

Pesquisa sorológica de sorovares de leptospiras que mais frequentemente infectam e causam doença em cães com suspeita clínica de leptospirose

Serological study of leptospira serovars that most often infect and cause disease in dogs with clinically suspected leptospirosis

DOI:10.34117/bjdv6n2-303

Recebimento dos originais: 30/12/2019

Aceitação para publicação: 27/02/2020

Sheila Cristina Scandura

Discente do programa de pós-graduação Mestrado em Medicina e Bem-Estar Animal

Instituição: Universidade Santo Amaro

Endereço: Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340 - SP, 04829-300

E-mail: sheila.scandura@uol.com.br

Alexya Victória Pinheiro Saldanha

Discente do curso de Medicina Veterinária

Instituição: Universidade Santo Amaro

Endereço: Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340 - SP, 04829-300

E-mail: alexyapsaldanha@gmail.com

Fernanda Aparecida da Silva Hernandez

Discente do programa de pós-graduação Mestrado em Medicina e Bem-Estar Animal

Instituição: Universidade Santo Amaro

Endereço: Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340 - SP, 04829-300

E-mail: fernanda.silva.vet@gmail.com

Marcos Bryan Heinemann

Docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Instituição: Universidade de São Paulo

Endereço: Av. Prof. Dr. Orlando M. de Paiva, 87 - SP, 05508-270

E-mail: marcosbryan@usp.br

Amane Paldês Gonçalves

Docente do programa de pós-graduação Mestrado em Medicina e Bem-Estar Animal

Instituição: Universidade Santo Amaro

Endereço: Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340 - SP, 04829-300

E-mail: apgoncales@prof.unisa.br

RESUMO

A leptospirose é uma zoonose de importância mundial que acomete grande variedade de espécies de mamíferos na qual a espécie canina é considerada um importante hospedeiro de manutenção da doença no ambiente. Considerando a importância da leptospirose canina para a saúde pública, o objetivo deste trabalho foi verificar os prováveis sorovares que mais frequentemente infectam e causam a doença em cães com suspeita clínica de leptospirose aguda. Para tal, 14 amostras de sangue foram coletadas de cães com suspeita clínica de leptospirose aguda atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Metodista de São Paulo e destinadas à investigação de anticorpos antileptospiras por meio da técnica de soroaglutinação microscópica, além de serem avaliadas quanto aos níveis de ureia e creatinina sérica, atividade de enzimas hepáticas e concentração de bilirrubinas total. Os achados clínicos laboratoriais neste estudo evidenciaram importante acometimento renal e hepático nos animais afetados com predominância do sorovar Copenhageni, além da ocorrência do sorovar Brastilava. No Brasil o sorovar Copenhageni, representante do sorogrupo Icterohaemorrhagiae é considerado endêmico na população canina e nos seres humanos e responsável por casos graves da doença nestas espécies. Estes resultados sugerem a implementação de estratégias de vacinação canina para mitigar parcialmente essa tendência, uma vez que a maioria das vacinas encontradas hoje no mercado nacional contém este sorovar na formulação.

Palavras-Chave: Leptospirose canina, Sorologia, Copenhageni, Zoonose.

ABSTRACT

Leptospirosis is a worldwide zoonosis affecting a wide variety of mammalian species in which the canine species is considered an important host for maintaining the disease in the environment. Considering the importance of canine leptospirosis for public health, this study aims was to verify the probable serovars that most frequently infect and cause the disease in dogs with clinical suspicion of acute leptospirosis. A total of 14 blood samples were collected from dogs with clinical suspicion of acute leptospirosis treated at the Veterinary Hospital of the Methodist University of São Paulo and destined for the investigation of antileptospiras antibodies by microscopic serum agglutination technique. serum urea and creatinine, liver enzyme activity and total bilirubin concentration. The clinical laboratory findings in this study showed significant renal and hepatic impairment in the affected animals with predominance of Copenhageni serovar, in addition to the occurrence of Brastilava serovar. In Brazil serovar Copenhageni, representative of the serogroup Icterohaemorrhagiae, is considered endemic in the canine population and in humans and responsible for severe cases of the disease in these species. These results suggest the implementation of canine vaccination strategies to mitigate this trend, since most vaccines include this serovar in the formulation.

Key Words: Canine leptospirosis, Serology, Copenhageni, Zoonosis.

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença zoonótica causada por espiroquetas patogênicas pertencentes ao gênero *Leptospira* spp. e com impactos importantes na saúde humana e animal

em todo o mundo. (BHARTI et al., 2003). Nas áreas tropicais e subtropicais, a leptospirose tornou-se um grande problema de saúde pública devido ao aumento da transmissão de leptospirosas durante chuvas fortes, inundações e falta de saneamento básico (REIS et al., 2008).

Atualmente, existem mais de 260 sorovares de *Leptospira* spp. potencialmente patogênicos, que apresentam uma distribuição variável de acordo com a região geográfica e espécies hospedeiras (SCHULLER et al. 2015). As leptospirosas podem infectar diversas espécies de animais, selvagens e domésticas, que servem como fontes de infecção para humanos (DAHER et al., 2003). A exposição através da água e do solo contaminada pela urina de animais infectados é a via mais comum de transmissão para o homem e animais domésticos (WHO, 2003).

Os roedores são considerados a principal fonte de infecção para os humanos, principalmente nos grandes centros urbanos (FAINE et al., 1999). Porém, os cães infectados também podem desempenhar um papel importante no risco de transmissão de leptospirosas devido à sua estreita proximidade com os seres humanos e a capacidade de eliminar a bactéria pela urina de forma contínua ou intermitente (MIOTTO et al., 2016). Dessa forma, a evidência de sororreagentes para a leptospirose entre populações de cães é essencial para auxiliar na implementação de medidas preventivas com forte impacto em saúde pública.

Os cães são considerados altamente suscetíveis à infecção leptospírica e estão mais frequentemente expostos que os seres humanos a fatores de risco conhecidos da leptospirose sugerindo, portanto, que podem atuar como sentinelas de contaminação ambiental (GOLDSTEIN, 2010; ROMERO-VIVA et al., 2013). Cães infectados podem apresentar uma grande diversidade de manifestações clínicas, variando desde quadros de infecções assintomáticas, doença febril leve e autolimitada a quadros agudos e graves com insuficiência hepática e renal, geralmente acompanhada de distúrbios hemorrágicos e pulmonares (ANDRE-FONTAINE, 2006; MOHAMMED et al, 2011), na qual grandes quantidades de bactéria são eliminadas via secreções e fluidos corporais (SCHULLER et al., 2015).

A leptospirose canina tem sido amplamente reportada em diversos estudos com soroprevalência variando de acordo com a localização geográfica (AZOCAR-AEDO & MONTI, 2016). No entanto, a grande maioria destes estudos são realizados em animais assintomáticos revelando sorovares de leptospirosas circulantes, porém, que frequentemente não causam doença clínica. Neste contexto, tendo em vista a importância da leptospirose canina para a saúde pública e a ausência de informações a respeito da doença na cidade de São Bernardo do Campo, o objetivo deste trabalho foi verificar os prováveis sorovares que mais

frequentemente infectam e causam a doença em cães com suspeita clínica de leptospirose aguda.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado no Hospital Veterinário da Universidade Metodista de São Paulo (HOVET) pertencente ao município de São Bernardo do Campo, SP. A cidade possui de aproximadamente 765.463 mil habitantes e 409,532 km² (IBGE, 2010).

Foram considerados suspeitos, cães que apresentarem níveis elevados de ureia e creatinina sérica de origem desconhecida (acima de 60mg/dL e 1,4g/dL, respectivamente) ou apresentarem quadro de icterícia, associados a duas ou mais manifestações clínicas sugestivas de leptospirose (distúrbios hemorrágicos, febre, vômitos, icterícia, prostração, hiporexia/anorexia).

Amostras de sangue total foram coletadas de 14 cães após a suspeita clínica, antes do tratamento com antibióticos, e destinadas a avaliação hematológica. Amostras de soro foram destinadas à pesquisa de anticorpos anti-*Leptospiras* spp. e avaliação dos níveis de ureia e creatinina sérica, atividade de enzimas hepáticas (fosfatase alcalina, aspartato transaminase e alanina aminotransferase), albumina e proteína total.

O diagnóstico sorológico da leptospirose foi realizado pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) de acordo com recomendações internacionais (WHO, 2003). O teste incluiu um painel de 24 sorovares representando 21 sorogrupos: *L. interrogans* sorogrupos Australis (sorovares: Australis, Bratislava); Autumnalis (sorovar: Autumnalis); Bataviae (sorovar: Bataviae); Canicola (sorovar: Canicola); Hebdomadis (sorovar: Hebdomadis); Icterohaemorrhagiae (sorovares: Copenhageni, Icterohaemorrhagiae); Pomona (sorovar: Pomona); Pyrogenes (sorovar: Pyrogenes); Sejroe (sorovares: Hardjo, Wolffi); Djasiman (sorovar: Sentot); *L. borgpetersenii* sorogrupos Ballum (sorovar: Castellonis); Javanica (sorovar: Javanica); Tarassovi (sorovar: Tarassovi); Celledoni (sorovar: Whitcombi); *L. kirschneri* sorogrupos Autumnalis (sorovar: Butembo); Grippytyphosa (sorovar: Grippytyphosa); Cynopteri (sorovar: Cynopteri); *L. noguchi* serogroup Panama (sorovar: Panama); *L. santarosai* sorogrupo Shermani (sorovar: Shermani); *L. biflexa* sorogrupos Andamana (sorovar: Andamana); Seramanga (sorovar: Patoc). Amostras com título de 100 ou superior contra um ou mais sorogrupos foram consideradas sororreativas. Os títulos foram determinados como as recíprocas das maiores diluições séricas que aglutinaram pelo menos 50% das células para cada sorovar testado. O sorovar predominante foi definido como o

sorovar com o título máximo direcionado contra um único sorovar e as aglutinações restantes foram consideradas reações cruzadas.

Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Santo Amaro (Parecer CEUA nº 26/2016).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, dos 14 cães suspeitos atendidos no HOVET, dez atenderam os critérios de inclusão. Considerando como uma resposta sorológica positiva aqueles que apresentaram títulos maiores ou igual a 100, o teste de SAM permitiu a confirmação do diagnóstico clínico de leptospirose em quatro casos suspeitos 28,57% (4/10). Em relação aos sorovares encontrados, obteve-se um predomínio de reações para o sorovar Copenhageni, com quatro amostras 75%, seguido do sorovar Bratislava em apenas um caso suspeito 25%. As manifestações clínicas, histórico, evolução, resultado sorológico, encontram-se descritos no Tabela 1.

No Brasil os estudos soro epidemiológicos em cães apontam a prevalência elevada dos sorovares Canicola e Copenhageni (HAGIWARA et al. 2015). Neste estudo, o sorovar mais frequente nos cães doentes foi o Copenhageni, assim como descrito em diversas pesquisas realizadas em cães (YASUDA et al., 1980; FRAGA, 2008; RODRIGUES et al, 2012; MIRAGLIA et al., 2013) e em humanos (DE FARIA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2013), um achado atribuído à endemicidade da leptospirose entre roedores da região, uma vez que os roedores sinantrópicos são reconhecidamente reservatórios de representantes do sorogrupo Icterohaemorrhagiae (sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni) (REIS et al., 2008). O município de São Bernardo do Campo apresenta condições favoráveis para a ocorrência da doença como inúmeros bairros com condições precárias de urbanização e saneamento básico o que favorece a proliferação de roedores, além de muitas áreas sujeitas a enchentes.

Apenas um animal foi reagente para o sorovar Bratislava, porém com títulos elevados. Títulos maiores ou iguais a 800 em cães de regiões endêmicas são indicativos de leptospirose (LEVETT, 2001), sugerindo infecção aguda (SYKES et al. 2011). O sorovar Bratislava é descrito como causador de infecção em populações de cavalos em diversas partes do mundo (ARENT et al, 2015). A presença deste sorovar sugere o contato com animais de produção, principalmente equinos, uma vez que estes são considerados hospedeiros de manutenção do sorovar Bratislava (serogrupo Australis) (ELLIS, et al., 1983; ARENT et al, 2015). Em cães à

exposição ao sorovar Bratislava já foi relato em diversos estudo no Brasil (CASTRO et al., 2011; FONZAR et al, 2012; DREER et al., 2013).

As alterações laboratoriais mais comumente encontradas nos exames complementares nos animais com leptospirose aguda são leucocitose com desvio à esquerda, anemia, trombocitopenia, altos níveis de ureia sanguínea e creatinina sérica (VAN DE MAELE et al. 2008), elevação da atividade de enzimas hepáticas (FREIRE et al., 2008; COSTA et al., 2013; GREENE, 2015).

| ID Cão | Sexo | Idade | Raça | Manifestações Clínicas | Intervalo entre imunização e coleta da amostra | SAM Título | Evolução |
|--------|------|---------|------------|---|--|------------|---|
| A | F | 5 anos | Pit bull | Mucosas hipocoradas, apatia, desidratação, oligúria | Desconhecido | NR | AHIM IRA |
| B | F | 3 anos | SRD | Icterícia, desidratação, apatia, êmese, anorexia, anúria, petéquias | Não vacinado | COP 100 | IRA Eutanásia |
| C | M | 12 anos | Daschund | Icterícia, êmese, caquexia, crepitação pulmonar grosseira, halitose urêmica | Não vacinado | COP 3200 | Óbito |
| D | M | 6 meses | SRD | Icterícia, êmese, anorexia | Não vacinado | BRA 6400 | Resolução do quadro clínico após tratamento |
| E | F | 8 meses | pinscher | Icterícia, êmese, anorexia | mais de 6 m | COP 800 | NR |
| F | M | 9 anos | SRD | Icterícia, êmese, anorexia, diarreia | mais de 6 m | NR | NR |
| G | M | 7 anos | Lhasa apso | Anorexia, apatia, êmese, anorexia, anúria, hipotensão, hipoglicemia, mucosas congestionadas, hipotermia, dispnéia | mais de 6m | NR | Óbito |
| H | M | 13 anos | Poodle | Mucosas hipocoradas, anorexia, desidratação, oligúria | Não vacinado | NR | Eutanásia |
| I | F | 6 anos | York shire | Apatia, anorexia, êmese, desidratação, dispnéia, hipotermia | mais de 6m | NR | DRC/ TA |
| J | F | 13 anos | Pit bull | Apatia, anorexia, hematoquezia, êmese, hipotensão, desidratação | mais de 6 m | NR | EI NR |

Tabela 1 – Resultados sorológicos, características e principais manifestações clínicas encontradas em dez cães com suspeita clínica de leptospirose, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Metodista de São Paulo – São Paulo, 2019

SAM = Sorologia para Leptospirose (Titulação)/ NR = Não reagente/ COP= Copenhageni/ BRA= Bratislava
Evolução: NR = não retornou/ EI = Encaminhado internação/ DRC = Doença Renal Crônica/ TA = Tratamento Ambulatorial/AHIM = Anemia Hemolítica Imune Mediada/ IRA = Insuficiência Renal Aguda

As alterações hemostáticas foram condizentes com os reportados em outros estudos, observou-se moderada trombocitopenia no cão B (SCHULLER et al. 2015), e discreta anemia (HAGIWARA et al, 2015). Neste estudo, a desordem hematológica mais encontrada foi leucocitose, ocorrendo em 100% dos casos positivos, assim como observado por Geisen et al. (2007). Quanto aos achados bioquímicos, foram observadas elevações nas concentrações séricas de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA). Os animais também apresentaram azotemia e hipoalbuminemia em 100% e 50%, respectivamente dos casos avaliados.

No cão B, observou-se baixa titulação para o sorovar Copenhageni, porém o animal apresentava uma grave doença clínica, com importante comprometimento hepático e renal, de caráter agudo. Além disso, tal animal tinha histórico de contato com roedor há 15 dias. Assim sendo, possivelmente devido ao caráter muito agudo e recente da infecção, não houve tempo para desenvolvimento de altos títulos de IgM, corroborando para a baixa sensibilidade para diagnóstico precoce através do SAM (FRAUNE et al., 2013). No caso em questão, o animal apresentou grave comprometimento hepático e renal, evoluindo rapidamente para insuficiência renal aguda, sem resposta ao tratamento clínico para reversão da anúria. O animal também apresentou distúrbios hemorrágicos, com manifestações de hematoquezia, hematoêmese, petéquias, apresentando grave trombocitopenia.

Os cães C, D, E apresentaram titulação na SAM superior à 800 sugerindo infecção aguda (SYKES et al., 2011). Devido aos altos títulos encontrados e status vacinal dos animais, o cão C nunca havia sido vacinado e os animais D e E haviam sido vacinados há mais de seis meses, pressupõem-se que não houve interferência dos anticorpos vacinais na interpretação deste resultado. As vacinas atualmente disponíveis para leptospirose são compostas de preparações de células inteiras e sofrem de limitações como baixa eficácia, curto período de duração da imunidade e falta de proteção cruzada contra diferentes sorovares de *Leptospira* spp. (McBRIDE et al., 2005; SILVEIRA et al., 2017). Diversos estudos realizados em cães relatam que os títulos de anticorpos aglutinantes desenvolvidos pós vacinação são de baixa intensidade (ANDRÉ-FONTAINE et al, 2003; KOIZUMI & WATANABE, 2005) e possuem curta duração (BARR et al., 2005; RODRIGUES et al. 2013), por isso recomenda-se o reforço a cada seis meses dos animais suscetíveis através de vacinas que contenham na sua formulação representantes dos sorovares grassantes na região.

4 CONCLUSÕES

O conhecimento dos sorovares infectantes predominantes em hospedeiros de determinada região e do mundo, é imprescindível para a compreensão da epidemiologia e implementação de adequadas medidas de controle e prevenção para leptospirose. Com base em nossos achados, aconselha-se a implementação de estratégias de controle de roedores e imunização dos cães com vacinas que contenham o sorovar Copenhageni na sua formulação para mitigar o impacto desta doença zoonótica. Outros estudos são necessários para investigar a eliminação do agente pela urina e isolamento bacteriológico, seguido de identificação de sorovares.

REFERÊNCIAS

ANDRE-FONTAINE, G.; BRANGER, C.; GRAY, A.W.; KLAASEN, H.L. Comparison of the efficacy of three commercial bacterins in preventing canine leptospirosis. **The Veterinary Record**, v. 153, p. 165–169, 2003.

ANDRE-FONTAINE G. Canine leptospirosis - Do we have a problem? **Veterinary Microbiology**, v.117, n.1, p.19–24, 2006.

ARENT, Z.; GILMORE, C.; BREM, S.; ELLIS, W.A. Molecular studies on European equine isolates of *Leptospira interrogans* serovars Bratislava and Muenchen. **Infection, Genetics and Evolution**, v.34, p.26-31, 2015

AZOCAR-AEDO, L.; MONTI, G. Meta-Analyses of Factors Associated with Leptospirosis in Domestic Dogs. **Zoonoses and Public Health**, v.63, n.4, pp.328–336, 2016.

BARR, S.C.; MCDONOUGH, P.L.; SCIPIONI-BALL, R.L.; STARR, J.K. 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, n.10, p.1780-1784, 2005.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICALDI, J.N.; MATTHIAS, M.A.; DIAZ, M.M.; LOVETT, M.A.; LEVETT, P.N.; GILMAN, R.H.; WILLIG, M.R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J.M.

Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**, v.3, p.757–771, 2003.

CASTRO, J.R.; SOUZA, M.A.; SALABERRY, S. R.S.; NAVES, J.H. F. F.; GUIMARÃES, E. C.; LIMA-RIBEIRO, A.M.C. Leptospire canina relacionada à sazonalidade no município de Uberlândia, MG. **Ciência Animal**, v.21, n.2, p.77-86, 2011.

COSTA, F.; HAGAN, J.E.; CALCAGNO, J.; KANE, M.; TORGERSON, P.; MARTINEZ-SILVEIRA, M.S.; STEIN, C.; ABELA-RIDDER, B.; KO, A.I. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, p. 0–1, 2015.

DAHER, E.F.; BRUNETTA, D.M.; SILVA, G.B.JR.; PUSTER, R.A.; PATROCÍNIO, R.M.S.V. Pancreatic involvement in fatal human leptospirosis: clinical and histopathological features. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.45, n.6, p. 307–313, 2003.

de FARIA, M.T.; CALDERWOOD, M.S.; ATHANAZIO, D.A.; MCBRIDE, A.J.; HARTSKEERL, R.A.; PEREIRA, M.M.; KO, A.I.; REIS, M.G. Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. **Acta Tropica**, v.108, p.1-5, 2008.

DREER, M.K.P.; GONÇALVES, D.D.; CAETANO, I.C.S.; GERÔNIMO, E.; MENEGAS, P.H.; BERGO, D.; LOPES-MORI, F. M. R.; BENITEZ, A., FREITAS, J. C.; EVERS, F.; NAVARRO, I.T.; MARTINS, L.A. Toxoplasmosis, leptospirosis and brucellosis in stray dogs housed at the shelter in Umuarama municipality, Paraná, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 45, n. 1, p. 100-105, 2013.

ELLIS, W.A.; BRYSON, D.G.; O'BRIEN, J.J.; NEILL, S.D. Leptospiral infection in aborted equine foetuses. **Equine Veterinary Journal**, v.15, p.321-4, 1983.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: Australia, MediSci, p. 272, 1999.

FRAGA, D.B.M. **Avaliação do papel do cão como reservatório na transmissão da leptospirose urbana**. 2008. 78 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Bahia, 2008.

FRAUNE, C.K.; SCWEIGHAUSER, A.; FRANCEY, T. Evaluation of the diagnostic value of serologic microagglutination testing and a polymerase chain reaction assay for diagnosis of acute leptospirosis in dogs in a referral center. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 242, n. 10, p. 1373-80. 2013.

FREIRE, I.M.A.; VARGES, R.; LILENBAUM, W. Alterações na bioquímica hepática em cães com leptospirose aguda determinada por amostras do sorogrupo Icterohaemorrhagiae. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p.2630-32, 2008.

FONZAR, U.J.V.; LANGONI, H. Geographic analysis on the occurrence of human and canine leptospirosis in the city of Maringá, state of Paraná, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 1, p. 100-105, 2012.

GEISEN, V.; STENGEL, C.; BREM, S.; MULLERY, W.; GREENEZ, C.; HARTMANN, K. Canine leptospirosis infections - clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, p.324-328, 2007.

GOLDSTEIN, R.E. Canine Leptospirosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.40, n.6, p.1091-101, 2010.

GREENE, C. E. **Doenças Infecciosas em Cães e Gatos**. Quarta Edição, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE). **Censo demográfico. 2010**. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/sao-bernardo-do-campo/panorama> >. Acesso em: 03 mar. 2016.

KOIZUMI, N.; WATANABE, H. Leptospirosis vaccines: Past, present, and future. **Journal of Postgraduate Medicine**, v.51, n.3, p.210-214, 2005.

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

McBRIDE, A.J.; ATHANAZIO, D.A.; REIS, M.G.; KO, A.I. Leptospirosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v.18, p.376–86, 2005.

MIOTTO, B.A.; MORENO, L.Z.; GUILLOUX, A.G.A.; SOUSA, G.O.; LOUREIRO, A.P.; MORENO, A.M.; LILENBAUM, W.; VASCONCELLOS, S.A.; HEINEMANN, M.B.; HAGIWARA, M.K. Molecular and serological characterization of the first *Leptospira santarosai* strain isolated from a dog. **Acta Tropica**, v.162, p.1–4, 2016.

MIRAGLIA, F.; MATSUO, M.; MORAIS, Z. M.; DELLAGOSTIN, O. A.; SEIXAS, F. K.; FREITAS, J. C.; HARTSKEERL, R.; MORENO, L. Z.; COSTA, B. L.; SOUZA, G. O.; VASCONCELLOS, S. A.; MORENO, A. M. Molecular characterization, serotyping, and antibiotic susceptibility profile of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni isolates from Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 77, p. 195-199, 2013.

HAGIWARA, M. K.; MIOTTO, B. A.; TOZZI, B. F. Revisão sobre leptospirose canina no Brasil. **Revista Clínica Veterinária**, v. 119, p. 86–104, 2015.

MOHAMMED, H.; NOZHA, C.; HAKIM, K.; ABDELAZIZ, F. *Leptospira*: morphology, classification and pathogenesis. **Journal Bacteriology Parasitology**, v.2, p.1–5, 2011.

REIS, R.B.; RIBEIRO, G.S.; FELZEMBURGH, R.D.; SANTANA, F.S.; MOHR, S.; MELENDEZ, A.X.; QUEIROZ, ADRIANO.; SANTOS, A.C.; RAVINES, R.R.; TASSINARI, W.S.; CARVALHO, M. S.; REIS, M.G.; KO, A. I. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.2, n.4, e228, 2008.

RODRIGUES, A.M.A.; VASCONCELOS, S. A.; GONÇALES, A.P.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G.O.; HAGIWARA, M. K. Isolamento de *Leptospiras* spp. de cães com diagnóstico clínico de leptospirose em São Paulo (Brasil). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.2, p.705-714, 2007.

RODRIGUES, A.M.A.; HAGIWARA, M. K.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G.O.; GONÇALES, A.P.; VASCONCELOS, S. A. Isolation and characterization of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni and serovar Canicola from dogs with leptospirosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.26, p.791-791, 2012.

RODRIGUES, A.M.A.; VASCONCELOS, S. A.; GONÇALES, A.P.; MORAES, Z. M.; SOUZA, G.O.; HAGIWARA, M. K. Anticorpos revelados pelo teste de inibição do crescimento de leptospiros in vitro (TICL) contra os sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae e Copenhageni em cães adultos revacinados anualmente com vacina comercial contendo bacterinas dos sorovares Canicola, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa e Pomona. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.5, p.627-634, 2013.

ROMERO-VIVAS, C.M.; THIRY, D.; RODRIGUEZ, V.; CALDERÓN, A.; ARRIETA, G.; MATTAR, S.; CUELLO, M.; LEVETT, P.N.; FALCONAR, A.K. Molecular serovar characterization of *Leptospira* isolates from animals and water in Colombia. **Biomédica**, v.33, supl.1, p.179–184, 2013.

SCHULLER, S.; FRANCEY, T.; HARTMANN, K.; HUGONNARD, M.; KOHN, B.; NALLY, J.E.; SYKES J. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v.56, n.3, pp.159–179, 2015.

SILVEIRA, M.M.; OLIVEIRA, T.L.; SCHUCH, R.A.; MCBRIDE, A.J.A.; DELLAGOSTIN, O.A.; HARTWIG, D.D. DNA vaccines against leptospirosis: A literature review. **Vaccine**, v.35, n.42, p.5559-5567, 2017.

SYKES, J.E.; HARTMANN, K.; LUNN, K.F.; WOORE, G.E.; STODDOARD, R.A.; GOLDSTEIN, R.E. 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n.1, p. 1-13, 2011.

VAN DE MAELE, I.; CLAUS, A.; HAESEBROUCK, F.; DAMINET, S. Leptospirosis in dogs: a review with emphasis on clinical aspects. *Veterinary Record*, v. 163, p. 409-413, 2008.

YASUDA, P.H.; SANTA ROSA, C.A.; MYERS, D.M.; YANAGUITA, R.M. The isolation of leptospire from stray dogs in the city of Sao Paulo, Brazil. **International Journal of Zoonosis**, v. 7, n.2, p.131-134, 1980.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control**. Geneva: WHO; 2003. p. 122.