/53 [1,9%]) e intussuscepção (1/53 [1,9%]).

### Achados histopatológicos

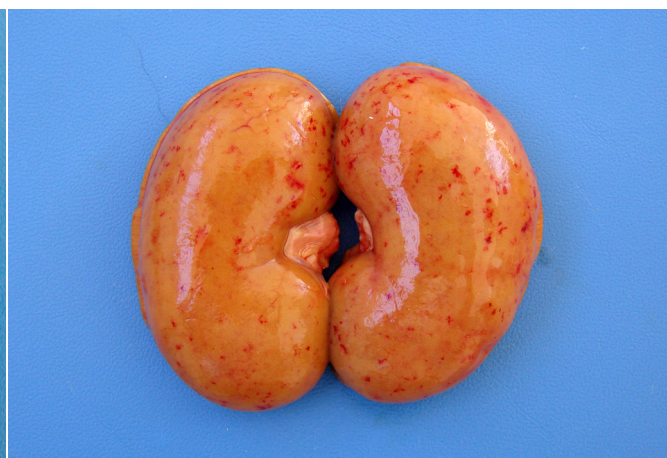
Nos rins (n=53), as lesões encontradas (52/53 [98,1%]) foram quase que exclusivamente agudas ou subagudas (51/53 [96,2%]) e caracterizavam-se por graus variados de

degeneração e necrose do epitélio tubular (nefrose tubular) (46/53 [86,8%]) (Fig.9). Nos casos graves (15/53 [28,3%]) havia grande quantidade de debris celulares e cilindros (hialinos e/ou granulares) obstruindo parcial ou totalmente a luz dos túbulos (obstrução tubular), já nos casos leves (14/53 [26,4%]) a moderados (17/53 [32,1%]) havia apenas proteinose tubular, pequena quantidade de células necróticas na luz dos túbulos e/ou cilindros esparsos. Em muitos casos (32/53 [60,4%]) havia variável grau de inflamação intersticial constituída predominantemente por linfócitos e plasmócitos, mas também por macrófagos e raros neutrófilos (Fig.10). A nefrite intersticial foi dividida de acordo com a intensidade do infiltrado da seguinte maneira: leve (14/53 [26,4%]), moderada (11/53 [20,8%]) e acentuada (7/53 [13,2%]). Quase sempre a nefrite intersticial foi acompanhada de algum grau de nefrose tubular (27/32 [84,4%]), caracterizando nefrite tubulointersticial, mas muitos casos de nefrose tubular ocorreram isoladamente (19/46 [41,3%]).

Lesões renais menos frequentemente observadas incluíram: mineralização (7/53 [13,2%]), ectasia tubular, aglomerados de neutrófilos intratubulares, cristais intratubulares, pigmento biliar no interior dos túbulos e regeneração



5



6



7



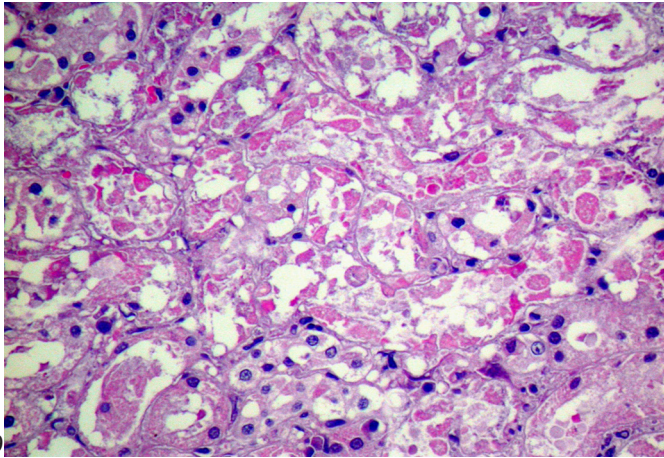
8

Fig.5. Intenso amarelamento cortical e medular do rim, na leptospirose canina.

Fig.7. No pulmão, a ausência em colapsar associada ao aspecto úmido e brilhante é típica dessa forma de apresentação, comumente denominada pela coloquial expressão "pulmão armado"; na traqueia há acentuada quantidade de espuma branca (edema pulmonar). Caso de leptospirose canina.

Fig.6. Hemorragias multifocais em um rim amarelo-pálido, na leptospirose canina.

Fig.8. Clássica hemorragia pulmonar, uma lesão muito comum e que no passado foi descrita como "hemorragia em asa de borboleta", em uma alusão à simetria vista nas asas desse inseto.

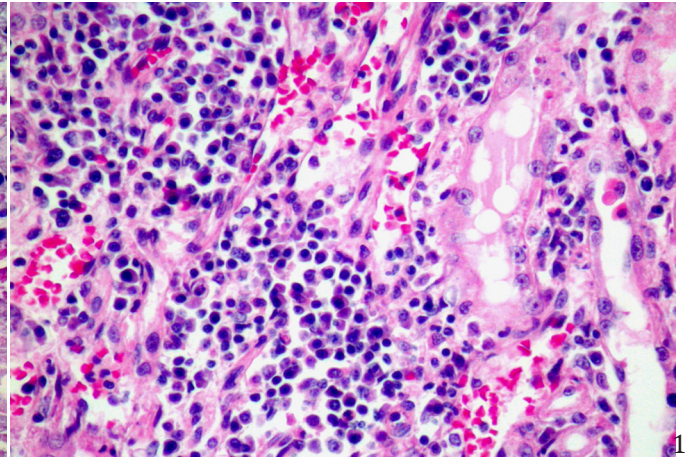


9

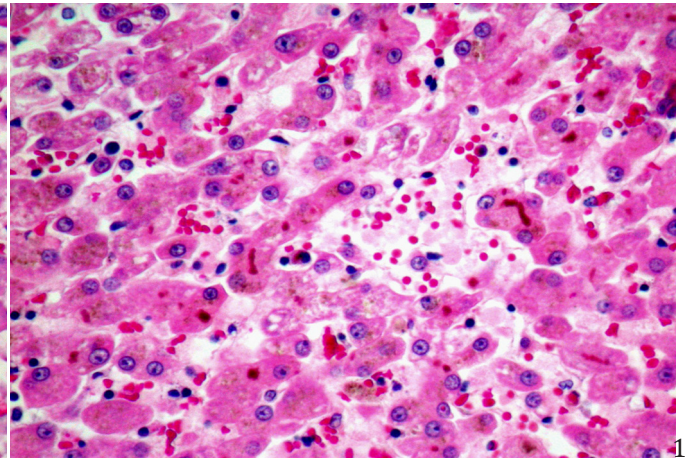
11

Fig.9. Acentuada degeneração e necrose das células epiteliais tubulares no rim, na leptospirose canina. HE, obj.20x.

Fig.11. Acentuada dissociação dos cordões de hepatócitos em um fígado com número aumentado de hepatócitos binucleados, na leptospirose canina. HE, obj.20x.



10



12

Fig.10. Infiltrado inflamatório mononuclear, predominantemente plasmocítico, no interstício renal, na leptospirose canina. HE, obj.20x.

Fig.12. Pigmento biliar no interior dos canaliculos e no citoplasma de hepatócitos; em algumas áreas pode ser notado acúmulo de bilirrubina na forma de estruturas que vagamente lembram microtrombos ("trombos de bile"). Caso de leptospirose canina. HE, obj.20x.

tubular (4/53 [7,5%]). A mineralização foi observada nos túbulos contornados na camada cortical (6/53 [11,3%]), na média das arteríolas (2/53 [3,8%]) e/ou nos túbulos coletores da camada medular (1/53 [1,9%]). Glomerulonefrite membranoproliferativa (2/53 [3,8%]), fibrose intersticial com atrofia tubular, necrose fibrinoide de arteríolas e nefrite embólica foram observadas apenas ocasionalmente (1/53 [1,9%]). Apenas um cão (1/53 [1,9%]) não apresentou lesão renal.

No fígado (n=42), as lesões encontradas (41/42 [97,6%]) eram constituídas principalmente por dissociação dos cordões de hepatócitos (33/42 [78,6%]) (Fig.11) e acúmulo de pigmento biliar (14/42 [33,3%]), basicamente no interior dos canaliculos (Fig.12). Necrose hepática pôde ser vista em vários casos (13/42 [31%]) e foi subdividida em: necrose hepatocelular individual (8/42 [19%]) (Fig.13), necrose hepatocelular aleatória (4/42 [9,5%]) e necrose hepatocelular zonal (padrão centrolobular) (3/42 [7,1%]). Em alguns casos (11/42 [26,2%]), havia hipertrofia das células de Kupffer; em pelo menos cinco fígados (11,9%) essa lesão estava associada à eritrofagocitose (Fig.14). Adicio-

nalmente, foi observada degeneração vacuolar de hepatócitos (9/42 [21,4%]), neutrófilos no interior dos sinusoides (leucocitostase sinusoidal) (7/42 [16,7%]) (Fig.15), infiltrado inflamatório mononuclear nos espaços porta (3/42 [7,1%]), aumento do número de hepatócitos binucleados (2/42 [4,8%]) e em mitose (2/42 [4,8%]) e infiltrado inflamatório mononuclear na forma de agregados aleatórios no parênquima (pseudogranuloma de células de Kupffer) (2/42 [4,8%]). Apenas um cão (1/42 [2,4%]) não apresentou lesão hepática.

No pulmão (n=28), hemorragia (24/28 [85,7%]) e edema (16/28 [57,1%]) alveolares foram as lesões histológicas mais prevalentes. À semelhança dos achados macroscópicos, observamos que pelo menos a metade dos cães (14/28 [50%]) demonstravam, simultaneamente, edema pulmonar e hemorragia. Dos casos em que havia edema pulmonar, dois padrões histológicos distintos puderam ser identificados. No mais comum deles (12/28 [42,9%]), havia variável quantidade de material granular e fracamente eosinófilico (filamentos de fibrina) (Fig.16) ou de lamelas concêntricas e fortemente eosinofílicas (coágulos de fibrina) (Fig.17) que

obliteravam a luz alveolar (fase exsudativa da lesão alveolar difusa) e hemorragia alveolar moderada a acentuada (Fig.18). Em quase todos esses casos havia neutrófilos e macrófagos nos espaços alveolares (10/28 [35,7%]) e em alguns deles (5/28 [17,9%]) havia agregados de neutrófilos no interior de microvasos pulmonares de paredes variavelmente hialinizadas (capilarite) (Fig.19). Em poucos casos (2/28 [7,1%]) havia hiperplasia de pneumócitos tipo II e formação de membranas hialinas. No padrão pulmonar menos comum (4/28 [14,3%]), havia edema associado à marcada mineralização dos septos alveolares. Nessa apresentação, neutrófilos e pequena quantidade de fibrina podiam ser evidenciados apenas ao redor dos septos alveolares mineralizados (pneumopatia urêmica). Com base na ausência de hemossiderina em todos os pulmões afetados pela hemorragia, as lesões pulmonares foram consideradas agudas.

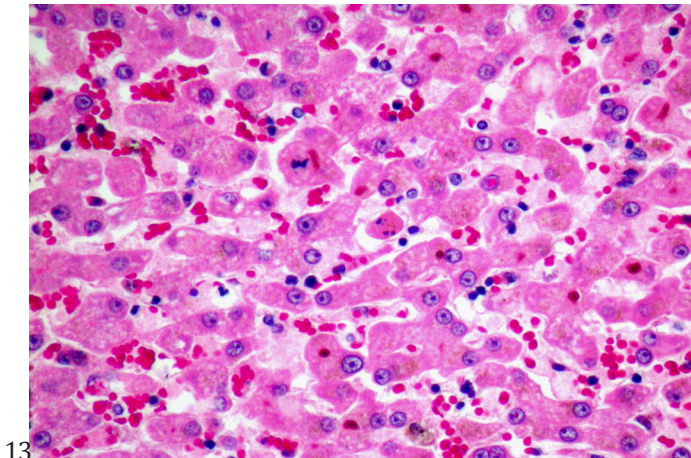
### Achados imuno-histoquímicos

Na imuno-histoquímica, dos 79 rins testados, 53 (67,1%) foram positivos. Quanto à intensidade, a maior

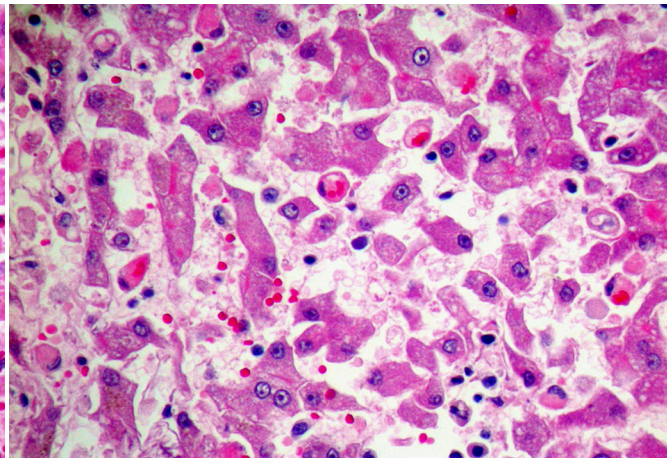
parte dos casos foi considerado como moderada (35/53 [66%]). Marcação leve (16/53 [30,2%]) e acentuada (2/53 [3,8%]) foram menos comuns. Quanto à localização, quase a totalidade dos rins demonstrou imunomarcção intratubular (50/53 [94,3%]). Em alguns casos ocorreu imunomarcção intraglomerular (4/53 [7,5%]) ou intersticial (8/53 [15,1%]). Três padrões morfológicos de imunomarcção foram observados: 1) filamentar, visualizado exclusivamente na luz tubular; 2) granular, observado tanto no citoplasma das células epiteliais tubulares e dos macrófagos quanto na luz dos túbulos, local em que a grande quantidade de grânulos frequentemente formava agregados densos e bastante evidentes (Fig.20); 3) homogêneo, caracterizado por preenchimento difuso do citoplasma dos macrófagos.

### DISCUSSÃO

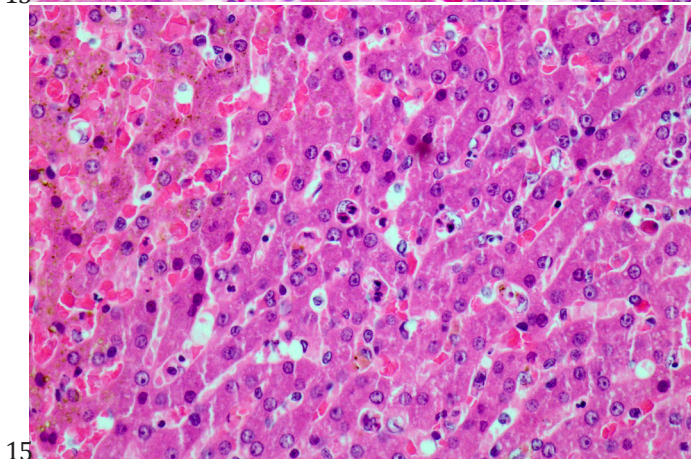
Os achados anatomopatológicos observados nestes 53 casos de leptospirose são semelhantes aos descritos na literatura internacional, entretanto, importantes diferenças foram observadas, novas lesões descritas e algumas reco-



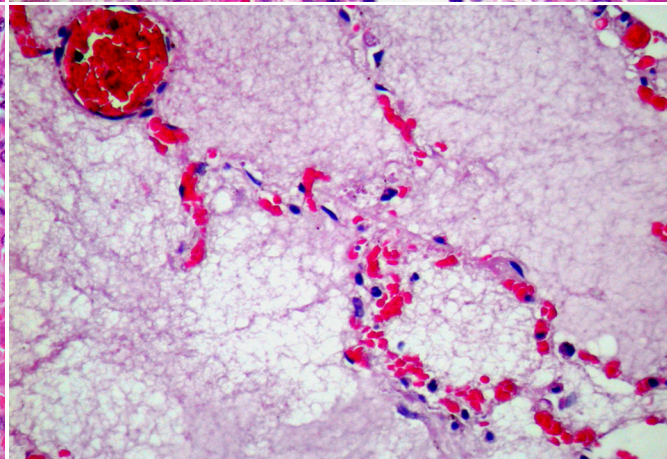
13



14



15



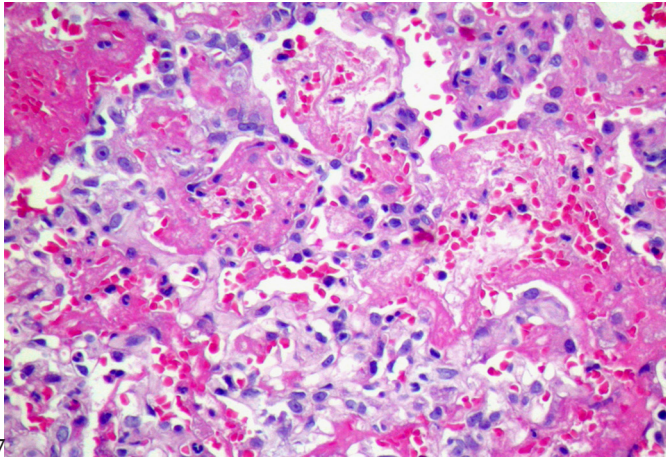
16

Fig.13. Necrose hepatocelular individual é evidenciada ao centro dessa figura, onde se pode observar um hepatócito com hiper eosinofilia citoplasmática e fragmentação nuclear; há também colestase e mitose. Caso de leptospirose canina. HE, obj.20x.

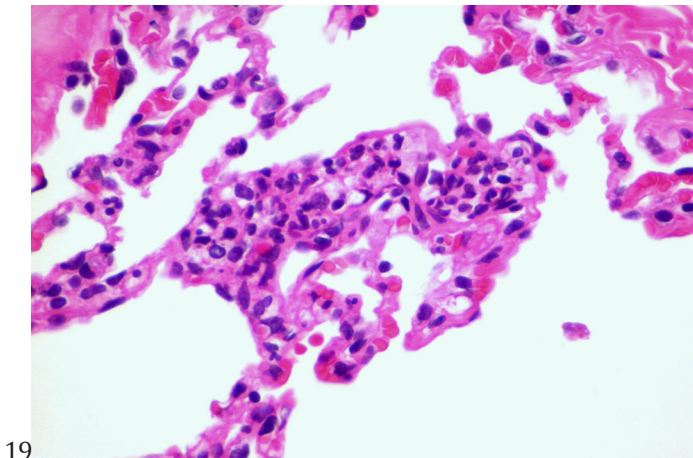
Fig.15. Presença de grande quantidade de neutrófilos no interior dos sinusoides hepáticos; assim como a necrose individual de hepatócitos (Fig.13) e a hipertrofia de células de Kupffer (Fig.14), essa lesão é um indicativo de hepatite reativa não específica. HE, obj.20x.

Fig.14. Fígado com hipertrofia de células de Kupffer; há eritrócitos no citoplasma de algumas dessas células (eritrofagocitose). Dissociação acentuada dos cordões de hepatócitos também é observada nessa imagem. Caso de leptospirose canina. HE, obj.20x.

Fig.16. No pulmão há material granular e fracamente eosinofílico (filamentos de fibrina) obliterando completamente os espaços alveolares. HE, obj.20x.



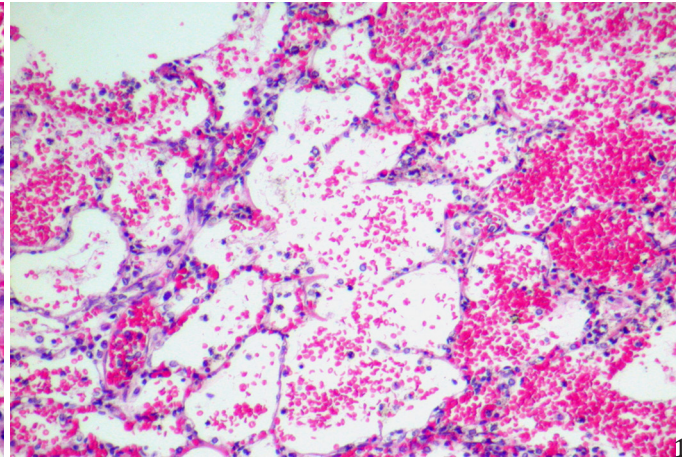
17



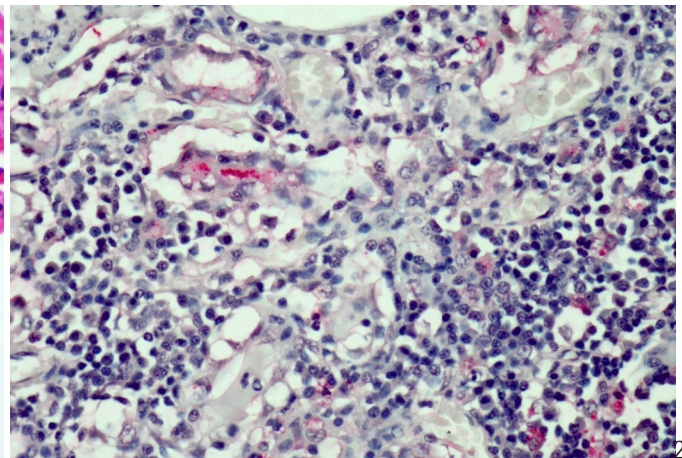
19

Fig.17. Pulmão com lamelas concêntricas e fortemente eosinofílicas (coágulos de fibrina) obscurecendo a arquitetura alveolar. Esse padrão, assim como o demonstrado na Figura 16, caracteriza a fase exsudativa da lesão alveolar difusa. HE, obj.20x.

Fig.19. Pulmão com presença de agregados de neutrófilos no interior de microvasos (capilarite pulmonar). HE, obj.40x.



18



20

Fig.18. Pulmão com grande quantidade de eritrócitos nos espaços alveolares (hemorragia alveolar aguda). HE, obj.20x.

Fig.20. No rim, imunorreatividade é observada na forma de densos agregados vermelhos no lúmen tubular e de grânulos esparsos no citoplasma de macrófagos, na leptospirose canina. Imuno-histoquímica (método da estreptavidina-biotina-fosfatase alcalina), obj.20x.

mendações feitas a fim de melhorar o diagnóstico anatomopatológico. Tais aspectos norteiam essa discussão e são determinantes para as conclusões.

No Brasil, notoriamente, clínicos e patologistas consideram icterícia e hemorragias como lesões típicas de leptospirose, principalmente quando relacionadas à infecção com o sorovar *icterohemorrhagiae*. Esse conhecimento advém basicamente de livros-texto de clínica médica de pequenos animais (Hoskins 1990, Ettinger 1992, Nelson & Couto 1992) e de patologia veterinária (Jubb & Kennedy 1970, Niebele & Cohrs 1970, Manninger & Mócsy 1973, Thomson 1988) publicados até o final da década de 1980 e início da década de 1990. Tais livros, muito adotados nas escolas de veterinária do país, colocam leptospirose como uma doença que se caracteriza por icterícia, hemorragia e uremia, já que os autores dos capítulos que contemplam o tema (Jubb & Kennedy 1970, Niebele & Cohrs 1970, Manninger & Mócsy 1973, Searcy 1988, Center et al. 1990, Lappin 1992, Swango et al. 1992) tratam-na como uma doença que cursa com algum grau de lesão hepática, vascular e renal, o que explica, respectivamente, tais síndromes clínicas. Entretanto, edições mais recentes de alguns

desses mesmos livros (Ettinger & Feldman 2004, Maxie 2007, McGavin & Zachary 2007), assim como de outros não menos famosos (Greene et al. 2006), de meados da década de 1990 em diante, não apresentam mais leptospirose como uma doença primariamente associada à icterícia ou à hemorragia, apenas descrevem tais achados com baixa prevalência, dando ênfase principalmente à síndrome urêmica (Greene 2004, Prescott 2007, Newman et al. 2007), à semelhança do que ocorre na maior parte dos relatos de casos mais recentes (Hrinivich & Prescott 1997, Birnbaum et al. 1998, Kalin et al. 1999, Prescott et al. 2002).

Atualmente, uma forma muito comum de conduta médica utiliza o já consagrado método conhecido como “abordagem associada ao problema”, introduzido na medicina veterinária na década de 1990 (Lorenz 1996). Assim, livros que contemplam listas de diagnóstico diferencial vêm ganhando espaço cada vez maior na clínica de pequenos animais (Gough 2009). Interessantemente, da mesma forma com que vem ocorrendo com os livros-textos, nos quais eles claramente baseiam-se, listas de doenças que cursam com hemorragia ou icterícia já não mais incluem leptospirose. Essa mudança dramática na abordagem da



mesma doença em um curto intervalo de tempo deve-se à raridade com que leptospirose decorrente de infecção pelas cepas tradicionais (*icterohemorrhagiae* e *canicola*) ocorre atualmente nos Estados Unidos e Canadá (Bunch 2004). Contrapondo isso, leptospirose é atualmente uma doença re-emergente nesses dois países (Prescott et al. 2002), porém, com sinais clínicos e achados anatomopatológicos diferentes dos que eram vistos no passado, quando leptospirose associada ao sorovar *icterohemorrhagiae* era enzoótica (Meyer et al. 1939, Newman 1950, Alexander et al. 1957, Braun 1961, Kravis & Ivler 1961, Hubbert & Shotts 1966, Thomas & Evans 1967, Benoit 1970, Chernesky 1970, Thiermann 1980). Prova disso é que os sinais clínicos de leptospirose canina disponíveis no site do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) nem sequer incluem icterícia e hemorragia (CDC 2012). Para muitos autores (Prescott et al. 1991, Rentko et al. 1992, Bolin 1996, Brown et al. 1996, Harkin & Gartrell 1996, Wohl 1996, Mikaelian et al. 1997, Birnbaum et al. 1998, Warshawsky et al. 1998, Kalin et al. 1999, Prescott et al. 1999, Adin & Cowgill 2000, Ribotta et al. 2000, Prescott et al. 2002, Ward 2002, Langston & Heuter 2003, Stokes & Forrester 2004, Ward et al. 2004, André-Fontaine 2006, Moore et al. 2006, Ghneim et al. 2007, Brown & Prescott 2008, Prescott 2008, Van de Maele et al. 2008, Sykes et al. 2011), isso decorre do fato que a vacinação contra leptospirose tornou-se efetiva a ponto da doença causada pelos sorovares contemplados na maioria das vacinas (*icterohemorrhagiae* e *canicola*) estar se extinguindo, enquanto uma nova forma de apresentação clinicopatológica de leptospirose, causada por outros sorovares, principalmente *grippityphosa* e *pomona*, surge, possivelmente pelo contato cada vez mais constante entre cães e mamíferos selvagens, principalmente racuns (*Procyon lotor*) e skunks (*Mephitis mephitis*). Nessa mesma linha de raciocínio, estudos recentes demonstram estabilização na quantidade de novos casos no Canadá entre 2002 e 2004 e decréscimo a partir desse ano, talvez pela introdução dos sorovares *grippityphosa* e *pomona* nas vacinas desse país a partir de 2001 (Alton et al. 2009). Diferentemente, no sul do Brasil, trabalhos têm demonstrado que os sorovares *canicola* e *icterohemorrhagiae* ainda são os mais prevalentes (Avila et al. 1998), à semelhança do que ocorre em outros países, como no México (Jimenez-Coello et al. 2008) e no Japão (Iwamoto et al. 2009).

Diversas são as doenças que como a leptospirose também cursam com icterícia ou com algum tipo de distúrbio hemorrágico em cães. Em nossa região, os principais diagnósticos diferenciais para leptospirose deverão incluir: rangeliose, babesiose, erlichiose monocitotrófica aguda e hepatite infecciosa canina (Figuera et al. 2010). Em relação à infecção por *Rangelia vitalii*, *Babesia* spp. e *Ehrlichia canis* existem algumas diferenças marcantes que permitem estabelecer o diagnóstico definitivo. Nessas três doenças, os achados clínicos e hematológicos associados às lesões observadas na necropsia são típicos de anemia hemolítica. Assim, apesar de macroscopicamente semelhantes, a presença de esplenomegalia deverá sempre atentar para hemólise, permitindo descartar leptospirose. A diferenciação entre essas três outras doenças deve levar em conta a

presença (babesiose) ou a ausência (rangeliose e erliquiose) de nefrose hemoglobinúrica e a pesquisa dos microorganismos causadores em esfregaços sanguíneos e nas impressões de órgãos realizadas durante a necropsia (Figuera & Graça 2011). Por fim, na histologia, essas enfermidades são completamente diferentes de leptospirose (Figuera et al. 2010). Na hepatite infecciosa canina, hemorragia é comum (Inkelmann et al. 2007), mas icterícia é observada apenas ocasionalmente, como quando os cães desenvolvem doença subaguda a crônica (Barros & Figuera 2011). Histologicamente, a presença de corpúsculos de inclusão, vista em 100% dos casos (Inkelmann et al. 2008), facilita a diferenciação.

Na necropsia, as lesões observadas nos rins e no fígado são semelhantes àquelas classicamente descritas (Greene et al. 2006), entretanto, a literatura acerca da macroscopia da leptospirose é tão pobre que antigos capítulos de livros de medicina interna de pequenos animais (Center et al. 1990, Swango et al. 1992) trazem tanta informação quanto aqueles destinados à patologia (Cullen 2007, Newman et al. 2007, Prescott 2007, Stalker & Hayes 2007). Estudos retrospectivos que descrevam as lesões de necropsia e suas prevalências na leptospirose canina não são encontrados na literatura disponível, o que torna impossível comparar a prevalência de nossos achados macroscópicos.

Na histologia, as lesões renais por nós encontradas assemelham-se às descritas por outros autores (Greene et al. 2006, Newman et al. 2007, Prescott 2007), entretanto, a literatura internacional mais recente (Sykes et al. 2011) vem dando muito mais ênfase à inflamação do que a degeneração. Nefrose tubular e nefrite intersticial foram observadas em mais de 85% e em cerca de 60% dos casos, respectivamente. O que chama a atenção nesses achados é o predomínio da lesão degenerativa em relação à inflamatória, pois quase todos os cães (84,4%) com nefrite intersticial apresentavam algum grau de nefrose tubular, mas o inverso foi desproporcional, pois apenas cerca da metade dos cães (58,7%) com lesão necrótica também tinham algum grau de inflamação. Essa dissociação degenerativo-inflamatória vai ao encontro do que almejam alguns autores ao afirmar que quanto mais aguda a lesão, maior o grau de degeneração e necrose, enquanto mais tardiamente, no estágio subagudo a crônico, predomina inflamação mononuclear (Newman et al. 2007). Com base nisso, e na macroscopia da maior parte dos rins avaliados, acreditamos que basicamente todos os casos aqui descritos têm evolução aguda ou, no máximo, subaguda. Cabe ressaltar que em apenas 3,8% dos casos havia glomerulonefrite e que, mesmo nesses casos, havia lesão tubulointersticial associada. Isso é relevante, pois recentemente um artigo científico (Ortega-Pacheco et al. 2008) demonstrou glomerulonefrite em 94,3% dos cães submetidos à necropsia (n=122), um resultado completamente diferente de tudo que se conhece acerca da patologia da leptospirose.

No fígado, dissociação dos cordões de hepatócitos e colestase intra-canalicular foram as principais lesões histológicas observadas. Para vários autores (Jones et al. 2000, Cullen 2007, Prescott 2007, Stalker & Hayes 2007), dissociação de hepatócitos é uma alteração comum na leptospi-

rose, mas não específica, pois não se limita somente a essa doença, entretanto, desconhecemos qualquer citação dessa lesão em outra condição. Necrose hepática focal (Cullen 2007) e necrose aleatória de hepatócitos (Prescott et al. 2002, Stalker & Hayes 2007), como visto nos casos aqui descritos, já foram relatadas há muitos anos por outros autores (Jubb & Kennedy 1970, Niebele & Cohrs 1970), assim como hipertrofia de células de Kupffer e presença de neutrófilos no interior dos sinusoides (Stalker & Hayes 2007), outrora descrita pela expressão hepatite serosa (Niebele & Cohrs 1970) e atualmente mais bem referida como hepatite reativa não específica (Cullen 2007) ou mudança reativa não específica (Geller & Petrovic 2009a). Acredita-se que esses achados sejam decorrentes da reação hepática à bacteremia (Prescott et al. 2002). Aumento no número de mitoses e de hepatócitos binucleados também já foram descritas e talvez reflitam uma tentativa de regeneração hepática (Prescott 2007).

Os achados anatomopatológicos relacionados ao fígado são também semelhantes aos descritos em humanos há décadas (Geller & Petrovic 2009b), principalmente no que se refere à célebre dissociação de hepatócitos (Beitzke 1916, Areal 1962). Para alguns autores (Brito 1968), essa alteração hepática não é uma lesão verdadeira, mas uma alteração pós-mortal, pois experimentalmente não é vista através de biópsia no período ante-morte (Ostertag 1950, Dotti & Sabbioni 1959, Brito et al. 1967, Alves et al. 1987), apenas na necropsia, o que por muitos anos permitiu inferir de que se tratava de uma alteração agônica ou da aceleração do processo autolítico. Entretanto, estudos sistemáticos, que avaliaram a histologia do fígado diariamente (Alves et al. 1992), levaram a conclusão de que a lesão realmente ocorre em uma fase aguda da doença, mas posteriormente regride, e por isso talvez não seja observada na necropsia de todos os indivíduos afetados. Mais recentemente, uma diminuição da expressão de E-caderina na membrana plasmática dos hepatócitos de humanos com leptospirose, diagnosticada através da imuno-histoquímica em secções de fígado obtidos em necropsias realizadas até seis horas após a morte, tornou-se a mais recente explicação para a dissociação de hepatócitos (Brito et al. 2006).

Embora leptospirose ocorra ocasionalmente como uma doença hemolítica em filhotes de algumas espécies animais, como bovinos, ovinos, caprinos, suínos (Hunter 2004) e, talvez, rinocerontes-negros (*Diceros bicornis*) (Douglas & Plue 1980), nos cães, leptospirose sempre foi vista como uma doença hepatorenal e nunca como uma crise hemolítica (Center et al. 1990, Jones et al. 2000, Greene et al. 2006), entretanto, ocasionalmente, alguns autores ainda aventuram-se a citar tal patogênese para essa espécie (Serakides 2010). Com base na ausência de esplenomegalia e de lesões classicamente associadas à crise hemolítica intravascular (nefrose hemoglobínica, urina tingida de vermelho-tinto e embebição por hemoglobina) podemos afirmar que nenhum dos 53 cães desenvolveu crise hemolítica, entretanto, por algum motivo que não sabemos explicar, cerca de 25% dos cães tinham eritrócitos engolfados por células de Kupffer. Essa eritrofagia já havia sido descrita em casos de leptospirose humana (Brito et al. 1967)

e talvez reflita uma hiperatividade das células de Kupffer hipertróficas em um fígado reativo, mas não de todo o sistema monocítico-macrofágico.

A icterícia vista na leptospirose é facilmente explicada pelo processo hemolítico (Fry & MacGavin 2007, Prescott 2007), entretanto, como citamos no parágrafo anterior, cães, à semelhança de humanos, não desenvolvem hemólise e, portanto, essa não é a patogênese do acúmulo de bilirrubina nos tecidos dessas duas espécies. Assim, muitas teorias foram aventadas para explicar a icterícia da leptospirose em cães e humanos, principalmente com base na disfunção de hepatócitos, uma lesão a nível subcelular (Greene et al. 2006), que ocorreria por dificuldade em absorver (Sandborn et al. 1966), conjugar (Brito 1968) ou excretar (Brito et al. 1967) bilirrubina. Essas hipóteses baseavam-se em antigos estudos ultraestruturais que demonstravam alteração das microvilosidades do pólo sinusoidal (Sandborn et al. 1966) e do pólo canalicular (Brito et al. 1967). Mais recentemente, um estudo imuno-histoquímico (Brito et al. 2006) realizado em fígados de cobaias demonstrou que as leptospirosas não estão presentes apenas nas células de Kupffer, mas também aderidas à membrana plasmática de hepatócitos, o que teoricamente poderia contribuir para disfunção relacionada ao metabolismo das bilirrubinas. A relação entre icterícia e necrose hepática, apontada como linearmente correspondente por alguns autores (Greene et al. 2006), não foi observada neste estudo, já que quase 80% dos cães tinham icterícia e apenas cerca de 30% demonstrou algum padrão de necrose na avaliação histológica do fígado.

No pulmão, lesões macroscópicas foram muito frequentes (cerca de 90% dos casos) e caracterizaram-se macroscopicamente por hemorragia e/ou edema. Em humanos, a verdadeira incidência do envolvimento pulmonar na leptospirose não é conhecida, mas lesões pulmonares são descritas em 20%-70% dos casos (O'Neil et al. 1991, Tattavin et al. 2005, Dolhnikoff et al. 2007). Embora não haja dados de prevalência sobre lesão pulmonar na leptospirose em cães, manifestação clínica foi recentemente descrita em 70% dos casos (Kohn et al. 2010) e é considerada comum em parte da Europa (Sykes et al. 2011), demonstrando que além de síndrome hepatorenal, leptospirose é também uma doença pulmonar importante para essa espécie, embora não haja sequer uma citação sobre lesão pulmonar nos capítulos referente ao sistema respiratório dos dois mais célebres livros de patologia veterinária (Caswell & Williams 2007, López 2007).

Algumas citações sobre anormalidades pulmonares, clínicas e radiológicas na leptospirose canina são encontradas na literatura internacional (Harkin & Gartrell 1996, Birnbaum et al. 1998, Adin & Cowgill 2000, Baumann & Flückiger 2001, Goldstein et al. 2006) e em conjunto denominadas de síndrome hemorrágica pulmonar leptospiral (Sykes et al. 2011), mas os aspectos anatomopatológicos e a prevalência não são sequer abordados. Por muitos anos, hemorragia pulmonar foi a única lesão histológica reconhecida para a doença nessa espécie (Birnbaum et al. 1998), entretanto, recentemente (Kohn et al. 2010), deposição de fibrina intra-alveolar também foi descrita. Esses achados,

em conjunto com edema, foram as lesões mais frequentemente encontradas por nós. Além disso, e ao contrário do que afirmam alguns autores (Greene et al. 2006), observamos com frequência um leve a moderado infiltrado inflamatório nos espaços alveolares, constituído principalmente por macrófagos e neutrófilos, um aspecto semelhante ao que foi descrito na doença humana (Ramachandran & Perera 1977, Nicodemo et al. 1990).

Dos casos em que havia hemorragia pulmonar (12/28 [42,9%]), uma lesão bastante prevalente (5/12 [41,7%]) foi a presença de agregados de neutrófilos, detritos celulares e trombos de fibrina obstruindo a luz dos microvasos pulmonares, que demonstravam graus variáveis de hialinização de suas paredes (necrose capilar fibrinoide), o que é conhecido em patologia humana como capilarite pulmonar (Green et al. 1996, Colby et al. 2001, Borges et al. 2005, Basley 2010, Lara & Schwarz 2010) e já foi descrito na leptospirose (Luks et al. 2003), mas até o momento não havia sido reconhecida para a doença em cães. É possível que esse seja um achado subrepresentado, devido a sua difícil visualização quando frente à hemorragia intensa (Abdulkader et al. 2002). Embora capilarite na leptospirose não tenha sido citada por nenhum trabalho científico ou livro de patologia veterinária, não é incomum observar essa lesão em imagens na literatura (Greene et al. 2006), entretanto, interpretada pelos autores com outras denominações, como pneumonia intersticial ou marginação de neutrófilos em pequenos vasos sanguíneos.

A ocorrência de sintomas pulmonares na leptospirose humana é reconhecida desde a década de 1950 (Silverstein 1953) e para alguns autores o envolvimento pulmonar pode ser a principal manifestação da doença em alguns casos (Poh & Soh 1970, Im et al. 1989, Sehgal et al. 1995), principalmente na forma de síndrome da angústia respiratória aguda (SARA) (Berendsen et al. 1984, Allen et al. 1989, Alani et al. 1993, Emmanouilides et al. 1994, Simpson et al. 1998, Carvalho & Bethlem 2002, Luks et al. 2003, Dolnikoff et al. 2007), entretanto, a maior parte das revisões de literatura sobre SARA sequer trazem leptospirose com causa (Luks et al. 2003). Vários são os padrões histológicos que podem ocorrer em um quadro clínico de SARA, mas a lesão alveolar difusa (Ware & Matthay 2000, Patel et al. 2004) e a hemorragia alveolar difusa (Im et al. 1989, Yersin et al. 2000, Patel et al. 2004) são os mais frequentemente descritos em humanos com leptospirose. Hemorragia alveolar difusa é uma expressão utilizada na literatura médica atual para se referir a uma síndrome clinicopatológica caracterizada por sangramentos que se originam na microvasculatura pulmonar (Dweik et al. 1997). Assim como outras síndromes, a hemorragia alveolar difusa é simplesmente uma manifestação de diversas doenças e o processo comum a todas elas é o sangramento intra-alveolar difuso (Albelda et al. 1985, Schwarz et al. 1994), quase sempre decorrente de capilarite (Lara & Schwarz 2010).

Embora a patogênese da lesão alveolar difusa vista em humanos com leptospirose e que se apresentam com um quadro clínico de SARA não esteja estabelecida, talvez seja a mesma vista em outras infecções por bactérias Gram negativas, ou seja, indução indireta da ativação de neutrófilos e de células

endoteliais, um processo caracterizado por aumento da avididade de ligação dos neutrófilos ao endotélio dos capilares pulmonares e mediado pela liberação de mediadores químicos (por exemplo, fator de necrose tumoral  $\alpha$ , leucotrieno  $B_4$  e interleucina-8) por monócitos e macrófagos pulmonares estimulados pelas endotoxinas (Kobzik 2000). Essa patogênese ganha força quando lembramos que leptospiros possuem lipopolissacarídeos reconhecidamente capazes de funcionar como endotoxinas (Vinh et al. 1986, Estavoyer et al. 1991, Souza & Koury 1992, Dobrina et al. 1995, Lee et al. 2002) e embora ainda não seja comprovada, é suspeitada há décadas tanto para cães (Green et al. 1964, Keenan et al. 1978), quanto para humanos (Brito 1968) e cobaias (Faine 1957). Ultra-estruturalmente, danos às células endoteliais do pulmão de humanos também foram descritos (Nicodemo et al. 1997), e mais recentemente (Croda et al. 2010), uma base imunomediada foi proposta.

Neste trabalho, a imuno-histoquímica foi utilizada unicamente como método de inclusão dos casos a serem estudados. Os diferentes padrões morfológicos de imunomarcagem foram semelhantes àqueles previamente descrito na literatura (Uip et al. 1992). Utilizando essa técnica, alguns autores (Wild et al. 2002, Ramachandran 2007) obtiveram aproximadamente 50% de positividade em rins de humanos e cães com leptospirose. Em contrapartida, imuno-histoquímica do músculo esquelético de humanos com leptospirose demonstrou muito maior (95%) positividade (Uip et al. 1992). Imunomarcagem foi observada em pouco menos de 70% do total de casos inicialmente selecionados, o que fez com que dos 79 casos diagnosticados como leptospirose, apenas 53 pudessem ser utilizados neste estudo. A perda da imunorreatividade por muitos antígenos está relacionada principalmente ao tempo de fixação e a temperatura dos procedimentos subsequentes (Ramos-Vara & Beissenherz 2000). Infelizmente, em estudos retrospectivos torna-se difícil minimizar a influência desses fatores que tanto contribuem para a ocorrência de falso-negativos.

## CONCLUSÕES

Os resultados apresentados demonstram a ocorrência de casos de leptospirose com apresentação anatomopatológica clássica, conforme descrito internacionalmente até a década de 1980, porém diferente em muitos aspectos do que vêm sendo atualmente observado nos Estados Unidos, Canadá e parte da Europa Ocidental.

A partir dos achados de necropsia, ressaltamos a importância em incluir leptospirose como uma causa de hemorragia e icterícia em cães da nossa região, ao contrário do que clínicos e patologistas possam depreender com base na literatura internacional corrente. Embora essas duas lesões sejam comuns a uma variedade de outras doenças, sua ocorrência simultânea na ausência de esplenomegalia é altamente indicativa de leptospirose, pois no cão, ao contrário do que ocorre em muitas outras espécies, a doença definitivamente não se comporta como um distúrbio hemolítico.

A partir dos achados anatomopatológicos observados no rim, recomendamos que a lesão renal vista em cães com leptospirose, e caracterizada por diferentes graus de dissociação degenerativo-inflamatória, seja considerada aguda

ou subaguda e morfológicamente diagnosticada como nefrite tubulointersticial, conforme já o fazem alguns autores.

A partir dos achados anatomopatológicos observados no pulmão, recomendamos que a manifestação morfológica pulmonar vista em cães com leptospirose, e caracterizada por hemorragia, edema, inflamação e deposição de fibrina intra-alveolares, seja considerada uma lesão alveolar difusa e que na presença de agregados de neutrófilos nos microvasos e de necrose capilar seja morfológicamente diagnosticada como hemorragia alveolar difusa com capilarite, à semelhança de como vem sendo chamada em patologia humana.

A partir dos achados anatomopatológicos observados no fígado, consideramos que o conjunto das lesões visto em cães com leptospirose é etiologicamente inespecífico, pois apenas reflete bacteremia, não permitindo o diagnóstico definitivo da doença quando interpretado isoladamente, mas muito sugestivo dessa quando fazendo parte de um contexto em que há também lesões renais e pulmonares. Recomendamos que a lesão hepática vista em cães com leptospirose, e caracterizada por diferentes graus de dissociação de hepatócitos, colestase intra-canalicular, necrose hepatocelular individual, aleatória ou zonal, hipertrofia de células de Kupffer com ou sem eritrofagia, leucocitostase sinusoidal e aumento do número de hepatócitos binucleados e em mitose, seja morfológicamente diagnosticada como hepatite reativa não específica, à semelhança de como é chamado o processo inflamatório agudo e difuso do fígado em resposta a doenças sistêmicas, principalmente em patologia humana e menos frequentemente em patologia veterinária.

A partir dos achados anatomopatológicos observados no rim, no fígado e no pulmão podemos afirmar que leptospirose em cães na Região Central do RS ocorre quase que exclusivamente como uma doença aguda e subaguda. Finalmente, recomendamos que os critérios histopatológicos para o diagnóstico da leptospirose canina devem incluir a presença concomitante de nefrite tubulointersticial aguda ou subaguda, hepatite reativa não específica e lesão alveolar difusa, incluindo hemorragia alveolar difusa com capilarite, em um cão que durante a necropsia demonstrou icterícia, hemorragias e lesões extrarrenais de uremia na ausência de esplenomegalia.

**Agradecimentos.-** Ao Dr. Kurt Williams, patologista norte-americano do *Diagnostic Investigation, College of Veterinary Medicine, Michigan State University*, que auxiliou na interpretação e na validação das expressões utilizadas para definir as lesões pulmonares. Camila Tochetto e Mariana Martins Flores são bolsistas da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), respectivamente.

## REFERÊNCIAS

- Abdulkader R.C., Daher E.F., Camargo E.D., Spinosa C. & Silva M.V. 2002. Leptospirosis severity may be associated with the intensity of humoral immune response. *Revta Inst. Med. Trop.* 44:79-83.
- Adin C.A. & Cowgill L.D. 2000. Treatment and outcome of dogs with leptospirosis: 36 cases (1990-1998). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 216:371-375.
- Adler B. & De La Peña-Moctezuma A. 2010. Leptospira and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 140:287-296.
- Alani F.S.S., Mahoney M.P., Ormerod L.P., Wright P.A. & Garrues M. 1993. Leptospirosis presenting as atypical pneumonia, respiratory failure and pyogenic meningitis. *J. Infect.* 27:281-283.
- Albelda S.M., Geffer W.B., Epstein D.M. & Miller W.T. 1985. Diffuse pulmonary hemorrhage: a review and classification. *Radiology* 154:289-297.
- Alexander A.D., Gleiser C.A., Malnati P. & Yoder H. 1957. Observations on the prevalence of leptospirosis in canine populations of the United States. *Am. J. Hyg.* 65:43-56.
- Allen P., Raftery S. & Phelan D. 1989. Massive pulmonary haemorrhage due to leptospirosis. *Intensive. Care Med.* 15:322-324.
- Alton G.D., Berke O., Reid-Smith R., Ojick D. & Prescott J.F. 2009. Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors, Ontario 1998-2006. *Can. J. Vet. Res.* 73:167-175.
- Alves V.A.F., Vianna M.R., Yasuda P.H. & De Brito T. 1987. Detection of leptospiral antigen in the human liver and kidney using an immunoperoxidase staining procedure. *J. Pathol.* 15:125-131.
- Alves V.A.F., Gayotto L.C.C., De Brito T., Santos R.T.M., Wakamatsu A., Vianna M.R. & Sakata E.E. 1992. Leptospiral antigens in the liver of experimentally infected guinea pigs and their relation to the morphogenesis of liver damage. *Exp. Toxicol. Pathol.* 44:425-434.
- André-Fontaine G. 2006. Canine Leptospirosis-do we have a problem? *Vet. Microbiol.* 117:19-24.
- Arean V.M. 1962. Studies on the pathogenesis of leptospirosis. I. A clinicopathologic evaluation of hepatic and renal function in experimental leptospiral infections. *Lab. Invest.* 11:273-288.
- Avila M.O., Furtado L.R.I., Teixeira M.M., Rosado R.L.I., Martins L.F.S. & Brod C.S. 1998. Aglutininas anti-leptospíricas em cães na área de influência do Centro de Controle de Zoonoses, Pelotas, RS, Brasil, no ano de 1995. *Ciência Rural* 28:107-110.
- Barros C.S.L. & Figuera R.A. 2011. Hepatite infecciosa canina. *Revista Cães e Gatos.* 26:10-16.
- Baumann D. & Flückiger M. 2001. Radiographic findings in the thorax of dogs with leptospiral infection. *Vet. Radiol. Ultrasound* 42:305-307.
- Beasley M.B. 2010. The pathologist's approach to acute lung injury. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 134:719-727.
- Beitzke H. 1916. Ueber die pathologische Anatomie der ansteckenden Gelbsucht (Weilsche Krankheit). *Klin. Wochenschr.* 53:188-191.
- Benoit C. 1970. Leptospirose aiguë chez un chien. *Can. Vet. J.* 11:81-83.
- Berendsen H.H., Rommes J.H., Hylkema B.S., Meinesz A.F. & Sluiter H.J. 1984. Adult respiratory failure with leptospirosis. *Ann. Intern. Med.* 101:402.
- Birnbaum N., Barr S.C., Center S.A., Schermerhorn T., Randolph J.F. & Simpson K.W. 1998. Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs: Serological and clinicopathological features. *J. Small Anim. Pract.* 39:231-236.
- Bolin C. 1996. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. *Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.* 11:166-171.
- Borges E.R., Ab'Saber A.M. & Barbas C.S.V. 2005. Síndromes hemorrágicas pulmonares. *J. Bras. Pneumol.* 31:36-43.
- Braun J.L. 1961. Survey evidence of leptospira infection in Iowa dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 138:90-98.
- Brito T. 1968. On the pathogenesis of the hepatic and renal lesions in leptospirosis. *Revta Inst. Med. Trop., São Paulo,* 10:238-241.
- Brito T., Marcondes Machado M., Montans S.O., Hoshino S. & Frey-Müller E. 1967. Liver biopsy in human leptospirosis: A light and electron microscopy study. *Virchows Arch. A, Pathol. Anat. Histopathol.* 342:61-69.
- Brito T., Menezes L.F. & Lima D.M.C. 2006. Immunohistochemical and *in situ* hybridization studies of the liver and kidney in human leptospirosis. *Virchows Arch.* 448:576-583.
- Brown C.A., Roberts W., Miller M.A., Davis A.D., Brow S.A., Bolin C.A., Jarecki-Black J., Greene E.C. & Miller Lieb D. 1996. *Leptospira interrogans* serovar *grippotyphosa* infection in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209:1265-1267.
- Brown K. & Prescott J.F. 2008. Leptospirosis in the family dog: A public health perspective. *Can. Med. Assoc.* 178:399-401.

- Bunch S.E. 2004. Distúrbios hepáticos agudos e sistêmicos que acometem o fígado, p.1398-1413. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato. Vol.2. 5ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Carvalho C.R. & Bethlem E.P. 2002. Pulmonary complications of leptospirosis. Rev. Clin. Chest. Med. 23:469-478.
- Caswell J.L. & Williams K.J. 2007. Respiratory system, p.524-653. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol.2. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- CDC 2012. Leptospirosis: Signs and symptoms in pets. Centers for Disease Control and Prevention <<http://www.cdc.gov/leptospirosis/pets/symptoms/index.html>> Acesso em 29 jan. 2012.
- Center S.A., Hornbucal W.E. & Hoskins J.D. 1990. O fígado e o pâncreas, p.223-270. In: Hoskins J.D. (Ed.), Pediatria Veterinária: cães e gatos até seis meses de idade. Manole, São Paulo.
- Chernesky S.J. 1970. A serologic survey for canine leptospirosis in British Columbia. Can. J. Comp. Med. 34:102-104.
- Colby T.V., Fukuoka J., Ewaskow S.P., Helters R. & Leslie K.O. 2001. Pathologic approach to pulmonary hemorrhage. Ann. Diagn. Pathol. 5:309-319.
- Croda J., Neto A.N. & Brasil R.A. 2010. Leptospirosis pulmonary haemorrhage syndrome is associated with linear deposition of immunoglobulin and complement on the alveolar surface. Clin. Microbiol. Infect. 16:593-599.
- Cullen J.M. 2007. Liver, biliary system and exocrine pancreas, p.393-461. In: Zachary F.J. & McGavin D.M. (Eds), Pathologic Basis of Veterinary Disease. 4th ed. Elsevier Mosby, St Louis.
- Dobrina A., Nardon E., Vecile E. 1995. *Leptospira icterohaemorrhagiae* and leptospire peptidoglycans induce endothelial cell adhesiveness for polymorphonuclear leukocytes. Infect. Immun. 63:2995-2999.
- Dolhnikoff M., Mauad T., Bethlem E.P. & Carvalho C.R.R. 2007. Pathology and pathophysiology of pulmonary manifestations in leptospirosis. Braz. J. Infect. Dis. 11:142-148.
- Dotti F. & Sabbioni G. 1959. Il quadro istomorfologico del fegato nelle leptospirose benigna: studio bioptico con particolare riguardo alle forme anicteriche. Arch. Patol. Clin. Med. 36:81-101.
- Douglas E.M. & Plue R.E. 1980. Hemolytic anemia suggestive of leptospirosis in the black rhinoceros. J. Am. Vet. Med. Assoc. 177:921-923.
- Dweik R.A., Arroliga A.C. & Cash J.M. 1997. Alveolar hemorrhage in patients with rheumatic disease. Rheum. Dis. Clin. North Am. 23:395-410.
- Emmanouilides C.E., Kohn O.F. & Garibaldi R. 1994. Leptospirosis complicated by a Jarisch-Herxheimer reaction and adult respiratory distress syndrome: Case report. Clin. Infect. Dis. 18:1004-1006.
- Estavoyer J.M., Racadot E. & Couetdic G. 1991. Tumor necrosis factor in patients with leptospirosis. Rev. Infect. Dis. 13:1245-1246.
- Ettinger S.J. 1992. Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato. 3ª ed. Manole, São Paulo. 1557p.
- Ettinger S.J. & Feldman E.C. 2004. Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato. 5ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2156p.
- Faine S. 1957. Virulence in leptospirae. I. Reactions of guinea pigs to experimental infection with *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Brit. J. Exp. Pathol. 38:1-7.
- Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. 1999. Leptospira and Leptospirosis. 2nd ed. Medsci, Melbourne. 272p.
- Figuera R.A. & Graça D.L. 2011. Sistema hematopoético, p.337-422. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), Patologia Veterinária. Roca, São Paulo.
- Figuera R.A., Souza T.M., Silva M.C., Brum J.S., Graça D.L., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2008. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). Pesq. Vet. Bras. 28:223-230.
- Figuera R.A., Souza T.M., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2010. Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985-2009). Pesq. Vet. Bras. 30:974-987.
- Fry M.M. & McGavin M.D. 2007. Bone marrow, blood cells and the lymphatic system, p.698-771. In: McGavin M.D. & Zachary F.J. (Eds), Pathologic Basis of Veterinary Disease. 4th ed. Elsevier Mosby, St Louis.
- Geller S.A. & Petrovic L.M. 2009a. Biopsy Interpretation of the Liver. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p.62-70.
- Geller S.A. & Petrovic L.M. 2009b. Biopsy Interpretation of the Liver. 2nd ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p.307-317.
- Ghneim S.G., Viers J.H., Chomel B.B., Kass P.H., Descollonges D.A. & Johnson M.L. 2007. Use of a case-control study and geographic information systems to determine environmental and demographic risk factors for canine leptospirosis. Vet. Res. 38:37-50.
- Goldstein R.E., Lin R.C., Langston C.E., Scrivani P.V., Erb H.N. & Barr S.C. 2006. Influence of infecting serogroup on clinical features of leptospirosis in dogs. J. Vet. Intern. Med. 20:489-494.
- Gough A. 2009. Diagnóstico Diferencial na Medicina Veterinária de Pequenos Animais. Roca, São Paulo. 447p.
- Greene C.E. 2004. Doenças bacterianas, p.410-421. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato. Vol.1. 5ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Green J.H., Areal V.M. & Sarasin G. 1964. The pathogenesis of leptospirosis: toxin production by *Leptospira icterohaemorrhagiae*. Am. J. Vet. Res. 25:836-842.
- Green R.J., Ruoss S.J., Kraft S.A., Duncan S.R., Berry G.J. & Raffin T.A. 1996. Pulmonary capillaritis and alveolar hemorrhage. Update on diagnosis and management. Clin. Chest Med. 110:1305-1316.
- Greene C.E., Sykes E.J., Brow A.C. & Hartmann K. 2006. Leptospirosis, p.402-415. In: Greene C.E. (Ed.), Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis. 1387p.
- Harkin K.R. & Gartrell C.L. 1996. Canine leptospirosis in New Jersey and Michigan: 17 cases (1990-1995). J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 32:495-501.
- Hoskins J.D. 1990. Pediatria Veterinária: cães e gatos até seis meses de idade. Manole, São Paulo. 605p.
- Hrinivich K. & Prescott J.F. 1997. Leptospirosis in two unrelated dogs. Can. Vet. J. 38:509-510.
- Hubbert W.T. & Shotts E.B. 1966. Leptospirosis in kennel dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 148:1152-1159.
- Hunter P. 2004. Leptospirosis, p.1445-1456. In: Coetzer J.A.W. & Tustin R.C. (Eds), Infectious Diseases of Livestock. Vol.1. 3rd ed. Oxford Univ. Press, Cape Town.
- Im J., Yeon K.M., Han M.C., Kim C., Webb W.R., Lee J.S., Han Y.C. Chang W.H. & Chi J.G. 1989. Leptospirosis of the lung: radiographic findings in 58 patients. Am. J. Roentgen. 152:955-959.
- Inkelmann M.A., Rozza D.B., Figuera R.A., Kommers G.D., Graça D.L., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2007. Hepatite infecciosa canina: 62 casos. Pesq. Vet. Bras. 27:325-332.
- Inkelmann M.A., Anjos B.L., Kommers G.D., Figuera R.A. & Barros C.S.L. 2008. Aspectos imunistoquímicos da hepatite infecciosa canina. Ciência Rural 38:2636-2640.
- Iwamoto E., Wada Y., Fujisaki Y., Umeki S., Jones M., Mizuno T., Itamoto K., Maeda K., Iwata H. & Okuda M. 2009. Nationwide survey of *Leptospira* antibodies in dogs in Japan: Results from microscopic agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay. J. Vet. Med. Sci. 71:1191-1199.
- Jimenez-Coello M., Vado-Solis I., Cárdenas-Marrufo M.F., Rodríguez-Buenfil J.C. & Ortega-Pacheco A. 2008. Serological survey of canine leptospirosis in the tropics of Yucatan Mexico using two different tests. Acta Tropica 106:22-26.
- Jones T.C., Hunt R.D. & King N.W. 2000. Patologia Veterinária. 6ª ed. Manole, São Paulo, p.423-513
- Jubb K.V.F. & Kennedy P.C. 1970. Pathology of Domestic Animals. Vol.1. 2nd ed. Academic Press, New York, p.297-406.
- Kalin D.C., DiFrancia R., Lemay S. & Higgins R. 1999. Three cases of canine leptospirosis in Quebec. Can. Vet. J. 40:187-191.
- Keenan K.P., Alexander A.D. & Montgomery C.A. 1978. Pathogenesis of experimental *Leptospira interrogans*, serovar *bataviae*, infection in the

- dog: Microbiological, clinical, haematological, and biochemical studies. *Am. J. Vet. Res.* 39:449-454.
- Kobzik L. 2000. O pulmão, p.626-679. In: Contran R.S., Kumar V.E. & Collins T. (Eds), *Patologia Estrutural e Funcional*. 6ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Kohn B., Steinicke K., Arndt G., Gruber A.D., Guerra B., Jansen A., Kaser-Hotz B., Klopffleisch R., Lotz F., Luge E. & Nöckler K. 2010. Pulmonary abnormalities in dogs with leptospirosis. *J. Vet. Intern. Med.* 24:1277-1282.
- Kravis E.M. & Ivler D. 1961. A serologic survey of leptospira antibodies in an urban canine population. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 138:24-26.
- Langston C.E. & Heuter K.J. 2003. Leptospirosis. A re-emerging zoonotic disease. *Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract.* 33:791-807.
- Lappin M.R. 1992. Doenças bacterianas polissistêmicas, p.1000-1005. In: Nelson R.W. & Couto C.G. (Eds), *Medicina Interna de Pequenos Animais*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1084p.
- Lara A.R. & Schwarz M.I. 2010. Diffuse alveolar hemorrhage. *Chest* 137:1164-1171.
- Lee S.H., Kim S., Park S.C. & Kim M.J. 2002. Cytotoxic activities of *Leptospira interrogans* hemolysin SphH as a poreforming protein on mammalian cells. *Infect. Immun.* 70:315-322.
- Levett P.N. 2001. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14:296-326.
- López A. 2007. Respiratory system, p.463-558. In: McGavin M.D & Zachary J.F. 2007. (Eds), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis.
- Lorenz M.D. 1996. *Diagnóstico Clínico em Pequenos Animais*. 2ª ed. Interlivros, Rio de Janeiro, p.1-11.
- Luks A.M., Lakshminarayanan S. & Hirschmann J.V. 2003. Leptospirosis presenting as diffuse alveolar hemorrhage: Case report and literature review. *Chest* 123:639-643.
- Manninger R. & Mócsy J. 1973. Hutyra, Marek, Menninger & Mócsy, *Patología y Terapéutica Especiales de los Animales Domésticos*. Vol.1. 11ª ed. Labor, Barcelona, p.301-315.
- Maxie N.G. 2007. Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. Vol.2. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. 771p.
- McGavin M.D & Zachary J.F. 2007. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis. 1476p.
- Meyer K.F., Stewart-Anderson B. & Eddie B. 1939. Canine leptospirosis in United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 95:710-729.
- Mikaelian I., Hoggins R., Lequent M.M., Lefebvre F. & Martineau D. 1997. Leptospirosis in raccoons in Quebec: 2 case reports and seroprevalence in a recreational area. *Can. Vet. J.* 38:440-442.
- Moore G.E., Guptill L.F., Glickman N.W., Caldanaro R.J., Aucoin D. & Glickman L.T. 2006. Canine leptospirosis, United States, 2002-2004. *Emerg. Infect. Dis.* 12:501-503.
- Nelson R.W. & Couto C.G. 1992. *Medicina Interna de Pequenos Animais*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1084p.
- Newman J.P. 1950. Studies of canine leptospirosis. I. Evaluation of laboratory diagnostic procedures. II. Serologic determination of the incidence of latent infection in the Lansing, Michigan area. *Am. J. Vet. Res.* 11:405-411.
- Newman S.J., Confer A.W. & Panciera R.J. 2007. Urinary system, p.613-691. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis.
- Nicodemo A.C., Del Negro G. & Neto A.V. 1990. Thrombocytopenia and leptospirosis. *Revta Inst. Med. Trop., São Paulo*, 32:252-259.
- Nicodemo A.C., Duarte M.I., Alves V.A., Takakura C.F., Santos R.T. & Nicodemo E.L. 1997. Lung lesions in human leptospirosis: microscopic, immunohistochemical and ultrastructural features related to thrombocytopenia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 56:181-187.
- Nieberle K.E. & Cohrs P. 1970. *Anatomia Patológica Especial dos Animais Domésticos*. Vol.1. 5ª ed. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, p.594-696.
- O'Neil K.M., Rickman L.S. & Lazarus A.A. 1991. Pulmonary manifestations of leptospirosis. *Rev. Infect. Dis.* 13:705-714.
- Ortega-Pacheco A., Colin-Flores R.F., Gutiérrez-Blanco E. & Jiménez-Coello M. 2008. Frequency and type of renal lesions in dogs naturally infected with *Leptospira* species. *Anim. Biodiv. Emerg. Dis.* 1149:270-274.
- Ostertag H. 1950. Leptospirosis icterohaemorrhagica in Bulgarien. *Z. Hyg. Infektionskr.* 131:482-500.
- Patel S.R., Karpaliotis D., Ayas N.T., Mark E.J., Wain J., Thompson B.T. & Malhotra A. 2004. The role of open-lung biopsy in ARDS. *Chest* 125:197-202.
- Poh S.C. & Soh C.S. 1970. Lung manifestations in leptospirosis. *Thorax* 25:751-755.
- Prescott J.F. 2007. Leptospirosis, p.481-490, within chapter written by Maxie M.G. & Newman S.J. *Urinary system*, p.425-522. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. Vol.2. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Prescott J.F. 2008. Canine leptospirosis in Canada: A veterinarian's perspective. *Can. Med. Assoc.* 178:397-398.
- Prescott J.F., Ferrier R.L., Nicholson V.M., Johnston M.K. & Hoff B. 1991. Is canine leptospirosis underdiagnosed in southern Ontario? A case report and serological survey. *Can. Vet. J.* 32:481-486.
- Prescott J.F., Key D. & Osuch M. 1999. Leptospirosis in dogs. *Can. Vet. J.* 40:430-431.
- Prescott J.F., McEwen B., Taylor J., Woods J.P., Abrams-Ogg A. & Wilcock B. 2002. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: Recent findings. *Can. Vet. J.* 43:955-961.
- Ramachandran R.J. 2007. Acute lung injury and leptospirosis. *Brit. J. Anaesth.* 99:44-145.
- Ramachandran S. & Perera M.V.F. 1977. Cardiac and pulmonary involvement in leptospirosis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 71:56-59.
- Ramos-Vara J.A. & Beissenherz M.E. 2000. Optimization of immunohistochemical methods using two different antigen retrieval methods on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: experience with 63 markers. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12:307-311.
- Rentko V.T., Clark N. & Ross L.A. 1992. Canine leptospirosis: A retrospective study of 17 cases. *J. Vet. Int. Med.* 6:235-244.
- Ribotta M., Fortin M. & Higgins R. 2000. Canine leptospirosis: serology. *Can. Vet. J.* 41:494-495.
- Sandborn E.B., Côté M.G. & Viallet A. 1966. Electron microscopy of a human liver in Weil's disease (Leptospirosis icterohaemorrhagica). *J. Pathol. Bacteriol.* 92:369-374.
- Schwarz M.I., Cherniack R.M. & King T.E.J. 1994. Diffuse alveolar hemorrhage and other rare infiltrative disorders, p.1889-1912. In: Murray J.F. & Nadel J.A. (Eds), *Textbook of Respiratory Medicine*. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Searcy G.P. 1988. Hematopoietic system, p.269-310. In: Thomson R.G. (Ed.), *Special Veterinary Pathology*. Decker, Toronto.
- Sehgal S.C., Murhekar M.V. & Sugunan A.P. 1995. Outbreak of leptospirosis with pulmonary involvement in North Andaman. *Indian. J. Med. Res.* 102:9-12.
- Serakides R. 2010. Sistema Urinário, p.291-336. In: Santos R.L. & Alessi A.C. (Eds), *Patologia Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Silverstein C.M. 1953. Pulmonary manifestations of leptospirosis. *Radiology* 61:327-334.
- Simpson F.G., Green K.A., Haug G.J. & Brookes D.L. 1998. Leptospirosis associated with severe pulmonary haemorrhage in Far North Queensland. *Med. J. Aust.* 169:151-153.
- Souza L. & Koury M.C. 1992. Chemical and biological properties of endotoxin from *Leptospira interrogans* serovars *canicola* and *icterohaemorrhagiae*. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 25:467-475.
- Stalker J.M. & Hayes M.A. 2007. Liver and biliar system, p.298-387. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's *Pathology of Domestic Animals*. Vol.2. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Stokes J. E. & Forrester S.D. 2004. New and unusual causes of acute renal failure in dogs and cats. *Vet. Clin. North Am., Small. Anim. Pract.* 34:909-922.

- Swango L.J., Bankemper K.W. & Kong L.I. 1992. Infecções bacterianas, rickettsiais, protozoais e outras, p.277-311. In: Ettinger S.J. (Ed.), Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato. Vol.1. 3ª ed. Manole, São Paulo.
- 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.
- Tattevin P, Leveiller G, Flicoteaux R., Jauréguiberry S., Le Tulzo Y, Dupont M., Arvieux C. & Michelet C. 2005. Respiratory manifestations of leptospirosis: A retrospective study. Lung 183:283-289.
- Thiermann A.B. 1980. Canine leptospirosis in Detroit. Am. J. Vet. Res. 41:1659-1661.
- Thomas R.E. & Evans L.B. 1967. The distribution of leptospirosis in the German Shepherd dog population of the United States. J. Am. Vet. Med. Assoc. 150: 33-36.
- Thomson R.G. 1988. Special Veterinary Pathology. Decker, Toronto. 661p.
- Uip D.E., Neto V.A. & Duarte M.S. 1992. Diagnóstico precoce da leptospirose por demonstração de antígenos através de exame imuno-histoquímico em músculo da panturrilha. Revta Inst. Med. Trop., São Paulo, 34: 375-381.
- Van De Maele I., Claus A., Haesebrouck F. & Daminet S. 2008. Leptospirosis in dogs: A review with emphasis on clinical aspects. Vet. Rec. 163:409-413.
- Vinh T., Adler B. & Faine S. 1986. Glycoprotein cytotoxin from *Leptospira interrogans* serovar *Copenhageni*. J. Gen. Microbiol. 132:111-112.
- Ward M.P. 2002. Clustering of reported cases of leptospirosis among dogs in the United States and Canada. Prev. Vet. Med. 56:215-226.
- Ward M.P., Guptill L.F., Prah A. & Wu C.C. 2004. Serovarspecific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 cases (1997-2002). J. Am. Vet. Med. Assoc. 224:1958-1963.
- Ware L.B. & Matthay M.A. 2000. The acute respiratory distress syndrome. N. Engl. J. Med. 342:1334-1349.
- Warshawsky B., Lindsay R. & Artsob H. 1998. Leptospirosis confirmed in three trappers in the Middlesex-London health unit area. Publ. Health Epidemiol. Rep. Ontario 9:181-182.
- Wild C.J., Greenlee J.J., Bolin C.A., Barnett J.K., Haake D.A. & Chevillie F. 2002. An improved immunohistochemical diagnostic technique for canine leptospirosis using antileptospiral antibodies on renal tissue. J. Vet. Diagn. Invest. 14:20-24.
- Wohl J.S. 1996. Canine leptospirosis. Comp. Small. Anim. 18:1215-1224.
- Yersin C., Bovet P., Mérien F., Clément J., Laille M., Van Ranst M. & Perolat P. 2000. Pulmonary haemorrhage as a predominant cause of death in leptospirosis in Seychelles. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 94:71-76.

### 3. REFERÊNCIAS

ADLER, B.; DE LA PEÑA-MOCTEZUMA, A. Leptospira and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 287-296, 2009.

**AFIP (Armed Forces Institute of Pathology)** 2010. 25th Wednesday Slide Conference, May 19, Case IV: C9775-08 (AFIP 3149913). Enviado pela Mississippi State University, College of Veterinary Medicine, USA. Disponível em: [http://wsc.jpc.capmed.mil/wsc/wsc\\_showconference.php?id=315](http://wsc.jpc.capmed.mil/wsc/wsc_showconference.php?id=315). Acesso em: 5 jan. 2012.

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

AREAN, V. M. Studies on the pathogenesis of leptospirosis. I – A clinico-pathologic evaluation of hepatic and renal function in experimental leptospiral infections. **Laboratory Investigation**, v. 11, p. 273-288, 1962.

BARR, S. C. et al. Serologic responses of dogs given a commercial vaccine against *Leptospira interrogans* serovar Pomona and *Leptospira kirschneri* serovar Grippotyphosa. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, p. 1780-1784, 2005.

BARSANTI, J. A. Aborto, ciclo estral anormal, infertilidade. In: LORENZ, M. D.; CORNELIUS, L. M. **Diagnóstico Clínico em Pequenos Animais**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. cap. 43, p. 303-312.

BHARTI, A. R. et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infectious Diseases**, v. 3, p. 757-771, 2003.

BISHOP, L. et al. Chronic active hepatitis in dogs associated with leptospire. **American Journal of Veterinary Research**, v. 40, p. 839-844, 1979.

BOLIN, C. Diagnosis, of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. **Seminars in Veterinary Medicine & Surgery (Small Animal)**, v. 1, p. 166-171, 1996.

BRITO, T. et al. Pathology of the kidney and liver in the experimental leptospirosis of the guinea-pig: a light and electron microscopy study. **Virchows Archiv Pathology Anatomy**, v. 341, p. 64-78, 1966.



CDC (Centers for Disease Control and Prevention). Leptospirosis: Signs and symptoms in pets. Disponível em: <http://www.cdc.gov/leptospirosis/pets/symptoms/index.html>. Acesso em 29 jan. 2012.

CENTER, S. A. et. al. O fígado e o pâncreas. In: Hoskins, J. D. (Org.), **Pediatria Veterinária: Cães e Gatos até Seis Meses de Idade**. São Paulo: Manole, 1990. p. 223-270.

CHERNUKCHA, Y. G.; ANANYINA, Y. V.; ZENKOVITCH, N. S. Pathogenicity of leptospire of various serological types for some species of wild rodents. **Zentralblatt Bakteriologie [Orig A]**, v. 228, p. 388-395, 1974.

CULLEN, G. A.; PEARSON, J. E. Leptospirosis. **OIE Terrestrial Manual . 2004**. OIE Paris. Disponível em: [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00043.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00043.htm). Acesso em: 2 jan. 2012.

CULLEN, J. M. Liver, biliary system and exocrine pancreas. In: Zachary, F. J.; McGavin, D. M. (Org.). **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4. ed. St. Louis: Elsevier Mosby, 2007. v. 2, cap.8, p. 393-461.

DESVARS, A.; CARDINALE, E.; MICHAULT, A. Animal leptospirosis in small tropical áreas. **Epidemiology and Infection**, v.139, p. 167-188, 2011.

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

EDWARDS, C. N. et al. Thrombocytopenia in leptospirosis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 31, p. 827-829, 1982.

EDWARDS, G. A.; DOMM, B. M. Human leptospirosis. **Medicine (Baltimore)**, v. 39, p. 117-156, 1960.

FAINE, S.; STALLMAN, N. D. Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Wolbach and Binger 1914) Noguchi 1918. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 32, p. 461-463, 1982.

FIGHERA, R. A. et al. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, p. 223-230, 2008.

GREENE, C. E. Doenças bacterianas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Org.). **Tratado de Medicina Interna Veterinária, Doenças do Cão e do Gato**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 1, cap. 85, p. 410-421.

GREENE, C. E. et al. Leptospirosis. In: GREENE, C. E. (Org.). **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2006. cap. 44, p. 402-415.

HANSON, L. E. Leptospirosis in domestic animals: the public health. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 181, p. 1505-1509, 1982.

HAUK, P. et al. Expression and characterization of HylX hemolysin from *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni: potentiation of haemolytic activity by LipL32. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 333, p. 341-347, 2005.

JAROONVESAMA, N.; VIRANUVATTI, V.; CHAROENLARP, K. Coagulation studies in leptospirosis. S.E. Asian. **Journal of Tropical Medicine Public Health**, v. 6, p. 562-566, 1975.

JONES, T. C.; Hunt, R. D.; King, N. W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. 1414p.

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

LAPPIN, M. R. Doenças bacterianas polissistêmicas. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. (Org.). **Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. cap.100, p. 1000-1005.

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

MARSHALL, R. B. The route of entry of leptospire into the kidney tubule. **Journal of Medicine Microbiology**, v. 9, p. 149-152, 1976.

MAXIE, M. G.; NEWMAN, J. S. Urinary sistem. In: MAXIE, M. D. (Org.). **Jubb, Kennedy, and Palmer's, Pathology of Domestic Animals**. 6. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. v. 2, cap. 4, p. 426-498.

MINKE, J. M. et al. Onset and duration of protective immunity against clinical disease and renal carriage in dogs provided by a bi-valent inactivated leptospirosis vaccine. **Veterinary Microbiology**, v. 137, p. 137-145, 2009.

MOORE, G. E. et al. Canine leptospirosis, United States, 2002-2004. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, p. 501-503, 2006.

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

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

NEWMAN, S. J.; CONFER, A. W.; PANCIERA, R. J. Urinary system, In: McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. (Org.). **Pathologic Basis of Veterinary Disease**. 4. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2007. v. 2, cap. 11, p. 613-691.

O'NEIL, K. M.; RICKMAN, L. S.; LAZARUS, A. A. Pulmonary manifestations of leptospirosis. **Reviews of Infectious Disease**, v. 13, p. 705-714, 1991.

ORTEGA-PACHECO, A. et al. Frequency and type of renal lesions in dogs naturally infected with *Leptospira* species. **Animal Biodiversity and Emerging Disease**, v. 1149, p. 270-274, 2008.

PRESCOTT, J. F. Leptospirosis, p.481-490, within chapter written by MAXIE, M. G.; NEWMAN, S. J. Urinary system, In: MAXIE, M. G. (Org.). **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals**. 5. ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007. v. 2, cap. 4, p.425-522.

PRESCOTT, J. F. et al. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: recent findings. **Canadian Veterinary Journal**, v. 43, p. 955-961, 2002.

SITPRIJA, V.; EVANS, H. The kidney in human leptospirosis. **American Journal of Medicine**, v. 49, p. 780-788, 1970.

SWANGO, L. J. et al. Infecções bacterianas, rickettsiais, protozoais e outras. In: ETTINGER, S. J. (Org.). **Tratado de Medicina Interna Veterinária, Doenças do Cão e do Gato**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. v.1, cap. 46, p.277-311.

SYKES, J. E. et al. 2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, p. 1-13, 2011.

TAYLOR, P. L.; HANSON, L. E.; SIMON, J. Serologic, pathologic, and immunologic features of experimentally induced leptospiral nephritis in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 31, p. 1033-1049, 1970.

THOMSON, G. W.; McSHERRY, B. J.; VALLI, V. E. Endotoxin induced disseminated intravascular coagulation in cattle. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v. 38, p. 457-466, 1974.

VAN DE MAELE, I. et al. Leptospirosis in dogs: a review with emphasis on clinical aspects. **Veterinary Record**, v. 163, p. 409-413, 2008.

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

YANG, C. W. Leptospirosis renal disease: understanding the initiation by toll-like receptors. **Kidney International**, v. 72, p. 918-925, 2007.

ZWIJNENBERG, R. J. G. Cross-sectional study of canine leptospirosis in animal shelter populations in mainland Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 86, p.317-323, 2008.