



FORT DODGE SAÚDE ANIMAL LTDA.

Fort Dodge Saúde Animal Ltda.
Rua Luiz Fernando Rodriguez, 1701
Campinas - SP
SAC 0800-7019987
www.fortdodge.com.br



FORT DODGE SAÚDE ANIMAL LTDA.

Leptospirose Canina

Boletim Técnico



Equipe Técnica

Prof. Ass. Dr. Márcio Garcia Ribeiro

Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos
Depto. de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ-UNESP/Botucatu, SP

Profª. Ass. Dra. Suely Nunes Beloni

Clínica Médica de Pequenos Animais
Depto. de Clínicas Veterinárias
Universidade Estadual de Londrina, PR

Prof. Adj. Hélio Langoni

Núcleo de Estudos em Zoonoses - NUPEZO,
Depto. de Higiene Veterinária e Saúde Pública,
FMVZ-UNESP/Botucatu, SP

Doutorando Aristeu Vieira da Silva

Núcleo de Estudos em Zoonoses - NUPEZO,
Depto. de Higiene Veterinária e Saúde Pública,
FMVZ-UNESP/Botucatu, SP

Supervisão

Dra. Ingrid Menz

Méd. Vet. Luciana Ellner Parra

Departamento Técnico

Fort Dodge Saúde Animal Ltda.



Introdução

A leptospirose é uma grave zoonose, cosmopolita, causada por bactérias do gênero *Leptospira*, que acomete diferentes espécies de animais domésticos, silvestres e o homem.¹ Os cães caracterizam-se como importantes reservatórios do agente, com capacidade infectante para outros animais e para o homem. A leptospirose canina possui clínica variada, manifestando-se principalmente por sinais de febre, vômito, diarreia, mialgia, petéquias e sufusões em mucosas, icterícia, e dor abdominal e/ou lombar. O diagnóstico da doença fundamenta-se, rotineiramente, na avaliação dos dados clínico-epidemiológicos e nos exames subsidiários, em especial, no diagnóstico sorológico.¹³

A efetividade do tratamento depende do diagnóstico precoce da doença. Entretanto, mesmo com a instituição de terapia adequada, a leptospirose em cães pode evoluir para nefro e hepatopatas crônicas, com evolução letal.⁷ A profilaxia da leptospirose requer a adoção de medidas continuadas de controle em todos níveis da cadeia epidemiológica da doença, visando minimizar os riscos da enfermidade para o homem e para os animais.⁶

Índice

Capítulo	Página
Citações selecionadas	2
Etiologia, Classificação e Propriedades Gerais. . .	3
Epidemiologia e Transmissão.	3-4
Prevalência no Brasil	4-5
Patogenia.	5
Clínica	6
Diagnóstico	7-8
Tratamento	9
Controle.	10
Saúde Pública	11
Estudo de Eficácia	11-13
Estudo de Segurança	14
Tecnologia de Subunidade	15-17
Referências Bibliográficas	18

Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian

Volume 18, Nº 11, Novembro 1996.

Leptospirose Canina

James S. Wohl



“Recentemente, infecções por Leptospira em cães causadas por outros sorovares que não o icterohaemorrhagiae e o canicola têm se tornado mais frequentes na população dos cães domésticos. Os sorovares grippotyphosa e pomona são importantes causas infecciosas de insuficiência renal aguda em cães.”

Medicina Interna de Pequenos Animais

Richard W. Nelson

C. Guillermo Couto

Doenças bacterianas e polissistêmicas



“Vacinas com bacterinas têm sido comumente associadas à reações vacinais. Vacinas atuais em subunidades, que usam proteínas imunogênicas do envoltório, ao invés de todo o microorganismo, parecem ter diminuído essas reações .”

Infectious Diseases of the Dog and Cat

Craig E. Greene, Emmett B. Shotts

Leptospirosis



“O ideal seria que as vacinas contra Leptospirose contivessem sorovares que tenham um amplo espectro imunogênico, pelo fato das reações cruzadas serem limitadas.”

2

Etiologia, Classificação e Propriedades Gerais

A leptospirose é causada por bactérias do gênero *Leptospira*, que apresentam forma espiralada, pertencentes a família Leptospiraceae, da ordem Spirochaetales. A classificação do gênero *Leptospira* é objeto de divergência entre os pesquisadores. Dois tipos de classificação coexistem, dos quais um baseado em determinantes genéticos e outro baseado em determinantes antigênicos. Ambos reconhecem espécies patogênicas e saprofiticas. O grupo classificado com base em determinantes antigênicos é subdividido em diferentes sorovares, de patogenicidade variada tanto para os animais quanto para o homem. O grupo *Leptospira interrogans sensu lato*, agrupa oito espécies patogênicas para diversas espécies animais e para o homem: *L. interrogans sensu stricto*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. inadai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. kirshneri*, *L. fainii*. Nesse grupo são classificados aproximadamente 230 sorovares em 23 sorogrupos. O grupo *Leptospira biflexa sensu lato* agrupa espécies não patogênicas e saprófitas: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *Turneria parva* e *Leptonema illini*.^{15,29}

O gênero *Leptospira* é bastante sensível à luz solar direta, aos desinfetantes comuns e aos anti-sépticos. O período de sobrevivência das linhagens patogênicas na água pode variar segundo a temperatura, o pH, a salinidade e o grau de poluição. Sua multiplicação é ótima em pH compreendido entre 7,2 a 7,4. Experimentalmente, já foi constatada persistência de leptospiros viáveis na água por até 180 dias. O sorovar *icterohaemorrhagiae* é inativado em 10 minutos à temperatura de 56°C e, em 10 segundos, à temperatura de 100°C. Sobrevive ao frio e mesmo ao congelamento por aproximadamente 100 dias a -20°C. O gênero *Leptospira* pode ser liofilizado e é muito sensível aos produtos ácidos.⁶

3

Epidemiologia e Transmissão

A transmissão da leptospirose pode ocorrer de forma direta ou indireta. A forma direta ocorre, geralmente, pelo contato com sangue e/ou urina de animais doentes, por transmissão venérea, placentária ou pela pele.¹ Cães que se recuperam eliminam o agente de forma intermitente por meses após a infecção. A transmissão indireta pode ocorrer pela exposição prolongada dos animais susceptíveis à água, ao solo ou pela ingestão de alimentos contaminados. O risco da transmissão indireta aumenta consideravelmente para o homem quando as condições ambientais são favoráveis à manutenção das leptospiros, em especial após enchentes, ou em coleções de água com pouca movimentação, em temperaturas variando entre 0°C e 25°C,¹³ principalmente em populações de baixo poder aquisitivo. Desta forma, os surtos de leptospirose no Brasil freqüentemente são registrados nos períodos mais quentes e chuvosos do ano (entre dezembro e março).⁵ As leptospiros têm no solo e água com pH neutro ou levemente alcalino, condições ótimas de sobrevivência. Entretanto, sobrevivem transitoriamente no pH ácido da urina.

3

Epidemiologia e Transmissão (continuação)

A doença no cão ocorre independentemente do sexo do animal, raça e faixa etária. A leptospirose-doença apresenta menor frequência se comparada à ocorrência de infecção pelo agente, levando em muitos casos à formas subclínicas, dificultando o diagnóstico.⁷

A leptospirose canina é causada principalmente pelos sorovares canicola e icterohaemorrhagiae, que apresentam como fontes de infecção, respectivamente, os cães e os roedores (*Rattus norvegicus* - ratazana de esgoto, *Rattus rattus* e *Mus musculus* - camundongo).

Paralelamente, estudos em outros países têm alertado para o envolvimento de outros sorovares na leptospirose em cães, especialmente os sorovares pomona, grippothyphosa, hardjo e bratislava.^{4,13,14}


4

Prevalência no Brasil

No Brasil, inquéritos soro-epidemiológicos em vários estados têm revelado resultados variados quanto à ocorrência dos diferentes sorovares na leptospirose canina^{2,3,10,11,18,19,21,26,27,31,33}

Entretanto, nesses estudos, os sorovares canicola e icterohaemorrhagiae despontam, geralmente, como os mais prevalentes (Quadro 1).

Quadro 1. Principais sorovares do gênero *Leptospira* encontrados em cães em diferentes municípios do Brasil.

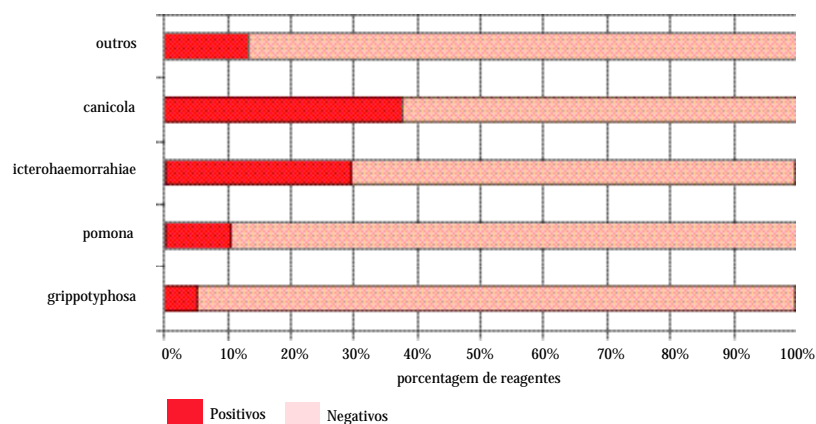
Autores / ano	Local	Nº de amostras examinadas	Nº de amostras reagentes (%)	Principais sorovares
Santa Rosa et al., 1974 ²⁶	Belo Horizonte - MG	136	8 (5,9)	icterohaemorrhagiae (2,9) tarassovi (1,5) pomona (0,7) pyrogenes (0,7)
Yasuda et al., 1980 ³³	São Paulo - SP	1428	308 (21,6)	canicola (50,7) icterohaemorrhagiae (25,5) grippothyphosa (7,8) pomona (6,7)
Avila et al., 1998 ³	Pelotas - RS	425	143 (34,8)	canicola (58,1) icterohaemorrhagiae (20,9) copenhageni (11,4) grippothyphosa (2,7)
Alves et al., 2000 ²	Patos - PB	114	23 (20)	autumnalis (34,8) grippothyphosa (13,0) autumnalis (8,7)
Lilenbaum et al., 2000 ¹⁸	Oriximina - PA	185	34 (18,4)	icterohaemorrhagiae (10,3) canicola (6,0) copenhageni (4,9)
Modolo et al., 2000 ³¹	Botucatu - SP	775	119 (15,4)	canicola (64,7) pyrogenes (50,4) icterohaemorrhagiae (14,3) copenhageni (14,3) pomona (4,2) grippothyphosa (1,6)
Viegas et al., 2001 ³¹	Salvador - BA	120	102 (85,0)	canicola (25,0) icterohaemorrhagiae (23,3) autumnalis (35,0) grippothyphosa (10,0) pyrogenes (12,5) pomona (1,6)
Mascoli et al., 2002 ¹⁹	Santana de Parnaíba - SP	410	61 (15,0)	copenhageni (24,4) canicola (16,0) hardjo (16,0)
Silva, 2003 ²⁷	Botucatu - SP	1000	179 (17,9)	castellonis (28,7) autumnalis (19,1) pyrogenes (17,7) icterohaemorrhagiae (11,0) canicola (9,6)

4

Prevalência no Brasil (continuação)

Da Silva et al. (2002)⁸, examinando 2.170 amostras de soro canino com idades variáveis entre dois meses e 16 anos, procedentes de diferentes regiões dos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Mato Grosso do Sul, obtiveram 29,8% de reagentes, considerando-se títulos 100. Neste estudo os sorovares mais prevalentes foram: canicola (35,6%), pyrogenes (34,7%), icterohaemorrhagiae (28,9%), copenhageni (28,3%), autumnalis (21,5%), australis (9,9%), bratislava (8,7%), gryppotyphosa (5,1%), djasiman (4,8%), hardjo (4,6%), pomona (4,6%) e cynopteri (1,7%) (Figura 1).

Figura 1. Porcentagem de amostras positivas para quatro sorovares de *Leptospira* spp, entre 2.170 amostras de soro canino reagentes ao teste de soroprecipitação microscópica, examinadas no serviço de diagnóstico de Zoonoses da FMVZ-UNESP / Botucatu, SP, entre janeiro de 1996 a julho de 2001.


5

Patogenia

Microrganismos do gênero *Leptospira* podem penetrar ativamente pela mucosa ocular, digestiva, respiratória e genital, assim como pela pele íntegra ou lesada. O agente multiplica-se ativamente nos diferentes órgãos parenquimatosos, sangue, linfa e líquor, caracterizando o quadro agudo da doença, denominado leptospiremia.³⁰ A multiplicação do agente no endotélio vascular determina quadro de vasculite generalizada nos animais.⁷ Após essa fase, o agente pode permanecer nos túbulos contornados renais, sendo eliminado pela urina, de forma intermitente (leptospiúria). A eliminação renal do microrganismo ocorre desde 72 horas após a infecção até semanas a meses nos animais domésticos e por toda vida nos roedores.¹² A colonização renal determina lesões nas células epitélio-tubulares, edema do parênquima e conseqüente diminuição da perfusão renal, que resultam em insuficiência renal aguda. As toxinas produzidas pelo microrganismo desencadeiam disfunção hepática e conseqüente hepatite ativa crônica. O grau de icterícia apresentado pelos animais infectados por *Leptospira* spp depende da necrose hepática e do sorovar infectante, ocorrendo com maior intensidade em cães acometidos pelo sorovar icterohaemorrhagiae.^{7,13} No cão, os sorovares icterohaemorrhagiae e pomona acometem principalmente as células hepáticas, enquanto os sorovares canicola e grippotyphosa lesam principalmente as células renais. Entretanto, há relatos de acometimento hepático severo pelo sorovar grippotyphosa, sugerindo a sua inclusão na triagem sorológica de casos de hepatite ativa crônica.^{9,25}

6

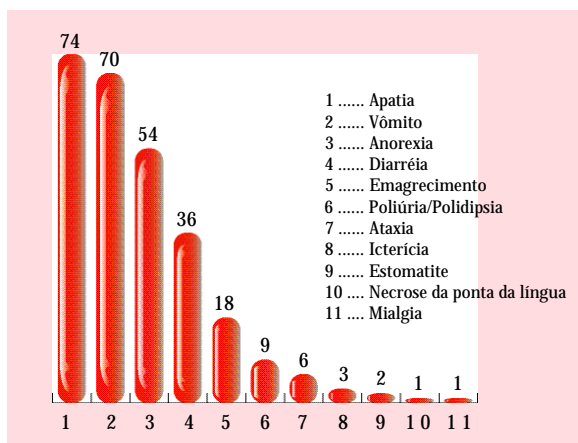
Clínica

Nos cães, os sinais clínicos mais comuns na infecção aguda são: letargia, depressão, anorexia, vômito, febre, poliúria, polidipsia, dor abdominal e/ou lombar, diarreia, mialgia, halitose, úlceras bucais, icterícia, petéquias e sufusões em mucosas e conjuntivas.^{7,13,23}

A infecção pelo sorovar icterohaemorrhagiae pode levar a morte hiper-aguda entre 24 a 48 h. Animais que sobrevivem a esse período podem desenvolver a síndrome ictero-hemorrágica, com sinais de hipertermia, prostração, icterícia, hemorragias difusas - especialmente em pulmões e sistema digestório, podendo evoluir para insuficiência renal aguda e óbito. A infecção pelo sorovar canicola resulta em severo comprometimento renal com sinais de uremia e gastroentéricos (emese, diarreia, estomatite e glossite necrótica), evoluindo geralmente para insuficiência renal crônica.^{12,22} Os cães infectados pelos sorovares pomona e gryppotyphosa apresentam, geralmente, anorexia, depressão, vômito, apatia, poliúria, polidipsia e dor lombar. O sorovar bataviae pode causar ainda meningite, uveíte, abortamentos e infertilidade.^{14,16,32}

Os animais que desenvolvem insuficiência renal aguda mesmo após o tratamento, podem evoluir tanto para o retorno da função renal normal, em 2 a 3 semanas, como desenvolver insuficiência renal crônica. A icterícia ocorre mais frequentemente na fase aguda da doença, relacionada às infecções pelo sorovar icterohaemorrhagiae. Nessa fase podem ser observadas também fezes de coloração acizentada, em virtude da colestase hepática. Os cães com hepatite ativa crônica manifestam sinais de inapetência, perda de peso, ascite, e, em casos crônicos, encefalite. As manifestações pulmonares - como pneumonia intersticial - são mais comuns no homem do que nos cães, e a inflamação intestinal, em alguns animais, pode resultar em intussuscepção.^{13,14,16,32} Em estudo realizado no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina com 120 cães soropositivos para leptospirose, as principais manifestações clínicas observadas foram: vômito, apatia e diarreia, seguida de sinais menos frequentes como icterícia, estomatite, necrose da ponta da língua e mialgia (Figura 2). A alta ocorrência de sinais inespecíficos, assim como a reduzida frequência de sinais considerados típicos da leptospirose em cães - necrose da ponta da língua, estomatite e icterícia, ressalta a importância de incluir a leptospirose no diagnóstico diferencial de animais com sintomatologia gastro-entérica inespecífica (vômito, diarreia e anorexia), com ou sem histórico vacinal.

Figura 2: Principais manifestações clínicas observadas em 120 cães reagentes à soroaglutinação microscópica, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina, com suspeita clínica de leptospirose. Londrina, 2001.

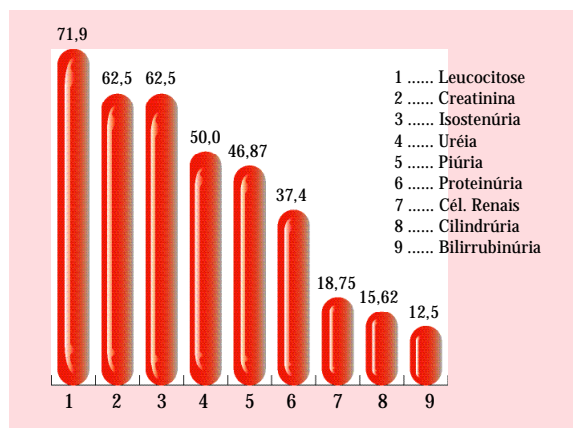


Diagnóstico

O diagnóstico da leptospirose canina deve ser embasado nas informações clínico-epidemiológicas, apoiado nos exames laboratoriais subsidiários.⁶ A presença de cães com anorexia, diarreia, vômito, sensibilidade em região abdominal e/ou lombar, com ou sem mucosas e conjuntivas ictéricas, devem levar a suspeita clínica da doença.

As alterações hematológicas observadas nos casos de leptospirose usualmente são leucocitose (20.000 leucócitos/dl) por neutrofilia e graus variáveis de anemia. A leucopenia pode ser um achado na fase inicial de infecção (leptospiremia), evoluindo geralmente para leucocitose com desvio a esquerda, com a progressão da doença. A trombocitopenia faz-se presente geralmente em cães severamente afetados.^{13,14} Exames de função renal revelam freqüentemente aumento dos níveis séricos de uréia e creatinina e variam segundo o grau de comprometimento renal. As alterações das enzimas hepáticas alamina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), assim como os níveis séricos de bilirrubina, variam com a severidade da lesão hepática. As dosagens de uréia, creatinina, ALT, bilirrubina e FA constituem-se nos principais exames de monitoramento da evolução do quadro clínico e, conseqüentemente, do prognóstico de animais com leptospirose. Na urinálise de cães com leptospirose observa-se geralmente densidade baixa, glicosúria, proteinúria, bilirrubinúria (que normalmente precede a hiperbilirrubinemia), acompanhadas de elevação de cilindros granulosos, leucócitos e eritrócitos no sedimento urinário^{13,14,32} (Figura 3).

Figura 3: Resultados de exames laboratoriais de 49 cães soro-reagentes para leptospirose. Hospital Veterinário de Londrina, PR, 2001.



Na fase clínica inicial é possível a pesquisa do agente por microscopia de campo escuro, a partir do exame de gota de sangue, até o quarto dia de infecção, ou de urina, entre a primeira e a segunda semana. Esse procedimento apresenta limitações em virtude da intermitência de eliminação das leptospiros na urina³² e da pequena sobrevivência do agente no ambiente externo. Alternativamente, pode-se realizar o cultivo microbiológico da urina, do sangue e do líquido céfalo-raquidiano, apesar da dificuldade de isolamento do agente nesses humores orgânicos. Para o isolamento do agente são recomendados os meios seletivos de EMJH (Ellinghausen, McCullough, Johansen, Harris) ou de Fletcher, enriquecidos com antimicrobianos e soro-albumina bovina.⁶

Diagnóstico (continuação)

Em virtude das dificuldades de isolamento do agente, os métodos sorológicos têm sido amplamente utilizados no diagnóstico da leptospirose.^{6,32} A técnica de macro-aglutinação caracteriza-se como método rápido, de fácil execução, utilizando como antígeno leptospiras inativadas. Entretanto, apresenta limitações de ordem técnica, como resultados gênero-específicos e reações inespecíficas.⁶ A técnica sorológica indicada pela Organização Mundial da Saúde para o diagnóstico da leptospirose no homem e nos animais é a soroaglutinação microscópica com antígenos vivos.²⁴ Essa técnica apresenta elevada sensibilidade e especificidade. A triagem dos animais é realizada na diluição do soro a 1:100 frente aos sorovares considerados importantes para a espécie. Animais que apresentarem reações positivas - pelo menos 50% de leptospiras aglutinadas - são testados novamente, em diluições ao dobro, até a extinção do título para o respectivo sorovar. No entanto, alguns animais podem reagir para vários sorovares ou podem apresentar reações cruzadas com sorovares do mesmo sorogrupo (co-aglutinação), dificultando a interpretação de uma única amostra sorológica.⁶ Nesses casos e, sempre que possível, recomenda-se a realização da sorologia pareada, que consiste na execução de duas provas sorológicas intercaladas de 2 a 4 semanas.³² Os animais com elevação do título igual ou superior a quatro vezes o título inicial, para o respectivo sorovar, são considerados positivos. Há autores que consideram como evidência de doença os cães que apresentam dados clínico-epidemiológicos e resultados de exames laboratoriais subsidiários compatíveis com o quadro clínico de leptospirose, e reação com título 800 - em uma única amostra - na prova de soroaglutinação microscópica.^{4,14,32} Na avaliação sorológica dos animais é importante questionar o histórico vacinal contra leptospirose. Cães vacinados recentemente podem apresentar resultados falso-positivos, apesar desses títulos de anticorpos não persistirem, geralmente, por mais de três meses pós-vacinais.¹⁷

O exame pos-mortem é extremamente valioso no diagnóstico da leptospirose em cães. À necropsia, observa-se, principalmente, hepatomegalia, degeneração e fibrose hepática, congestão pulmonar, petéquias e sufusões pleurais, úlceras na língua, edema, congestão e necrose renal, hemorragias e aderência de cápsula renal, congestão, edema e hemorragias gastro-intestinais. Nas infecções pelo sorovar icterohaemorrhagiae pode observar-se pronunciada icterícia de serosas e conjuntivas.⁷ Nesses animais, o diagnóstico histopatológico é realizado principalmente a partir de fragmentos renais ou hepáticos, corados por técnicas de impregnação pela prata (colorações de Gomori, Warthin-Starry ou Levaditti).²⁰ Após a necropsia dos animais, os rins e o fígado são os órgãos de eleição para o isolamento do agente.⁷

Nos últimos anos, diferentes técnicas inovadoras têm sido empregadas no diagnóstico da leptospirose no homem e em animais, incluindo a hibridização de DNA, restrição de endonucleases e a reação em cadeia pela polimerase - PCR. Essas técnicas apresentam, em comum, elevada sensibilidade e especificidade, e despontam como métodos promissores no diagnóstico da doença, apesar do alto custo e da baixa praticidade limitarem, até o momento, o uso na rotina diagnóstica da leptospirose em animais.

Tratamento

A efetividade da terapia da leptospirose em cães depende do diagnóstico precoce da doença. A instituição da terapia na fase inicial da doença apresenta resultados satisfatórios. O tratamento é baseado na reposição do equilíbrio hidro-eletrolítico e energético, e no uso de antimicrobianos. Nos casos severos de anemia faz-se necessária a realização de transfusão sanguínea.⁷ As penicilinas e seus derivados - em especial a ampicilina e a amoxicilina - são os antimicrobianos mais indicados na fase de leptospiremia. Essas drogas são indicadas geralmente na fase inicial da doença, por duas semanas, porém são ineficientes no controle da fase de leptospirúria. Após a terapia na fase de leptospiremia, recomenda-se o uso de antimicrobianos com o intuito de eliminar o estado de animais portadores renais.^{13,32} Nessa fase da terapia, a doxiciclina tem-se constituído na droga de eleição^{14,32} em virtude da elevada concentração terapêutica renal da droga²⁸, preconizada também por duas semanas (Tabela 1). Drogas alternativas dos grupos das cefalosporinas, sulfonamidas, fluorquinolonas, macrolídeos, aminoglicosídeos e o cloranfenicol também têm sido utilizadas na terapia da leptospirose canina.^{13,14} Embora *Leptospira* spp seja sensível a uma grande variedade de antimicrobianos e a terapia surta efeito quando instituída precocemente, a redução do risco da doença para o homem e para os animais deve ser fundamentada na adoção de procedimentos de controle.

Tabela 1 - Principais antimicrobianos recomendados na terapia da leptospirose em cães e gatos.

Droga	Espécie	Dose	Via	Intervalo (horas)	Duração (semanas)
Penicilina G	C e G	25.000 a 40.000 U/kg	IM, SC, IV	12	2
Ampicilina	C e G	22 mg/kg	PO, SC, IV	6 a 8	2
Amoxilina	C	22 mg/kg	PO	8 a 12	2
Doxicilina	C	5 mg/kg	PO, V	12	2
Tetraciclina	C e G	22 mg/kg	PO	8	2
Eritromicina	C	15-20 mg/kg	PO, IV	8 a 12	2

C e G = cão e gato

C = cão

Fonte: Adaptado de GREENE, C.E. Infectious Diseases of the Dog and Cat, 1998.

Controle

O controle da leptospirose canina baseia-se na adoção de medidas profiláticas em todos os níveis da cadeia epidemiológica da doença (fontes de infecção, vias de transmissão e susceptíveis). As ações profiláticas relativas às fontes de infecção da leptospirose canina são direcionadas para o saneamento do meio ambiente, visando, principalmente, o controle de roedores. Esses procedimentos incluem o destino adequado do lixo, o uso racional de rodenticidas, a armazenagem adequada de alimentos, além de evitar o acúmulo de entulho em residências e terrenos.⁶ Adicionalmente, o gênero *Leptospira* pode ser transmitido entre os cães pela urina de animais infectados ou mesmo pela urina de outros animais domésticos. O risco representado por este tipo de transmissão da leptospirose pode ser controlado mediante o diagnóstico precoce da doença, o isolamento dos animais acometidos e a instituição de terapia.⁷

As vias de transmissão da leptospirose canina são caracterizadas pelo consumo de alimentos e de água contaminada, e/ou o contato por tempo prolongado com água contaminada com a urina de roedores e de outros animais domésticos. A remoção dos restos de água e alimentos dos comedouros dos animais e a eliminação do excesso de água do ambiente - com a canalização de cursos de água e a drenagem de esgotos - são procedimentos determinantes para o controle das vias de transmissão da leptospirose. Os animais suscetíveis constituem-se no último elo da cadeia epidemiológica de transmissão da leptospirose canina. Esse elemento da cadeia de transmissão também é passível da aplicação de procedimentos de controle, mediante a vacinação dos animais. A vacinação dos animais suscetíveis caracteriza-se como uma das medidas mais efetivas de profilaxia da leptospirose, se adotada simultaneamente aos demais procedimentos de controle da doença em nível das fontes de infecção e vias de transmissão.⁶

O uso de vacinas comerciais em cães tem sido efetivo em reduzir a prevalência e a severidade da doença.^{13,32} As vacinas de uso comercial são constituídas usualmente por bacterinas, contendo principalmente os sorovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae*, considerados os mais prevalentes na leptospirose canina.⁷ Entretanto, a vacinação de cães com os sorovares *canicola* e *icterohaemorrhagiae* não induz proteção cruzada contra outros sorovares importantes na leptospirose em cães. Diferentes protocolos são descritos para a vacinação de cães contra leptospirose, no entanto, as vacinas comerciais disponíveis para cães têm sido preconizadas, geralmente, a partir de 2 a 3 meses de idade, com no mínimo três reforços - em intervalos de 21 a 30 dias, além da indicação de revacinações semestrais ou anuais. Paralelamente, estudos recentes têm utilizado subunidades do envelope bacteriano para produção de vacinas, assim como investigado diferentes adjuvantes e meios de cultura de *Leptospira* spp., para a produção de novos imunógenos contra a doença.¹³ Diferentes pesquisadores têm assinalado o aumento da ocorrência dos sorovares *pomona*, *grippytyphosa*, *hardjo* e *bratislava* na gênese de casos de leptospirose canina.^{13,14,32} Esses estudos atestam a importância da pesquisa continuada no desenvolvimento de novas vacinas contra a leptospirose e a necessidade da inclusão de novos sorovares, visando a elaboração de vacinas mais efetivas e de imunidade mais duradoura.

Saúde Pública

A leptospirose é considerada uma das zoonoses mais preocupantes em todo o mundo. No Brasil, entre 1985 a 1997, foram notificados 35.403 casos de doença, que culminaram com 3.821 óbitos.⁵ O risco de infecção de leptospirose apresenta como agravante o fato de diferentes espécies de animais silvestres, sinantrópicos (roedores), de produção e de companhia - especialmente o cão - poderem servir como reservatórios do agente, possibilitando a manutenção do microrganismo no meio ambiente. A doença possui alta prevalência em países tropicais e comporta-se como doença ocupacional, apresentando alto risco para plantadores de arroz e de cana de açúcar, magarefes, criadores de animais e veterinários.¹ Os cães representam o principal reservatório do sorovar canicola para o homem. Os cães compartilham também com os roedores - principalmente o *Rattus norvegicus* - o sorovar *icterohaemorrhagiae*, igualmente patogênico para o cão e para o homem, desenvolvendo nesse último, enfermidade de alta letalidade (doença de Weil).^{7,20} Assume-se que os cães representam um importante elo na cadeia epidemiológica de transmissão da doença para o homem. A transmissão da leptospirose do cão para o homem ocorre principalmente pelo contato com o sangue ou com a urina de animais doentes ou portadores renais. O contato de mucosas, de conjuntivas e da pele lesada ou íntegra do homem com o sangue e/ou a urina do cão, são importantes fatores de risco na transmissão da doença.⁷

No Brasil, a leptospirose no homem ocorre geralmente nos períodos do ano com altos índices pluviométricos, sob a forma de casos isolados ou em surtos.⁶ A doença no homem possui clínica variada, podendo manifestar-se sob a forma de sintomas brandos e/ou inespecíficos - febre, cefaléia, vômitos, mal-estar geral, mialgias - simulando “estados gripais”, conjuntivite, petéquias cutâneas e, ocasionalmente, icterícia, ou desencadeando quadros de hepatite, nefrite, meningite e/ou encefalite.¹⁷ Os esforços no controle da doença devem contemplar ações profiláticas sistemáticas, incluindo a melhoria das condições de habitação, saneamento básico e educação continuada em saúde para populações humanas, assim como o controle de roedores, a vacinação, o isolamento e a terapia de animais doentes, visando minimizar a ocorrência e o risco da doença para o homem e para os animais.

Vacina - Duramune Max 5-CvK/4L

Estudo de Eficácia - Fração Leptospira

Dois estudos individuais foram desenvolvidos para demonstrar a eficácia da fração de *Leptospira* da vacina (Duramune[®] Max 5-CvK/4L) contra o desafio de *L. grippityphosa* e *L. pomona*.

O primeiro teste de eficácia realizado foi com a fração *L. grippityphosa*. Trinta (30) filhotes com 6 semanas de idade ou menos, foram divididos aleatoriamente em grupos contendo 20 animais vacinados e 10 que receberam apenas placebo.

Animais do grupo vacinado receberam duas doses de Duramune[®] Max 5-CvK/4L (a qual inclui *L. grippityphosa* e *L. pomona*, mais *L. icterohaemorrhagiae* e *L. canicola*) com três semanas de intervalo.

11

Vacina - Duramune Max 5-CvK/4L (continuação)

A partir de 15 dias após a segunda vacinação, todos os cães foram desafiados diariamente com *L. grippotyphosa* por 3 dias consecutivos. Observações dos sinais clínicos foram realizadas diariamente durante 21 dias após o desafio. Um projeto de estudo similar foi utilizado para a avaliação da eficácia da fração *L. pomona*. Neste caso, vinte e cinco (25) dias após a segunda vacinação, todos os animais foram desafiados com *L. pomona*. Foram realizadas observações dos sinais clínicos diariamente, durante 21 dias após o desafio.

Resultados

Após o desafio, todos os cães foram observados quanto aos sinais clínicos, leptospiremia, trombocitopenia, e resposta sorológica pelo teste de soroglutinação microscópica. Os resultados dos desafios e a resposta à vacinação estão apresentados a seguir:

Resposta Sorológica

Todos os animais vacinados desenvolveram elevados títulos para *L. grippotyphosa* ou *L. pomona* antes do desafio. Depois do desafio, nenhum dos animais vacinados demonstrou um aumento significativo no título (figuras 1 e 2), indicando que uma infecção não se estabeleceu no grupo vacinado. No entanto, houve um aumento significativo na titulação após o desafio no grupo controle, que continuou a aumentar os títulos entre 7 e 21 dias depois, indicando o estabelecimento de uma infecção.

Sinais Clínicos

Uma redução significativa dos sinais clínicos ocorreu nos grupos de animais vacinados (*L. grippotyphosa* e *L. pomona*). Quando ambos os grupos vacinados foram comparados aos animais controle, houve 90% de redução dos sinais clínicos, tais como febre, anorexia, descarga ocular, depressão, diarreia, icterícia e morte, entre os grupos. A resposta dos animais vacinados ao desafio correspondeu às suas respostas sorológicas, sendo que todos os animais vacinados foram capazes de combater a infecção antes que esta pudesse causar sinais clínicos severos.

Figura 1

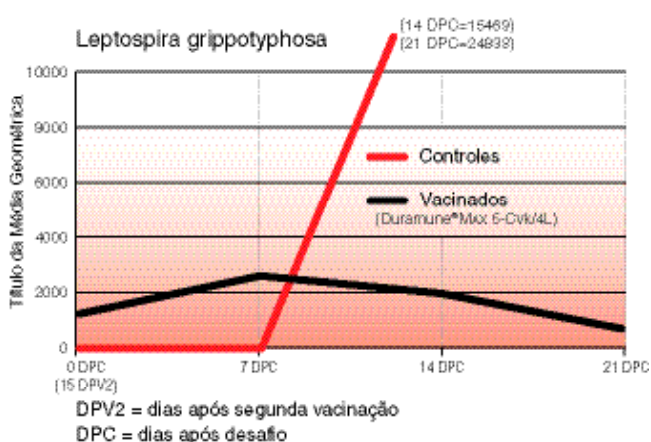
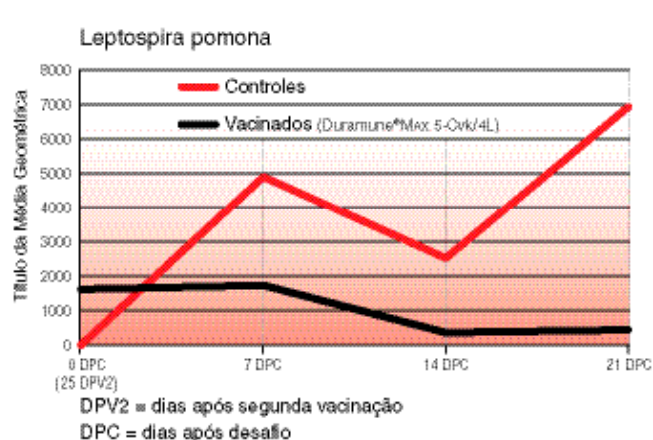


Figura 2



Resultados (continuação)

Leptospiremia (tabelas 1 e 2):

Após o desafio, nenhum (0) dos 40 animais vacinados desenvolveu a leptospiremia, indicando que a infecção não se estabeleceu em nenhum deles. Nos grupos que receberam placebo, 19 dos 20 tiveram isolamento positivo no sangue para *L. grippotyphosa* ou para *L. pomona*, respectivamente, indicando que a infecção se estabeleceu nos cães do grupo controle.

Trombocitopenia:

Outra evidência da eficácia vacinal no grupo vacinado foi demonstrada pela proteção significativa contra trombocitopenia. Treze (13) dos 20 animais controle desenvolveram trombocitopenia, como resultado do desafio; enquanto que somente um, dos 40 animais vacinados apresentou esta alteração.

Conclusões

Os resultados destes estudos demonstraram a capacidade da Duramune® Max 5-CvK/4L em proteger efetivamente cães contra o desafio de *L. grippotyphosa* ou *L. pomona*.

Tabela 1 -- Isolamento* de *Leptospira* do sangue coletado de cães desafiados com *L. grippotyphosa*

Grupo	Isolamento Positivo
Controle (n=10)	10
Vacinado (n=20)	0**

Tabela 2 -- Isolamento* de *Leptospira* do sangue coletado de cães desafiados com *L. pomona*

Grupo	No. of Animals with Positive Isolation
Controle (n=10)	9
Vacinado (n=20)	0**

* Amostras de sangue coletadas diariamente entre 3 a 14 dias pós-desafio.

** O valor indicado é significativamente diferente do valor do grupo controle, $p < 0,05$ pelo teste exato de Fisher.

Vacina - Duramune Max 5-CvK/4L

Estudo de Segurança

A segurança da vacina contra *Leptospira* foi avaliada em condições de campo. Seis locais para a realização do experimento foram selecionados em seis (6) diferentes estados americanos. Um total de 624 cães foram registrados no estudo, incluindo 324 filhotes com 6 semanas de idade ou menos. Duas doses da vacina foram administradas em 599 cães, e uma dose foi aplicada em 25 cães. Um total de 1,223 doses de vacinas foram administradas.

Resultados

Durante as duas (2) semanas de realização das vacinações, um total de 13 reações foram observadas em 11 cães. Os tipos de reações e frequência de cada uma são apresentados a seguir:

Número de cães	Reação Observada
6	Dor local durante 24 horas ou mais
2	Prurido (ardência no local da aplicação)
1	Polidipsia
3	Nódulo local (resolvido em 48-72 horas)
1	Letargia
Total de reações	13

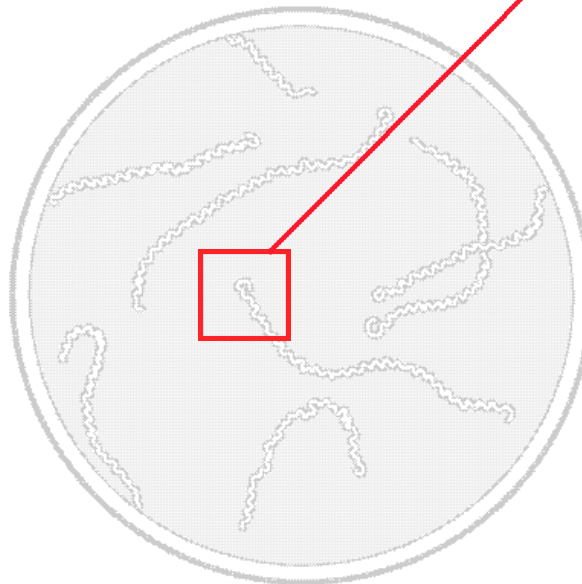
Mais de uma das reações ocorreram no mesmo cão, isso significa que as reações ocorreram em <1% das doses aplicadas. Deste modo, 99,02% das vacinações foram isentas de reações, sendo que todas as reações vacinais foram naturalmente brandas, curtas e auto limitantes. Nenhuma das reações necessitou de qualquer intervenção do Médico Veterinário.

Tecnologia de Subunidade (OMC - Out Membrane Complex)

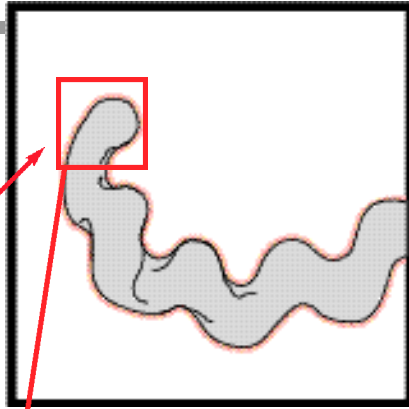
Com o objetivo de minimizar as reações comumente associadas ao uso de vacinas que contenham a bactéria íntegra de *Leptospira*, a Fort Dodge Saúde Animal utiliza um processo inovador na produção da vacina contra Leptospirose contida na linha de vacinas Duramune. Este processo, conhecido com tecnologia de subunidade, resulta em uma vacina, que comprovadamente é tanto eficaz quanto segura em condições de campo.

A tecnologia de produção em subunidade compreende na separação da superfície imunogênica da *Leptospira* de fragmentos extrínsecos celulares. Esta fração imunogênica, que está envolvida com a indução de imunidade protetora, é extraída, através de reações químicas específicas, sob condições rigidamente controladas. Uma vez extraída, a superfície imunogênica é separada dos fragmentos celulares sendo incluída na vacina. O resultado final deste processo é uma vacina que contém apenas a superfície imunogênica da *Leptospira* necessária para a proteção.

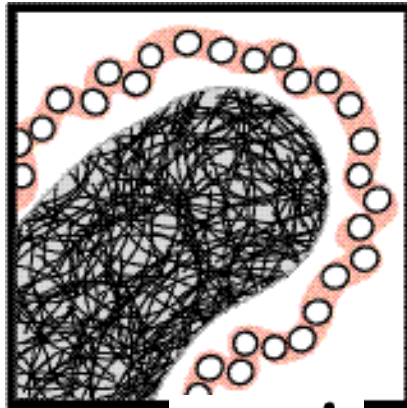
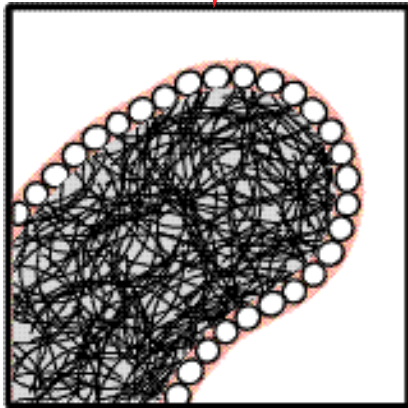
Esta tecnologia de subunidade (OMC) é exclusiva da Fort Dodge Saúde Animal. Os outros laboratórios, ainda utilizam a bactéria íntegra em suas vacinas. Os fragmentos celulares descartados são, na maioria das vezes, responsáveis pelas reações adversas causadas pelas vacinas de *Leptospira*, entre elas, dor, edema de face e reações anafiláticas.



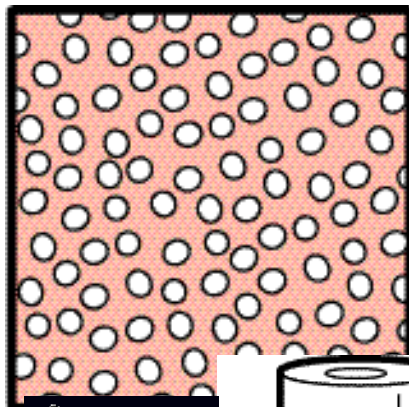
13



A Fort Dodge Saúde Animal utiliza um inovador processo de produção que separa os imunógenos de superfície dos detritos celulares.

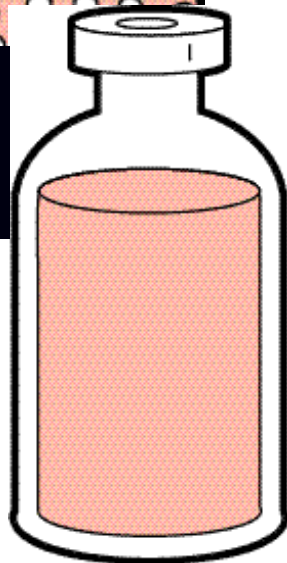


Os imunógenos de superfície protetores são extraídos da bactéria *Leptospira* sob condições estritamente controladas.



São descartados os detritos celulares potencialmente prejudiciais.

Os imunógenos de superfície são conservados.



Somente estes imunógenos purificados são utilizados para produzir a vacina.

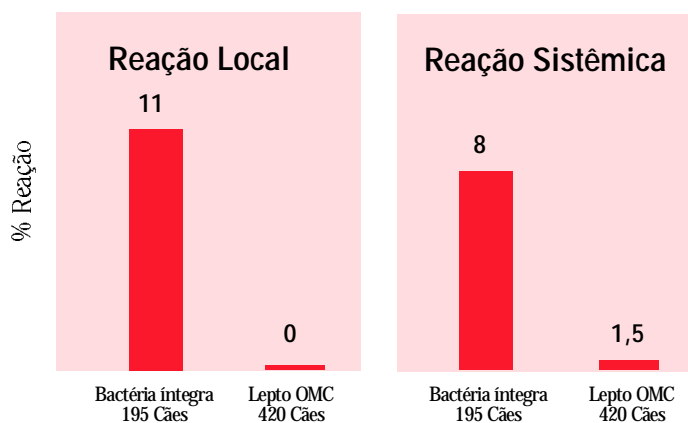
13

Tecnologia de Subunidade (OMC - Out Membrane Complex) (continuação)

Foi realizado um teste de inocuidade comparativo entre vacinas com bactérias íntegras e com a tecnologia OMC. Foram vacinados 195 cães com uma vacina com bactéria íntegra e 420 cães com a vacina com a bactéria em subunidade (OMC) da Fort Dodge, e os resultados foram significativamente melhores para a última.

As reações locais (nódulos) diminuíram de 11% para 0 e as reações sistêmicas (alérgicas) de 8% para 1,5%.

LEPTOSPIROSE
Teste de Inocuidade



Referências Bibliográficas

1. Acha, P.N.; Szyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2001. p. 175-186.
2. Alves, C.J.; Andrade, J.S.L.; Vasconcellos, S.A. et al. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-Leptospira em cães no município de Patos-PB, Brasil. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.* , v.7, n.1, p.17-21, 2000.
3. Ávila, M.O.; Furtado, L.R.I.; Teixeira, M.M. et al. Aglutininas anti-leptospiricas em cães na área de influência do centro de controle de zoonoses, Pelotas, RS, Brasil, no ano de 1995. *Ciênc. Rural*, v.28, p. 107-110, 1998.
4. Bolin, C.A. Diagnosis of leptospirosis: A reemerging diseases of companion animals. *Semin. Vet. Med. Surg. Small Anim.* , v.11, n.3, p.166-171, 1996.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional da Saúde - Funasa. Leptospirose. Guia de Vigilância Epidemiológica. Brasília, 2003. Cap. 5. Disponível em: <<http://www.funasa.gov.br/pub/gve/gve0518A.htm>>. Acesso em: 16 jan. 2003.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais. Programa Nacional de Leptospirose . 2.ed. Brasília, 1995. 98p.
7. Corrêa, W.M.; Corrêa, C.N.M. *Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos* . 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. p.233-240.
8. Da Silva, A.V.; Lima, V.Y.; Pezerico, S.B. et al. Estudo retrospectivo (1996-2001) dos exames sorológicos para leptospirose humana, ovina, suína, caprina, canina e bovina, realizados no Serviço de Diagnóstico de Zoonoses/FMVZ/UNESP/Botucatu. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* , v.35, supl. 1, p.146, 2002.
9. Dill-Mackey, E. Chronic hepatitis in dogs. *Vet. Clin. Nort. Am. Small Anim. Pract.* , v.25, n.2, p.387-397, 1995.
10. Yasuda, P.H.; Santa Rosa, C.A.; Yanaguita, R.M. Variação sazonal na prevalência de leptospirose em cães de rua da cidade de São Paulo, Brasil. *Rev. Saúde Pública* , v.11, p.589-596, 1980.
11. Genovez, M.E. Leptospirose em cães. *Pet. Vet.* , v.1, n.1, p.6-9, 1996.
12. Girio, R.J.S. Abordagem Clínica da Leptospirose Animal. In: ENCONTRO NACIONAL EM LEPTOSPIROSE, 3, 1993, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 1993. p.59.
13. Greene, C.E. *Infectious Diseases of the Dog and Cat* . 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1998. p.273-281.
14. Harkin, K. R. Canine Leptospirosis in New Jersey and Michigan: 17 cases (1990-1995). *JAAHA* , v.32, p.495-501, 1996.
15. Institut Pasteur. *Leptospira Moleculars Genetic Server: Introduction*. Paris, 2002. Disponível em: <<http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/LepE.html>>. Acesso em: 21 nov 2002.
16. Kalin, M.D.C.; Difruscia, R.; Higgins, R. Three cases of canine leptospirosis in Quebec. *Can. Vet. J.* , v.40, n.3, p.187-191, 1999.
17. Langoni, H.; Pimentel, V.L.; Da Silva, A.V. et al. Avaliação da dinâmica de anticorpos aglutinantes antileptospíricos, pós-vacinais, em cães pela prova de soroaglutinação microscópica. *ARS Veterinária* , v.18, n.1, p.54-61, 2002.
18. Lilienbaum, W.; Rodrigues, F.; Barboza, F. Aglutininas antileptospiras em caninos do município amazônico de Oriximimã-Para, Brasil. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.* , v.7, n.3, p.133-135, 2000.
19. Mascolli, R.; Pinheiro, S.A.; Vasconcellos, S.A. et al. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de Parnaíba, São Paulo, utilizando a Campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. *Arq. Inst. Biol.* , São Paulo, v.69, n.2, p.25-32, 2002.
20. Meira, D.A. *Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas* . Rio de Janeiro: Interlivros, 1991. 578p.
21. Modolo, J.R., Langoni, H., Shimabukuro, F.H. et al. Inquérito soropidemiológico para leptospirose canina no município de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 27, 2000, Águas de Lindóia. *Anais...* Águas de Lindóia, 2000. p.95.
22. Navarro, E.K.; Kociba, G. Hemostatic changes in dogs with experimental *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae infection. *Am. J. Vet. Res.* , v.43, n.5, 1982.
23. Nelson, R.W.; Couto, C.G. *Medicina Interna de Pequenos Animais* . 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.1000-1005.
24. Organización Mundial de la Salud. *Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la leptospirosis* . Washington, 1985. 46p. (nota técnica, 30).
25. Retko V.T.; Ross L.A. Canine Leptospirosis. A retrospective study of 17 cases. *J. Vet. Int. Med.* , v.6, n.4, p.235-244, 1992.
26. Santa Rosa, C.A.; Batista Júnior, J.A.; Teruya, J.M. et al. Inquérito sorológico para leptospirose e brucelose em cães da cidade de Belo Horizonte. *Arq. Esc. Vet. UFMG* , v.26, n.3, p.339-342, 1974.
27. Silva, W.B. *Frequência de resultados sorológicos antileptospíricos em cães da área territorial urbana de Botucatu-SP, de acordo com o local, manejo de criação e pavimentação da rua* . Botucatu, 2003. 63p. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
28. Tavares, W. *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfecciosos* . 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 792p.
29. University of Belgrade. *Principles of Leptospira classification* . Amsterdam, 1997. Disponível em <<http://tesla.rcub.bg.ac.yu/~lepto/eti/princip.html>>. Acesso em: 21 nov. 2002.
30. Vasconcellos, S. A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. *Comun. Cient. Fac. Med. Vet. Univ. São Paulo* v.3, n. 3-4, p. 189-195, 1993.
31. Viegas, S.A.R.A.; Tavares, C.H.T.; Oliveira, E.D.D. Investigação sorológica para leptospirose em cães errantes na cidade de Salvador - Bahia. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v.2, p.21-30, 2001.
32. Wohl, J.S. Canine Leptospirosis. *Cont. Educ.*, v.18, n.11, p 1215-1225, 1996.