

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Veterinária



ESTUDO DE CASO DO SURTO DE LEPTOSPIROSE QUE OCORREU NO
CENTRO DE RECOLHA OFICIAL DE ANIMAIS DE SANTARÉM

DÉBORA NETO DUARTE

ORIENTADORA:
Dra. Margarete Sofia da Silva Cruz

COORIENTADORA:
Doutora Ilda Maria Neto Gomes Rosa

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Veterinária

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ESTUDO DE CASO DO SURTO DE LEPTOSPIROSE QUE OCORREU NO
CENTRO DE RECOLHA OFICIAL DE ANIMAIS DE SANTARÉM

DÉBORA NETO DUARTE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Solange Judite Roque
Coelho Alves Gil Neves

ORIENTADORA:

Dra. Margarete Sofia da Silva Cruz

VOGAIS:

Doutor Virgílio da Silva Almeida
Doutora Ilda Maria Neto Gomes Rosa

COORDINADORA:

Doutora Ilda Maria Neto Gomes Rosa

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Débora Neto Duarte

Título da Tese ou Dissertação: Estudo de caso do surto de leptospirose que ocorreu no Centro de Recolha Oficial de Animais de Santarém

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2025

Designação do curso de Mestrado ou de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Doutoramento:

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança Alimentar
 Morfologia e Função Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;
*indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

1. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
2. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
3. DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 26 de JUNHO de 2025

Assinatura: Débora Neto Duarte

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço àqueles que são a principal razão por todo este meu percurso, os animais. Sinto um amor profundo por todos vocês e um sentimento de proteção que nem consigo explicar, muito obrigada por tudo o que trazem à minha vida. Todos têm um lugar muito especial no meu coração mas deixo aqui um agradecimento particular à minha cadela Carochinha que me acompanha há muitos anos e foi a minha companheira em muitas horas de estudo.

Pai, Mãe, obrigada por me terem permitido realizar este sonho que vem desde pequenina, por todo o apoio que me deram nestes anos de faculdade e por acreditarem sempre em mim. Nunca terei como vos agradecer por serem tão bons pais e por tudo o que fazem por mim. Às minhas irmãs, Leticia e Martina, obrigada pela motivação e por serem minhas companheiras na causa animal.

Um enorme agradecimento a toda a equipa do Centro de Recolha Oficial de Animais de Santarém, obrigada por me fazerem sentir parte da equipa desde o primeiro dia e por todo o apoio e carinho que me deram ao longo do meu estágio no CROAS. Obrigada à Fernanda, ao Humberto, à Bruna, ao João e ao Tobias. Agradeço com um carinho especial à Joana, por todas as nossas maluqueiras, por todas as guloseimas e canecas de chá, mas acima de tudo obrigada pela amizade, que sem dúvida alguma foi das melhores coisas que o estágio me trouxe. Em especial agradeço à Dra. Margarete, por toda a paciência que teve comigo, pela liberdade que me deu no CROAS, por todos os ensinamentos que lhe garanto levar comigo para a vida, tanto profissional como pessoal, e acima de tudo obrigada pela confiança que sinto que depositou em mim. Espero, com todo o meu coração, um dia sermos colegas e que consigamos realizar todos os projetos que queremos no CROAS.

À professora Ilda Rosa agradeço toda a ajuda, disponibilidade e simpatia ao longo deste percurso.

À minha amiga e companheira desta caminhada de faculdade, Inês Guilherme, obrigada pelo companheirismo e amizade ao longo destes 6 anos, sem ti certamente não teria sido a mesma coisa.

Agradeço ainda a todos aqueles que de uma forma ou de outra me ajudaram a chegar até aqui, ainda nem acredito que já estou tão perto de ser uma verdadeira Médica Veterinária.

Estudo de caso do surto de leptospirose que ocorreu no Centro de Recolha Oficial de Animais de Santarém

Resumo

Decorrente do surto de leptospirose que aconteceu no Centro de Recolha Oficial de Animais de Santarém (CROAS), entre os meses de abril e julho do ano de 2024, realizou-se um estudo de caso que teve como objetivo caracterizar a população de canídeos infetados com *Leptospira* spp, assim como identificar possíveis fatores de risco que possam ter contribuído para a ocorrência deste surto e alertar para o impacto que esta doença pode ter a nível da saúde pública em contexto de medicina de abrigo.

Os cães do CROAS foram diagnosticados a partir de imunofluorescência para deteção de IgG e/ou IgM, sendo que foram diagnosticados 22 cães com leptospirose, dos quais 18 (81,8%) eram machos e 4 (18,2%) fêmeas. Não foi realizado nenhum outro exame complementar de diagnóstico. Os sinais clínicos mais frequentes foram hematoquézia (40,9%) e fezes com muco (40,9%).

Apenas os animais positivos no teste foram sujeitos a tratamento antimicrobiano com doxiciclina, com uma taxa de sucesso terapêutico de 95,5%.

Dos quatro funcionários presentes no CROAS nesse período, dois contraíram a doença (50%), sendo que um precisou de internamento prolongado devido à gravidade do quadro clínico.

Identificou-se como fator de risco os cães estarem alojados nas boxes interiores ao invés das exteriores, pátio e cercados ($p=0,043$; $OR=3,47$). Sugerindo uma maior probabilidade de contacto com poças de água ou escorrências contaminadas com urina de cães infetados ou urina de roedores, portadores assintomáticos, ou ambas.

Este estudo de caso revela a importância da adoção de rigorosas medidas de biossegurança interna e externa em Medicina de Abrigo, na prevenção de zoonoses num contexto de “Uma Saúde”.

Palavras-chave: Centro de Recolha Oficial, Leptospirose, Zoonose, Saúde Pública, Medicina de Abrigo

Case study of the leptospirosis outbreak at the Official Animal Collection Center of Santarém

Abstract

Resulting from the leptospirosis outbreak that occurred at the Official Animal Collection Center of Santarém (CROAS), between April and July 2024, a case study was conducted with the aim of characterizing the canine population infected with *Leptospira* spp., as well as identifying possible risk factors that may have contributed to the outbreak and raising awareness of the impact this disease can have on public health in a shelter medicine context.

Dogs at CROAS were diagnosed using immunofluorescence to detect IgG and/or IgM, and 22 dogs were diagnosed with leptospirosis, of which 18 (81.8%) were males and 4 (18.2%) females. No other complementary diagnostic tests were performed. The most frequent clinical signs were hematochezia (40.9%) and mucus in the stool (40.9%).

Only animals testing positive were subjected to antimicrobial treatment with doxycycline, with a therapeutic success rate of 95.5%.

Of the four employees present at CROAS during this period, two contracted the disease (50%), with one requiring prolonged hospitalization due to the severity of his clinical condition.

A risk factor was identified: dogs housed in indoor kennels instead of outdoor areas, patios, and enclosures ($p=0.043$; $OR=3.47$). Suggesting a higher probability of contact with puddles or runoff contaminated with urine from infected dogs or urine from rodents, asymptomatic carriers, or both.

This case study reveals the importance of adopting strict internal and external biosafety measures in Shelter Medicine, in the prevention of zoonoses in a “One Health” context.

Keywords: Official Collection Center, Leptospirosis, Zoonosis, Public Health, Shelter Medicine

Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo	iv
Abstract.....	v
Lista de Tabelas.....	viii
Lista de Figuras	viii
1 Atividades desenvolvidas durante o estágio.....	1
2 Revisão Bibliográfica	4
2.1 Etiologia	4
2.2 Transmissão e epidemiologia	5
2.3 Patogenia	7
2.4 Sinais clínicos.....	8
2.5 Leptospirose em gatos.....	9
2.6 Diagnóstico	10
2.6.1 Métodos de diagnóstico direto	11
2.6.1.1 Microscopia em fundo escuro	11
2.6.1.2 Cultura bacteriana	11
2.6.1.3 PCR (Polymerase Chain Reaction)	12
2.6.2 Métodos de diagnóstico indireto.....	13
2.6.2.1 MAT (Teste de aglutinação microscópica).....	13
2.6.2.2 ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)	14
2.6.2.3 Imunofluorescência	15
2.6.2.4 Testes rápidos	15
2.7 Tratamento.....	16
2.7.1 Antibioterapia	16
2.7.2 Tratamento desuporte.....	18
2.8 Monitorização.....	19
2.9 Prognóstico	20
2.10 Controlo e Prevenção	21
2.10.1 Vacinação.....	21
2.10.2 Outros métodos de prevenção	23
2.11 Centros de Recolha Oficial.....	23
2.12 Leptospirose em contexto de medicina de abrigo	24
2.13 Saúde pública	26
3 Estudo de caso do surto de leptospirose que ocorreu no Centro de Recolhas Oficial de Animais de Santarém	28

3.1	Antecedentes	28
3.2	Objetivos do estudo	29
3.3	Materiais e métodos	29
3.3.1	População em estudo	29
3.3.2	Critérios de inclusão	29
3.3.3	Critérios de exclusão	30
3.3.4	Fontes de dados e análises estatísticas	30
4	Resultados	31
4.1	Descrição da população de cães presentes no CRO	31
4.1.1	Género	31
4.1.2	Idade	32
4.1.3	Tempo de permanência dos cães no CRO	32
4.1.4	Porte	33
4.2	Instalações do CRO	34
4.3	Sinais clínicos	38
4.4	Vacinação	39
4.5	Tratamento	39
4.6	Doenças concomitantes	39
4.7	Desfecho clínico	40
4.8	Gatos presentes no CRO	40
4.9	Prevenção	41
5	Discussão	42
5.1	Fatores de risco	42
5.2	Controlo e prevenção	44
5.3	Diagnóstico	45
5.4	Vacinação	46
5.5	Sinais clínicos	47
5.6	Terapêutica	47
5.7	Saúde pública	48
5.8	Limitações de estudo	48
6	Conclusão	50
7	Referências Bibliográficas	51

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com o gênero. N=77.....	31
Tabela 2 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com a idade. N=77	32
Tabela 3 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com o tempo de permanência no CROAS. N=77	32
Tabela 4 - Média, mediana, máximo, mínimo e desvio padrão do peso dos cães infectados. N=22	33
Tabela 5 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo a leptospirose, de acordo com o porte. N=55.....	33
Tabela 6 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com o local de alojamento. N=77	36
Tabela 7 - Sinais clínicos apresentados pelos cães infectados. N=22	38

Lista de Figuras

Figura 1 - Ovariohisterectomia de uma cadela que apresentava uma massa uterina (fotografia original).....	2
Figura 2 - Palestra no segundo Congresso de Medicina de Abrigo (fotografia original)	3
Figura 3 - Representação das instalações do CROAS, onde estão representados os animais positivos (círculos vermelhos) e negativos (círculos verdes) consoante o local e tipo de alojamento onde se encontravam.....	35
Figura 4 - Boxes interiores (fotografia original).....	36
Figura 5 - Boxes exteriores (fotografia original).....	37
Figura 6 - Pátio (fotografia original).....	37
Figura 7 - Cercados (fotografia original).....	38
Figura 8 - Vista exterior do gatil (fotografia original).....	40
Figura 9 - Presença de ratos nas boxes interiores (círculo vermelho) (fotografia original).....	44
Figura 10 - Presença de ratos nas boxes interiores (círculo vermelho) (fotografia original).....	44

Lista de Abreviaturas e Símbolos

% - percentagem

< - menor que

> - maior que

µm - micrómetro

ADN - ácido desoxirribonucleico

CED - Captura Esterilização e Devolução

CRO – Centro de Recolha Oficial

CROAS - Centro de Recolha Oficial de Animal de Santarém

d - dia

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FeLV - Vírus da Leucemia Felina

FIV - Vírus da Imunodeficiência Felina

g - grama

h - hora

IgG - imunoglobulina G

IgM - imunoglobulina M

IV - intravenoso

kg – quilograma

LPHS - síndrome de hemorragia pulmonar leptospiral

MAT - Microscopic agglutination test (Teste de aglutinação microscópica)

mg - miligrama

min - minuto

mL - mililitro

p - p-value

PCR - Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia da polimerase)

qPCR - Quantitative polymerase chain reaction (reação em cadeia da polimerase quantitativa)

SIAC - Sistema de Informação de animais de companhia

1 Atividades desenvolvidas durante o estágio

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, o meu estágio curricular foi realizado na área de medicina de abrigo, no Centro de Recolha Oficial de Animais de Santarém (CROAS), com início a 2 de setembro de 2024 e terminando a 12 de março de 2024, fazendo um total de aproximadamente 1080 horas. O horário realizado foi diurno, de forma geral das 9:30h às 17:30h, sendo que vários dias chegava mais cedo e/ou saía mais tarde, tendo ainda feito algumas horas noturnas e também fins de semana para adoções e ajudar em cirurgias de urgência.

Durante o estágio tive a oportunidade de participar em diversas atividades que fazem parte do normal funcionamento de um Centro de Recolha Oficial (CRO) e desenvolvi várias competências na área da medicina de abrigos. As atividades incluíram a participação em cirurgias, tratamentos médico-veterinários, no programa de vacinação, recolha de animais errantes e acompanhamento das adoções.

Nestes meses fiz parte da equipa do CROAS onde participei na rotina diária do CRO, que é composta por várias responsabilidades, como a recolha de animais errantes (muitos casos com recurso a laços e jaulas de captura), o seu alojamento adequado nas instalações, manutenção de um ambiente limpo e arrumado, higienização das jaulas e boxes, divulgação dos animais para adoção bem como realização de visitas, candidaturas a adoção e adoções realizadas no CROAS em que era responsável pelo contacto com os interessados em adotar, fornecendo todas as informações comportamentais e médicas relevantes do animal e esclarecendo eventuais questões.

Realizei, acompanhei e assisti a vários procedimentos, tais como a contenção adequada dos animais, colocação/remoção dos animais da caixa de transporte/jaula, realização de exames físicos, limpeza de feridas, realização de pensos, colheitas de sangue, colocação de cateteres endovenosos, preparação e administração de fármacos por via oral, subcutânea, intramuscular e endovenosa, execução de testes rápidos FIV/FeLV, leishmania e parvovírus/coronavírus, observação ao microscópio ótico de amostras de sangue fresco para pesquisa de microfilárias, realização de eutanásias e acondicionamento dos cadáveres, colocação de transponders e respetivos registos no sistema de informação de animais de companhia (SIAC), preenchimento correto dos boletins sanitários, desparasitações, vacinações (consultas de vacinação de animais adotados, vacinação dos animais que estão nas instalações do CROAS e vacinação antirrábica de canídeos no âmbito da Campanha de Vacinação Contra a Raiva do município de Santarém).

No âmbito da cirurgia, participei como ajudante de cirurgiã em ovariectomias eletivas em cadelas e gatas (sendo que algumas se vieram a mostrar casos de piômetras e de gestações), orquiectomias de cães e gatos (que incluíram casos de animais criptorquídeos tanto bilaterais como unilaterais), excisão cirúrgica de tumores mamários em gatas e cadelas, correção de prolapso retal através de colopexia, correção de hérnias, correção de prolapso vaginal em cadelas, resolução de otômatoma, excisão de carcinoma espinocelular no pavilhão auricular de gatos, amputação da cauda de uma cadela, excisão de diversos tumores/massas em vários animais, resolução cirúrgica do caso de um cão com mucocelo através da técnica de marsupialização e enucleação do globo ocular de um gato adulto e de um gatinho.

Figura 1 - Ovariectomia de uma cadela que apresentava uma massa uterina (fotografia original)



Realizei, sob supervisão e orientação da médica veterinária municipal, várias ovariectomias e orquiectomias de canídeos e felídeos dos dois sexos, incluindo esterilizações pediátricas, tendo a cirurgia sido realizada em gatas através do acesso pela linha média ventral bem como pela abordagem lateral.

Nos procedimentos pré-cirúrgicos realizei várias sedações, tricotomias e assepsias do campo operatório, assim como posicionamento do paciente na mesa de cirurgia. Realizei intubações orotraqueais e ajudei na monitorização anestésica e resolução de complicações durante a anestesia.

Várias foram as vezes em que trabalhamos em equipa, sempre com o objetivo

de melhorarmos o bem-estar dos animais a nosso cargo e conseguimos fazer um trabalho melhor a cada dia. Entre a equipa, trocámos ideias diariamente sobre diversos temas, como enriquecimento ambiental para os animais, que cães poderíamos juntar nas mesmas boxes/cercados, sobre a evolução de alguns animais, quer a nível comportamental como médico, sobre atividades que poderíamos vir a desenvolver dentro e fora do CROAS.

Acompanhei ainda a médica veterinária municipal numa ação de sensibilização realizada numa escola da cidade de Santarém tendo como objetivos cativar os alunos, professores e auxiliares para o bem-estar animal, para a importância da esterilização e vacinação dos animais de companhia, bem como para consciencializar para a responsabilidade de uma adoção.

Particpei também na organização e logística do programa de captura, esterilização e devolução (CED) de felídeos realizado pelo CROAS, assim como nos processos de captura e devolução dos animais às colónias, instalação dos abrigos e sensibilização dos cuidadores e moradores.

Nos dias 22 e 23 de novembro estive presente, juntamente com a médica veterinária municipal, no 2º congresso de Medicina de Abrigo realizado na Universidade de Trás os Montes e Alto Douro (UTAD), onde assisti a várias palestras direcionadas a profissionais e estudantes de ciências veterinárias com particular interesse nesta área.

Figura 2 - Palestra no segundo Congresso de Medicina de Abrigo (fotografia original)



Nos dias 15 e 16 de abril iremos estar presentes no IV Fórum de Medicina e Gestão de Abrigos, que se irá realizar em Coimbra no Convento São Francisco.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Etiologia

A leptospirose é uma doença infecciosa de carácter sistémico cujos agentes etiológicos são as bactérias do género *Leptospira*, que pertencem à família Leptospiraceae e à ordem Spirochaetales. (Simões et al. 2016).

A taxonomia é complexa, sendo que originalmente o género *Leptospira* foi classificado em duas espécies com base na sua virulência: *Leptospira interrogans* sensu lato (estirpes patogénicas) e *Leptospira Biflexa* sensu lato (estirpes saprófitas) (Vincent et al. 2019).

Mais recentemente, as leptospirosas podem classificar-se pelas suas características sorológicas ou genéticas (Sykes et al. 2023). Sorologicamente as leptospirosas patogénicas podem serotipificar-se em mais de 300 serovares com base nos seus antígenos externos presentes nos lipopolissacarídeos. Por sua vez, os serovares estão organizados em serogrupos com base na sua similaridade antígenica. Geneticamente as cepas de leptospirosas classificam-se com base na composição da sequência do ácido desoxirribonucleico (ADN). Segundo esta classificação conhecem-se 68 espécies que estão agrupadas em 4 subclasses, sendo 2 subclasses saprófitas, S1 e S2, e 2 subclasses patogénicas, P1 (patogénicas) e P2 (patogénicas intermédias). Por sua vez, a subclasse P1 divide-se ainda em espécies patogénicas de alta virulência e de baixa virulência. Geralmente, a leptospirose nos cães é resultado de infeções causadas por espécies virulentas de P1, ainda que, ocasionalmente as espécies de P2 também tenham sido associadas a doença grave nestes animais (Sykes et al. 2023).

As espécies saprófitas e patogénicas apresentam algumas semelhanças na sua estrutura e composição genética, no entanto, variam de acordo com outros fatores, como a capacidade de aguentar a temperatura. As leptospirosas saprófitas têm a capacidade de crescer a baixas temperaturas (5 a 35°C) e são encontradas naturalmente no solo e na água e, ainda que não tenham a capacidade de causar infeções, já foram encontradas na urina de vários mamíferos, sendo a principal espécie saprófita a *Leptospira biflexa*. As leptospirosas intermédias sobrevivem com temperaturas entre 1 a 37°C e compartilham características bioquímicas entre as espécies saprófitas e patogénicas, sendo a *Leptospira parva* uma das principais espécies deste grupo. As espécies patogénicas, sendo a mais importante a *Leptospira interrogans*, requerem temperaturas entre os 20 e os 35°C e são estas as responsáveis por provocar a leptospirose (Samrot et al. 2021).

A leptospirose canina foi descrita pela primeira vez em 1899 e acreditava-se que

os serovares Icterohaemorrhagiae e Canicola eram responsáveis pela maioria dos casos clínicos de leptospirose canina. No entanto, os serovares predominantes de *Leptospira* spp. mudaram para outros, como Grippotyphosa, Pomona, Bratislava e Autumnalis, como resultado das vacinas bivalentes amplamente utilizadas (Browne et al. 2023).

As leptospirosas são espiroquetas finas (diâmetro de cerca de 0,1 a 0,15µm) e compridas (6 a 20µm de comprimento), de multiplicação e crescimento lentos, aeróbias obrigatórias e altamente suscetíveis à seca e a condições hipertônicas. Têm uma forma helicoidal, com as extremidades encurvadas em forma de gancho e são dotadas de motilidade devido à presença de flagelos periplasmáticos que surgem a partir de cada extremidade da bactéria e que servem também como citoesqueleto e mantêm a forma plana e ondulada do organismo. Em relação à sua estrutura, apresentam uma membrana interna, uma membrana intermédia com peptidoglicanos e uma membrana externa com lipopolissacáridos e proteínas transmembranares, sendo que a membrana externa já demonstrou ter um papel importante na virulência destas bactérias (Samrot et al. 2021).

2.2 Transmissão e epidemiologia

As leptospirosas são transmitidas principalmente por duas vias de exposição: quer por contacto direto com um animal infetado, quer por contacto com meios ambientais, como o solo e a água, que estão contaminados com fluidos corporais (especialmente urina) de animais infetados. Estas bactérias penetram através de cortes ou escoriações na pele e/ou mucosas externas, como oral, conjuntival, respiratória e genitourinária (Samrot et al. 2021). Embora as leptospirosas não se repliquem fora do hospedeiro e sejam facilmente inativadas em condições adversas, os serovares patogénicos podem permanecer viáveis na água ou no solo por semanas (M. I. N. Di Azevedo et al. 2023). As leptospirosas têm tendência a causar doenças renais crónicas aos animais portadores; explicando assim porque é que a urina de animais infetados contém um grande número destes organismos (Samrot et al. 2021).

Devido à grande variedade de estirpes existentes, as leptospirosas possuem uma ampla diversidade de reservatórios, podendo infetar seres humanos, animais domésticos e selvagens, sendo o rato castanho *Rattus norvegicus* o reservatório principal. O ambiente tem um papel importante nas infeções tanto de animais como de pessoas, pois estas ocorrem principalmente devido ao contacto com um ambiente contaminado, principalmente água. Alguns fatores ambientais como o clima, a temperatura, as propriedades do solo, a humidade e as condições sanitárias podem

favorecer a persistência prolongada de leptospiros no ambiente e a transmissão da leptospirose, pelo que regiões tropicais com elevada precipitação e sistemas de saneamento inadequados apresentem uma maior prevalência de leptospirose do que áreas sem estas condições. (Browne et al. 2023)

A leptospirose é considerada uma zoonose pois envolve um agente patogénico específico que é transmitido de um animal para um hospedeiro humano. Embora esteja bem estabelecido que, a leptospirose, raramente é transmitida de pessoa para pessoa é possível que na amamentação se propaguem leptospiros das mães infetadas a recém-nascidos. As relações sexuais são também uma via de transmissão possível (embora rara), pois existe uma pequena probabilidade de urina contaminada ser trocada diretamente entre parceiros sexuais (Samrot et al. 2021).

No ciclo de transmissão da leptospirose, os seres humanos são considerados hospedeiros acidentais, dado que não são um reservatório definitivo como os ratos e outros mamíferos, em que a infeção ocorre comumente durante atividades recreativas, ocupacionais ou domésticas (Browne et al. 2023). Nas pessoas existem três fatores de risco principais associados ao risco de transmissão da doença: (1) exposição à água; (2) exposição a roedores; e (3) transmissão por gado ou animais de companhia (Murillo et al. 2020).

A leptospirose é considerada uma doença ocupacional já que está associada a agricultores, mineiros, trabalhadores de matadouros, comerciantes de animais de estimação, Médicos Veterinários, caçadores de roedores, trabalhadores de esgotos, coletores de lixo e criadores de gado, entre outros que tenham contacto com vários animais. Embora não sejam considerados fatores de risco, os desportos aquáticos e viagens internacionais contribuem, significativamente, para a rápida transmissão da leptospirose (Samrot et al. 2021).

Os hospedeiros de manutenção referem-se aos animais infetados que são assintomáticos, mas que eliminam leptospiros viáveis nos seus fluidos, agindo simultaneamente como hospedeiros e reservatórios. Estes hospedeiros desempenham um papel importante na epidemiologia da leptospirose, pois excretam leptospiros no ambiente por longos períodos de tempo, tornando-se importantes fontes de infeção para outros hospedeiros (M. I. N. Di Azevedo et al. 2023).

Os cães são reconhecidos como hospedeiros definitivos/reservatórios de leptospiros patogénicas desde 1931, sendo atualmente a leptospirose canina relatada em todo o mundo. Devido a serem altamente suscetíveis à infeção por leptospiros e à sua proximidade com os seres humanos, têm um papel importante como fonte de infeção para as pessoas assim como no conceito de One Health, especialmente os casos assintomáticos (M. I. N. Di Azevedo et al. 2023). É importante referir que, estas

bactérias, não se multiplicam no meio ambiente, sendo por isso os hospedeiros reservatórios essenciais para a contaminação contínua do mesmo e consequente infecção dos animais suscetíveis (Greene et al. 2012).

Em áreas urbanas, a transmissão está diretamente associada à proximidade com populações de roedores que são a fonte mais importante de infecções humanas e também caninas. As características das comunidades urbanas pobres (por exemplo, esgotos a céu aberto, lixo acumulado e pisos de terra) criam um habitat ideal para ratos, o que leva a altas taxas de infestação e contato frequente com os moradores (M. I. N. Di Azevedo et al. 2023).

A leptospirose é uma doença de distribuição mundial que está presente em todos os continentes exceto na Antártida, com prevalências de 11 a 30% em seres humanos e em cães de 12 a 41%, variando de acordo com a região geográfica (Browne et al. 2023). A Região Autónoma dos Açores é a região geográfica de Portugal com maior taxa de incidência (10 vezes superior à do Continente). Esta situação pode ser justificada pelas condições de humidade e temperaturas médias dos Açores, que são favoráveis à disseminação das bactérias, assim como pela vasta densidade de roedores nas ilhas e também pela maior sensibilização da população e dos clínicos para a ocorrência desta doença, o que contribui para um aumento do número de casos relatados (Mottola et al. 2015).

Em Portugal, a leptospirose é uma doença de declaração obrigatória em Medicina Humana (Mottola et al. 2015), no entanto, em Medicina Veterinária não faz parte da lista de doenças de declaração obrigatória, publicada pela Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV 2015).

2.3 Patogenia

As leptospirosas invadem o hospedeiro através do contacto com as mucosas, conjuntivas, cortes e abrasões na pele, através de proteínas que estão presentes na sua membrana externa e que aderem a componentes da matriz extracelular das células hospedeiras (glicosaminoglicanos, fibronectinas, elastina, laminina e colagénio) e a recetores celulares como as caderinas, que favorecem a alteração da integridade das células hospedeiras (células endoteliais, monócitos, células epiteliais renais e fibroblastos) (Daroz et al. 2021).

Após a infecção pela leptospira, ocorre a sua disseminação através da corrente sanguínea, com rápida multiplicação nos tecidos de vários órgãos, como os rins, fígado, olhos e sistema nervoso central, estabelecendo-se assim uma infecção sistémica. Esta fase inicial é denominada como fase de leptospirémia e tem a duração média de 10 dias

(Beck et al. 2024; Schuller et al. 2015). As bactérias ao provocarem lesões no revestimento vascular das células endoteliais provocam hemorragias nos tecidos com posterior formação de trombos e bloqueio do aporte sanguíneo para as áreas acometidas. Esta fase termina quando os anticorpos opsonizantes aparecem em circulação (cerca de 10 dias após infecção), promovendo assim a eliminação das bactérias da corrente sanguínea e dos órgãos afetados, exceto aqueles que estão protegidos do sistema imunitário como os rins e o trato genital, onde as bactérias podem persistir por períodos de tempo prolongados (Simões et al. 2016).

Posteriormente, temos a fase leptospirúrica que tem uma duração variável conforme a resposta imunitária do hospedeiro infetado e da estirpe presente (Schuller et al. 2015), que corresponde à fase de resposta imunitária, com o aparecimento de anticorpos circulantes e em que o animal liberta as leptospiras no meio ambiente através da urina (Mottola et al. 2015).

O período de incubação da leptospirose em cães é de aproximadamente 7 dias, ainda que possa variar de 2 a 14, dependendo da resposta imunitária do hospedeiro, da virulência da estirpe, da quantidade de bactérias à qual o animal foi exposto e da qualidade da resposta do sistema imunitário (Sykes et al. 2023; Di Azevedo et al. 2023). Desta forma a infecção pode ser hiperaguda, aguda, subaguda ou crônica (Greene et al. 2012).

Os casos de infecções hiperagudas caracterizam-se por ocorrerem rapidamente, em menos de 24 horas, havendo uma leptospirémia massiva e os animais morrerem com poucos sinais premonitórios (Greene et al. 2012).

Nos casos de infecções agudas, que ocorrem em 1-2 dias é comum observar-se pirexia e fraqueza muscular, enquanto que, as infecções subagudas (2-7 dias), caracterizam-se por insuficiência renal e hepática agudas. Os animais que sobreviverem à fase aguda da doença poderão não recuperar na totalidade apresentando sinais clínicos de doença renal e/ou hepática crônica (Greene et al. 2012).

2.4 Sinais clínicos

Os sinais clínicos e a gravidade da doença irão depender do serovar infetante e da resposta imunológica do hospedeiro, podendo variar de uma infecção subclínica a uma doença grave e mesmo fatal (Mottola et al. 2015).

Os cães com leptospirose podem ser assintomáticos, apresentar sinais clínicos leves ou desenvolver uma doença grave. Alguns sinais clínicos são: febre, falta de apetite, desidratação, apatia, vômitos, diarreias, hematómese, hematoquémia, melena, epistáxis, hematúria e petéquias, palpação abdominal dolorosa (os rins podem estar

ligeiramente aumentados à palpação), poliúria, polidipsia, oligúria ou anúria devido à disfunção renal aguda, mucosas congestionadas, tosse, conjuntivite, uveíte, tonsilite, a temperatura retal pode estar dentro dos limites de referência normais, taquipneia, pulso rápido e regular, defeitos na coagulação, icterícia devido à insuficiência hepática, sinais compatíveis com pancreatite (pode ocorrer como sequela da leptospirose), dispneia respiratória (sendo uma possível causa a Síndrome de Hemorragia Pulmonar Leptospiral, que se caracteriza por uma hemorragia intra-alveolar multifocal que pode levar a uma hemoptise massiva com insuficiência respiratória), aborto e infertilidade (Greene et al. 2012; Schuller et al. 2015; Sykes et al. 2023).

Nos seres humanos os sintomas principais incluem: febre alta, dores de cabeça, dores musculares, calafrios, vômitos, dor abdominal, petéquias, olhos e pele amarela (icterícia). Em casos mais graves a leptospirose pode provocar meningite, insuficiência renal ou hepática e dificuldade respiratória, podendo mesmo provocar a morte do doente. As manifestações mais graves de leptospirose em seres humanos são a doença de Weil (caracterizada por uma tríade de icterícia, lesão renal aguda e manifestações hemorrágicas) ou a Síndrome Pulmonar Hemorrágica Leptospiral. Em gestantes pode ocorrer aborto (Araújo and Silva 2024; Rajapakse 2022; Sykes et al. 2023; Uribe-Restrepo et al. 2024).

Os sinais clínicos da leptospirose em bovinos são muito variados, assim como os já descritos nos cães e seres humanos, podendo ainda provocar abortos, infertilidade, mortalidade neonatal, nascimento de bezeros fracos e mastites (Simões et al. 2016).

2.5 Leptospirose em gatos

A leptospirose felina foi descrita pela primeira vez em 1972. Os serovares mais frequentes envolvidos na leptospirose felina na Europa pertencem aos serogrupos Australis, Autumnalis, Ballum, Canicola, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Sejroe (Murillo et al., 2020).

A infeção por leptospirose em gatos tem sido associada ao consumo de presas infetadas, sendo que os que vivem ao ar livre têm um risco acrescido de serem infetados por leptospirosas, uma vez que estão em contacto próximo com hospedeiros reservatórios. Nas zonas rurais, também podem ser infetados através da urina de porcos e vacas. A presença de outro gato no agregado familiar aumenta, significativamente, o risco de seropositividade para leptospirose (Beck et al. 2024; Murillo et al. 2020).

A transmissão entre gatos pode ocorrer, principalmente quando há contato próximo entre animais infetados e saudáveis e as condições que comprometam o seu sistema imunológico, como doenças crónicas ou imunossupressão, podem torná-los

mais suscetíveis à leptospirose (Beck et al. 2024)

Vários estudos confirmaram o transporte renal de leptospiros nas populações daqueles, o que significa que podem ser hospedeiros reservatórios crônicos desta bactéria e um possível fator de risco para a infecção humana (Murillo et al. 2020).

A patogénese da doença nesta espécie permanece desconhecida, embora se presume que seja semelhante à dos seres humanos e dos cães. Os gatos podem atuar como hospedeiros portadores, não desenvolvendo doenças clínicas, mas espalhando as bactérias no ambiente através da urina. Um estudo epidemiológico confirmou a presença de ácido desoxirribonucleico (ADN) leptospiral na urina de gatos durante mais de 8 meses após a infecção. No entanto, isto não exclui a possibilidade de os animais infetados desenvolverem doença renal numa fase posterior (Murillo et al. 2020).

Nos gatos, os sinais clínicos são, no máximo, ligeiros, apesar da presença de leptospiros no sangue e na urina. Os sinais clínicos notificados em infetados incluem poliúria, polidipsia, hematúria, uveíte, claudicação, letargia, anorexia, perda de peso, ascite, vômitos, diarreia e lesões inflamatórias na pele. Tal como acontece com os cães, a leptospirose nos gatos pode causar lesão renal aguda que leva à doença renal crónica. As lesões no fígado de felídeos afetados foram relatadas com menos frequência do que em cães (Murillo et al. 2020).

Dada a atual falta de vacina, a melhor forma de evitar a infecção nos gatos é através da prevenção da exposição. Os mantidos em ambientes fechados têm menor risco de serem infetados. Recomenda-se a prevenção de oportunidades de predação e evitar o contacto com água estagnada, urina de animais infetados e cães com risco de leptospirose clínica (Murillo et al. 2020).

2.6 Diagnóstico

A leptospirose deve constar da lista de diagnóstico diferencial de qualquer animal que apresente sinais clínicos como vômitos, diarreia, febre, letargia e anorexia, sobretudo se tiver sido adotado num abrigo e não se conhecer o estado vacinal anterior (Spangler et al. 2020).

Existem diversas técnicas utilizadas para o diagnóstico de leptospirose, podendo dividir-se em métodos diretos que detetam a bactéria e métodos indiretos que detetam anticorpos específicos contra a bactéria.

Os primeiros incluem a identificação de ácido desoxirribonucleico (ADN) das espiroquetas por reação em cadeia da polimerase (PCR), o isolamento de leptospiros através de cultura e microscopia em fundo escuro, enquanto os segundos englobam testes que detetam anticorpos contra a leptospira, sendo o teste de aglutinação

microscópica (MAT) considerado o gold standard (Gomes et al. 2023; Uribe-Restrepo et al. 2024).

O diagnóstico específico da leptospirose baseia-se na suspeita clínica juntamente com os resultados dos testes serológicos e a deteção direta de leptospiras, uma vez que todos os testes de diagnóstico disponíveis têm limitações, sendo por isso recomendada a aplicação de uma combinação de testes serológicos e de deteção de organismos para otimizar o diagnóstico da leptospirose (Sykes et al. 2023).

Assim como nos animais, nos seres humanos o diagnóstico da leptospirose apresenta um desafio significativo devido à sua apresentação clínica altamente variável e inespecífica, que imita uma vasta gama de outras doenças infecciosas, pelo que o diagnóstico é feito por meio de uma combinação de sinais clínicos, histórico de exposição e confirmação laboratorial com testes serológicos, reação em cadeia da polimerase (PCR) ou cultura bacteriana (Ciurariu et al. 2025; Ramos et al. 2022).

2.6.1 Métodos de diagnóstico direto

2.6.1.1 Microscopia em fundo escuro

A microscopia direta e a microscopia em fundo escuro são úteis para a deteção de leptospiras em fluidos corporais, como sangue, urina e líquido cefalorraquidiano (LCR). Graças ao contraste que se cria entre as leptospiras e o fundo escuro, estes microorganismos podem-se observar pelo seu aspeto morfológico, como bastonetes finos, brilhantes e móveis (Verma et al. 2020). Esta prova requer alta experiência técnica para reconhecer as leptospiras, já que se podem confundir com fibrina, detritos e outras bactérias originando falsos positivos, particularmente quando estão presentes em pouca quantidade (OMS 2008).

2.6.1.2 Cultura bacteriana

A cultura e isolamento de leptospiras permite o diagnóstico definitivo da leptospirose e a identificação do serovar infetante, sendo este dado importante para o controlo e profilaxia da doença. É um método que fornece resultados altamente precisos, no entanto, é um processo muito moroso (incubação até 3 a 6 meses) e pouco sensível, devido ao facto das leptospiras demorarem muito tempo a dividir-se e, conseqüentemente, toda a cultura pode demorar meses a crescer, sendo pouco útil para o diagnóstico atempado da doença (Samrot et al. 2021; Simões et al. 2016; Schuller et al. 2015; Sykes et al. 2011).

Neste método de diagnóstico, as amostras de um doente suspeito, geralmente

de urina e/ou sangue, são colhidas e espalhadas num frasco de cultura, sendo o meio de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris o mais utilizado para este fim, tratando-se de um meio enriquecido e seletivo. As leptospiras podem também ser cultivadas a partir de amostras de líquido cefalorraquidiano (Samrot et al. 2021).

As amostras são enviadas para o laboratório refrigeradas e devem ser recolhidas de forma asséptica e previamente a tratamentos com antimicrobianos (Greene et al. 2012).

Como as leptospiras são organismos altamente infecciosos, necessitam de ser manuseadas com o máximo cuidado, mesmo por pessoal experiente. Assim sendo, pode haver risco de infeções adquiridas em laboratório com esta técnica (Samrot et al. 2021).

2.6.1.3 PCR (Polymerase Chain Reaction)

O PCR convencional e as suas variantes são um método de diagnóstico rápido e altamente sensível que detetam ADN de leptospiras, inclusive em amostras que apresentem baixos níveis de bactérias no sangue, sendo úteis em estágios iniciais da infeção (Samrot et al. 2021). Com este método podem ser identificados casos de animais portadores crónicos em doentes assintomáticos com leptospiúria (Sykes et al. 2011).

As amostras mais utilizadas para a realização deste teste são o sangue e a urina, mas pode ser também executado em tecidos, como o tecido renal, hepático e pulmonar. Nos primeiros 10 dias de infeção, o número de microorganismos é mais elevado no sangue e, por isso, o sangue é a amostra de eleição durante a primeira semana da doença (fase de leptospiúria). Após este período, as bactérias estão presentes em maior concentração na urina (fase de leptospiúria). Como normalmente o momento da infeção é desconhecido, os testes simultâneos em amostras de sangue e urina podem aumentar a sensibilidade diagnóstica ((Greene et al. 2012: Sykes et al. 2011).

Uma vantagem da utilização do PCR é que os resultados são gerados muito rapidamente, em comparação com as técnicas convencionais como a cultura (Samrot et al. 2021).

O PCR convencional requer o uso subsequente de eletroforese em gel de agarose para detetar genes leptospirais alvo e algumas variantes, como a PCR quantitativa em tempo real (qPCR) utiliza sondas fluorescentes para detetar e quantificar a amplificação do ADN em tempo real, contudo uma das principais desvantagens da qPCR para o diagnóstico da leptospirose é que os primers podem, por vezes, ligar-se a um local não específico, levando a resultados falsos positivos. Por este motivo, existem

outras variantes, como a PCR múltipla, que utilizam conjuntos de primers em vez de um para aumentar a especificidade da ligação e amplificação do ADN (Samrot et al. 2021).

Atualmente, é recomendado utilizar técnicas serológicas e moleculares para aumentar a sensibilidade do diagnóstico como, por exemplo, o uso de PCR e ELISA (Verma et al. 2020; Samrot et al. 2021). Embora o PCR possa detetar organismos viáveis e não viáveis, a administração de antimicrobianos recentes e um número muito reduzido de microrganismos pode induzir resultados falsos negativos. O PCR não tem a capacidade de identificar o serogrupo ou o serovar infetante, tendo sido concebido para detetar apenas serovares patogénicos de leptospiros, sendo que por isto este teste não é útil para estudar a epidemiologia das estirpes de leptospiros (Sykes et al. 2011; Verma et al. 2020).

Obtendo um resultado positivo no sangue e na presença de sinais clínicos compatíveis estamos perante um caso altamente sugestivo de leptospirose aguda. Por sua vez, um resultado positivo na urina indica que existe excreção renal, o que pode ocorrer quer em cães na fase aguda da doença, quer nos portadores renais crónicos. Por outro lado um resultado negativo tanto no sangue como na urina não exclui a doença, devido à leptospirose ser transitória, ocorrendo apenas na fase inicial da doença e a excreção renal poder ser intermitente (Schuller et al. 2015).

2.6.2 Métodos de diagnóstico indireto

2.6.2.1 MAT (Teste de aglutinação microscópica)

A prova de microaglutinação é a técnica gold standart para o diagnóstico de leptospirose que deteta os anticorpos produzidos contra os antígenos dos serovares de leptospira. Esta técnica envolve a reação de diluições em série de soros de um determinado animal com uma série de serovares de leptospiros e a avaliação da aglutinação dos microrganismos por microscopia de fundo escuro. A maior diluição sérica que provoca a aglutinação de 50% das leptospiros na reação é informada ao médico veterinário. São utilizadas culturas bacteriana vivas dos serogrupos que apresentam maior frequência numa determinada zona geográfica (Greene et al. 2012; Samrot et al. 2021; Sykes et al. 2011).

Podem ocorrer falsos negativos caso o teste seja realizado na fase inicial da doença, pois os níveis de anticorpos são muito baixos ou nulos. Além disto, o tratamento com antibióticos nos estágios iniciais da infeção também pode suprimir a produção de anticorpos contra a leptospira (Samrot et al. 2021; Sykes et al. 2011, 2023). Desta forma é recomendada a realização de duas provas (com 7 a 14 de intervalo), uma na fase

aguda e outra na fase de convalescença da doença, visto o MAT detetar imunoglobulina G (IgG) e imunoglobulina M (IgM) aglutinantes e o período de seroconversão ter uma duração de sete a nove dias, aumentando assim a sensibilidade do teste. Um aumento de 4 vezes ou mais no título de anticorpos é compatível com a presença da doença (Greene et al. 2012; Schuller et al. 2015; Sykes et al. 2011).

Outro motivo que pode gerar falsos negativos é no caso do serovar infetante não estar incluído no painel de serovares utilizados para realizar o teste (Sykes et al. 2011).

A prova de microaglutinação não pode distinguir entre anticorpos pós-vacinais ou anticorpos de uma infeção passada, atual e recente, pelo que elevados títulos daqueles nos primeiros dias da doença devem levantar suspeita de vacinação recente, exposição subclínica recente ou um estadio crónico da mesma. Os títulos podem persistir durante pelo menos 1 ano após a infeção natural, mas geralmente diminuem 4 meses após a vacinação. Em cães vacinados, títulos elevados em serovares não incluídos na vacina, não indiciam necessariamente infeção natural, pois pode ocorrer imunidade cruzada após vacinação (Samrot et al. 2021; Sykes et al. 2011).

Ao contrário dos laboratórios de referência humana, onde podem incorporar mais de 30 serovares diferentes, os laboratórios de diagnóstico veterinário incluem normalmente entre 5 – 7 serovares, pelo que se recomenda integrar serovares recentes e em circulação local no painel de antigénios para aumentar a especificidade e sensibilidade do teste (Sykes et al. 2011, 2023).

Apesar da realização deste teste ser perigosa devido ao contacto dos operadores com bactérias com potencial zoonótico e da sua interpretação ser algo subjetiva e requerer conhecimentos consideráveis, é um teste bastante acessível e apresenta-se como a melhor opção de diagnóstico sorológico se executado corretamente (Sykes et al. 2011).

2.6.2.2 ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática)

O teste de ELISA é capaz de detetar imunoglobulinas M (IgM) e/ou imunoglobulinas G (IgG) contra as leptospiros. Ao contrário da prova de microaglutinação (MAT), este método não requer a utilização de culturas vivas destas bactérias, sendo esta a sua principal vantagem. É utilizado principalmente para detetar anticorpos em estágios iniciais da doença (Schuller et al. 2015; Samrot et al. 2021).

Em relação aos títulos de IgM, ocorre um aumento uma semana após a infeção, sendo o pico atingido ao fim de duas semanas e, posteriormente, ocorre um decréscimo. Por sua vez, os títulos de IgG obtidos por ELISA aumentam 2-3 semanas após a infeção, com um título máximo em aproximadamente um mês, e, ao contrário do que se verifica

no MAT e nos títulos de IgM, os títulos de IgG aumentam bastante após a vacinação e mantêm-se elevadas durante vários meses. Posto isto, o método ELISA é melhor do que o MAT quanto à distinção entre a presença de anticorpos derivados de vacinação ou de infeção natural, sendo que cães vacinados exibem titulações de IgG elevadas com títulos de IgM baixos ou negativos (Greene et al. 2012).

Apesar de ser uma prova eficaz, os níveis muito baixos ou ausentes de anticorpos na primeira fase da infeção podem gerar falsos negativos. Outra limitação reside na possibilidade de obtenção de falsos positivos devido à presença de anticorpos pós-vacinais recentes. Assim, recomenda-se repetir o teste em doentes suspeitos duas semanas depois da realização do primeiro teste e utilizar outros testes, como o PCR e o MAT para aumentar a sensibilidade do diagnóstico da doença (Schuller et al. 2015; Verma et al. 2020; Samrot et al. 2021).

2.6.2.3 Imunofluorescência

A imunofluorescência utiliza como reagente de deteção anticorpos conjugados a um corante fluorescente. O método pode detetar anticorpos específicos em fluidos corporais (imunofluorescência indireta) ou antigénios (imunofluorescência direta). A sensibilidade e especificidade do teste da imunofluorescência indireta (IFA) é semelhante às do ELISA (Picardeau et al. 2014).

Ressalta-se que os métodos de imunofluorescência para a deteção de leptospiras (imunofluorescência direta) apresentam limitações que, embora menos graves, são semelhantes às que afetam outros métodos microscópicos de deteção, ao requererem uma concentração adequada do organismo (Abdussalam et al. 1972).

Todos os diagnósticos baseados em métodos de imunofluorescência devem ser confirmados, sempre que possível, por métodos culturais e sorológicos (Abdussalam et al. 1972).

2.6.2.4 Testes rápidos

Devido à necessidade de um teste de diagnóstico no local de atendimento rápido e fiável que reduza o tempo de espera do diagnóstico e seja mais sensível durante as fases iniciais da doença clínica, diversos testes rápidos com capacidade para detetar IgM e/ou IgG têm sido desenvolvidos e avaliados com o objetivo de serem utilizados como meio de diagnóstico da leptospirose visto que se apresentam como uma solução rápida e fácil de utilizar e permitem obter um resultado durante a consulta (Lizer et al. 2018).

Na prática clínica o teste rápido de ELISA mais utilizado é o SNAP Lepto que deteta anticorpos contra a proteína LipL32, que tem o potencial de se ligar às classes de anticorpos IgM e IgG, embora a sua afinidade ser predominantemente por IgG, pelo que a janela de utilização ótima deste teste é duas a três semanas depois do início da infeção (Lizer et al. 2018).

Um dos testes rápidos por imunocromatografia mais utilizados é o Witness Lepto, que utiliza extratos de *Leptospira* spp. como antigénios de forma a detetar a presença de IgM produzidas em resposta à infeção em soros caninos (Lizer et al. 2018).

Segundo um estudo realizado por Lizer et al. (2018) que teve como objetivo comparar o potencial diagnóstico de WITNESS Lepto, MAT e SNAP Lepto para a deteção precoce da doença, o teste de imunocromatografia foi o que apresentou um melhor desempenho na deteção da doença ao sétimo dia após infeção. Isto explica-se pelo facto do desenvolvimento de IgM ocorrer a partir da primeira semana após infeção, enquanto o desenvolvimento de IgG, imunoglobulina detetada nos testes rápidos de ELISA, ocorre nas semanas seguintes (Lizer et al. 2018).

2.7 Tratamento

O tratamento da leptospirose em cães e humanos inclui terapêutica antimicrobiana eficaz em conjunto com uma terapia de suporte adequada para o cuidado dos diferentes órgãos afetados (Schuller et al. 2015; Sykes et al. 2023).

Dependendo da gravidade da disfunção orgânica, a terapêutica de suporte varia desde a gestão adequada da dor, fluidos, eletrólitos e oxigenoterapia, até uma substituição funcional complexa, como as terapias de substituição renal (TRS) ou de ventilação mecânica (Schuller et al. 2015; Sykes et al. 2023).

2.7.1 Antibioterapia

A antibioterapia deve ser implementada o mais rapidamente possível após a suspeita de doença, mesmo que ainda não se obtenha os resultados dos diferentes meios de diagnóstico, pois os antibióticos inibem a multiplicação das bactérias, diminuindo a probabilidade do doente desenvolver complicações derivadas da infeção, como insuficiência hepática ou renal (Greene et al. 2012).

O tratamento ideal para a leptospirose é desconhecido, no entanto, as penicilinas ou a doxiciclina têm sido tradicionalmente os antimicrobianos de eleição para o tratamento de seres humanos e cães com leptospirose

Em caninos com sintomatologia gastrointestinal que apresentam pouca

tolerância aos antimicrobianos orais recomenda-se iniciar o tratamento com um derivado da penicilina (penicilina G, ampicilina ou amoxicilina) por via intravenosa, para eliminar a bacteriemia até a doxiciclina poder ser usada, pelo que se usa 20-30 mg/kg de ampicilina ou amoxicilina a cada 6-8 horas ou penicilina G na dose de 25.000 – 40.000 U/kg IV a cada 12h. Posteriormente, faz-se uso da administração oral de doxiciclina na dose de 5 mg/kg de 12 em 12 horas ou 10 mg/kg de 24 em 24 horas durante 2 semanas para evitar a persistência da bactéria nos rins. É fundamental que sejam cumpridos os 14 dias de antibioterapia, para eliminar a excreção renal de leptospiras, tendo em atenção que nos cães com diminuição da função renal deve-se ajustar a dose (Sykes et al. 2011; Schuller et al. 2015; Sykes et al. 2023).

Durante o tratamento com doxiciclina existem possíveis efeitos secundários, como vômitos e irritação esofágica (Andrade-Silveira et al. 2024).

O uso de fluoroquinolonas tem sido controverso. A eficácia semelhante à doxiciclina em hamsters requer doses de 25mg/kg/d. Num estudo que utilizou PCR quantitativo para deteção de leptospiras, a ofloxacina não foi capaz de eliminar as leptospiras dos rins e do sangue de um modelo de hamster, por sua vez a ampicilina não eliminou as bactérias do rim, mas a doxiciclina eliminou os organismos de todos os locais no prazo de 3 dias após a infeção. Por outro lado, as cefalosporinas de primeira geração parecem menos eficazes e as leptospiras são resistentes ao cloranfenicol (Sykes et al. 2011). Também há registo de resistência à sulfonamida, neomicina, actidiona, polimixina, vancomicina e rifampicina (Andrade-Silveira et al. 2024).

Em relação aos aminoglicosídeos, estes demonstraram uma grande eficácia na eliminação das leptospiras dos túbulos renais, mas tratando-se de fármacos nefrotóxicos devem ser evitados em animais cujos resultados de função renal não estejam normais (Greene et al. 2012).

Na leptospirose humana também são eficazes a ceftriaxona, a cefotaxima e a azitromicina (Maganhin Luquetti et al. 2024).

Para adultos com exposição de curta duração e alto risco de leptospirose, a doxiciclina proporciona uma profilaxia eficaz. Em geral, a profilaxia com antibióticos para familiares com cães infetados não é recomendada, mas pode ser considerada após consulta com um especialista em doenças infecciosas. As mulheres gestantes correm o risco de aborto após a exposição às leptospiras e são as principais candidatas à terapia antibiótica profilática (Brown and Prescott 2008).

2.7.2 Tratamento desuporte

O tratamento de suporte vai depender do estado geral de saúde do animal assim como da gravidade da doença e das consequências da mesma, como comprometimento renal, hepático ou gastrointestinal (Greene et al. 2012).

Nos casos mais graves pode ocorrer desidratação ou choque, sendo por isso importante iniciar-se um protocolo de fluidoterapia de modo a restabelecer o equilíbrio de fluídos, eletrólitos e ácido-base. Para isto é fundamental a colocação de um cateter venoso para administração de grande volume de fluídos e a monitorização da pressão arterial central (Greene et al. 2012; Schuller et al. 2015). A reposição da volémia é conseguida através da fluidoterapia com cristalóides, sendo esta calculada tendo em conta o peso vivo do animal e as perdas de fluídos e eletrólitos através do vômito e diarreia. O protocolo de fluidoterapia deve ser sempre adaptado à produção de urina do animal e é de extrema importância ser sempre acompanhado da monitorização da frequência respiratória, ruídos pulmonares e pressão arterial, devido à possível hiperhidratação iatrogénica que acarreta maiores complicações a nível pulmonar, gastrointestinal e renal. Cães com oligúria ou anúria requerem uma maior atenção neste aspeto (Sykes 2014; Schuller et al. 2015).

Nos animais com oligúria ou anúria persistente mesmo após a fluidoterapia, recomenda-se o uso de diuréticos osmóticos, como a glucose a 10-20% (5ml/kg) ou o manitol a 20% (0,5g/kg). Para além destes diuréticos, podem ainda ser usados a dopamina (2,5 a 5 µg/kg/min) e/ou a furosemida (2-4 mg/kg), de modo a aumentar a taxa de produção urinária (Greene et al. 2012).

Nos casos de cães doentes que não respondem à terapêutica mencionada devem ser submetidos a hemodiálise, sendo esta recomendada nas seguintes situações: nos com débito urinário inadequado que desenvolvem sobrecarga de volume; nos com hipercalemia, nos que apresentem concentrações de ureia superiores a 80 mg/dl e nos que apresentam sinais de uremia que não respondem ao tratamento médico. A recuperação da função renal adequada ocorre, geralmente, 2–4 semanas após o início da diálise, sendo, algumas vezes, apenas necessários 1 a 3 tratamentos até instituição da poliúria e início da recuperação (Sykes et al., 2011).

A terapia de substituição renal com hemodiálise pode salvar a vida de muitos cães com leptospirose anúrica grave, sendo que mais de 80% dos doentes que, de outra forma, morreriam devido às consequências da uremia grave sobrevivem com terapia de substituição renal (Sykes et al., 2011). No entanto, é importante referir que a hemodiálise tem como função restabelecer o equilíbrio de fluídos, eletrólitos e ácido-base, não tendo por isso um papel direto no restauro da função renal (Schuller et al. 2015).

No entanto, na Medicina Veterinária a disponibilidade de centros que realizem a hemodiálise é ainda diminuta o que justifica a sua pouca utilização, e ainda a questão dos custos associados que nem todos os titulares conseguem suportar.

Cães com leptospirose apresentam, frequentemente, vômitos e gastrites como consequência da azotemia, devendo nestes casos a alimentação oral ser descontinuada e fazer uso de antieméticos (como o maropitant, o ondansetron ou a metoclopramida) e protetores gástricos (como o omeprazol) por via parenteral. Por sua vez, nos cães que apresentem anorexia pode-se recorrer à colocação de um tubo de alimentação de forma a garantir suporte nutricional do animal (Greene et al. 2012; Schuller et al. 2015).

Os cães com Síndrome Pulmonar Hemorrágica Leptospiral podem necessitar de oxigenoterapia e, se esta for grave, de ventilação mecânica, sendo ainda desconhecido o tratamento ideal para cães com LPHS (Sykes 2014; Sykes et al., 2011). Estudos de doentes humanos com LPHS mostraram melhorias nos doentes após terapia com ciclofosfamida e transfusão de plasma, no entanto, ainda não foi determinado se os cães com LPHS também beneficiariam do tratamento com ciclofosfamida. Tanto em seres humanos como em cães com LPHS, o tratamento com dexametasona e desmopressina não revelou melhores resultados (Sykes et al., 2011). Em pessoas o tratamento com metilprednisolona revelou uma diminuição drástica da mortalidade, pelo que a terapia imunossupressora deve ser alvo de estudo futuro no tratamento da manifestação pulmonar da leptospirose em cães (Greene et al. 2012).

Animais infetados podem ainda sofrer alterações hemorrágicas, sendo a presença de petéquias e equimoses sugestiva de trombocitopénia por vasculite ou coagulação intravascular disseminada. Nestes casos deve ser considerado o tratamento anticoagulante com ou sem reposição de fatores de coagulação, bem como a transfusão de plasma ou de sangue fresco (Greene et al. 2012; Schuller et al. 2015).

Para além disto também é importante o maneio da dor, tendo em conta a existente a nível renal, gastrointestinal, muscular e articular, que pode ser feito com recurso a opióides (Schuller et al. 2015).

2.8 Monitorização

Devido à monitorização intensa e internamento em isolamento que estes casos exigem, é recomendado a referenciação dos casos de animais infetados com *Leptospira* spp para um Centro de Atendimento Médico-Veterinário (CAMV) com cuidados de 24h (Sykes 2014; Sykes et al. 2011).

Os cães com leptospirose aguda devem realizar painéis bioquímicos, a cada 24 horas, durante o internamento para monitorizar a função renal, as enzimas hepáticas,

as concentrações de proteínas séricas e o estado eletrolítico e ácido-base. Uma monitorização mais frequente pode estar indicada para cães com distúrbios eletrolíticos e ácido-base acentuados. O hematócrito deve ser avaliado a cada 24 horas e o hemograma realizado a cada 48h de hospitalização. Inicialmente, o débito urinário deve ser monitorizado, pelo menos, de hora a hora, através da algáliação dos cães hospitalizados em sistema fechado. Devem também ser realizados exames físicos seriados com monitorização frequente do peso corporal, frequência respiratória, sons pulmonares e pressão arterial que estão indicados para avaliar sinais precoces de hiperhidratação que podem necessitar de terapia diurética ou hemodiálise (Sykes et al., 2011).

Embora o seguimento varie de cão para cão, os cães devem ser reexaminados no máximo uma semana após a alta hospitalar, devendo ser realizado um painel de análises bioquímicas, bem como um hemograma e medição da densidade urinária (Sykes et al., 2011).

A recuperação da função renal pode exigir vários meses após a estabilização do animal e não requer hospitalização desde que os cães se mantenham adequadamente hidratados e com o devido suporte nutricional. Uma percentagem dos infetados que sobrevivem à fase aguda da doença, podem sofrer danos no parênquima renal e virem a desenvolver doença renal crónica mais de um ano após a hospitalização (Schuller et al. 2015). Nestes casos de doença renal crónica, os animais devem ser estadiados de acordo com o sistema de classificação desenvolvido pela International Renal Interest Society (IRIS) (IRIS 2019).

O tratamento bem sucedido está associado à normalização da contagem das plaquetas, da atividade das enzimas hepáticas bem como ao retorno gradual das concentrações séricas de ureia e creatinina aos intervalos de referência dentro de 10 a 14 dias, embora a regeneração do tecido renal danificado possa continuar por mais de 4 semanas após o tratamento da infeção (Sykes et al., 2011). Por outro lado, a icterícia pode demorar mais tempo a resolver-se, assim como a capacidade de concentrar a urina que pode estar alterada durante, pelo menos, 1 mês (Sykes 2014).

Posto isto é recomendado que, as consultas de reavaliação, sejam realizadas a cada uma ou três semanas até estabilização clínica do animal, de forma a realizar a medição da pressão arterial, análises bioquímicas, hemograma e ainda urianálise (Schuller et al. 2015).

2.9 Prognóstico

Desde que não hajam complicações respiratórias graves, o prognóstico para os

cães tratados precoce e agressivamente no decurso da leptospirose com medicamentos antimicrobianos apropriados e fluidos intravenosos é bom, especialmente quando está disponível hemodiálise. Foram relatadas taxas de sobrevivência de aproximadamente 80%, tanto entre os cães tratados de forma conservadora como nos tratados com hemodiálise, embora praticamente todos os dependentes da hemodiálise e que não a recebem morram.

O prognóstico para os cães que desenvolvem complicações respiratórias graves é pior, sendo que uma elevada prevalência de complicações respiratórias contribuiu para maiores taxas de mortalidade (Sykes et al., 2011). Segundo um estudo de Schuller et al. (2015) casos de cães com Síndrome de Hemorragia Pulmonar Leptospiral tiveram uma taxa de mortalidade superior a 70%.

Um estudo realizado por Tansakul et al. (2024) relatou uma taxa de mortalidade relacionada com a leptospirose de 36,4%, segundo o qual os fatores que contribuem para um pior prognóstico e um maior risco de mortalidade podem incluir a virulência do agente infeccioso, a extensão dos danos nos órgãos no momento do diagnóstico, os atrasos no início do tratamento e fatores individuais do doente, como a idade e o estado imunológico. Segundo este mesmo estudo, os fatores com maior peso associados a um menor tempo de sobrevivência foram a azotemia e a relação neutrófilos-linfócitos (Tansakul et al., 2024).

2.10 Controle e Prevenção

2.10.1 Vacinação

A vacinação contra a leptospirose apresenta-se como uma medida profilática excelente, visto permitir a diminuição da prevalência da infecção, assim como a diminuição das consequências da mesma.

A vacinação diminui a gravidade da doença renal e a transmissão humana, enquanto o não cumprimento da imunização facilita a propagação da doença (Andrade-Silveira et al., 2024).

Inicialmente as primeiras vacinas a serem introduzidas no mercado eram bivalentes, contendo os serogrupos Icterohaemorrhagiae e Canicola (Sykes 2014), no entanto, globalmente, existem atualmente vacinas monovalentes, bivalentes, trivalentes e quadrivalentes para proteger os cães contra a leptospirose, sendo as quadrivalentes as que proporcionam uma proteção mais ampla (Squires et al., 2024).

Segundo a World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) em países ou regiões onde a leptospirose canina é endêmica, onde os serogrupos implicados são

conhecidos e onde há vacinas adequadas disponíveis, a vacinação de todos os cães contra a leptospirose é, altamente, recomendada e estas vacinas devem ser consideradas essenciais nesses locais. Em cachorros a primeira dose é geralmente a partir das 8 semanas de idade, devendo seguir-se as recomendações da bula do produto sobre quando começar. Uma segunda dose é administrada 2 a 4 semanas depois. Em cães jovens ou adultos vacinados pela primeira vez recomenda-se a administração de duas doses de vacina com 2 a 4 semanas de intervalo. A vacinação contra a leptospirose deve ser repetida anualmente. Nos cães que foram previamente imunizados adequadamente, mas houve um longo intervalo de tempo desde a última vez que receberam a vacina, é recomendado reiniciar o programa vacinal, administrando duas doses, com 2 a 4 semanas de intervalo (Squires et al., 2024).

A duração da imunidade após infecção natural é desconhecida pelo que se recomenda a vacinação dos animais que recuperam da doença, pois podem ser expostos a um serovar diferente uma vez que estes animais continuarão em risco de exposição. No entanto, são necessários mais estudos para o conhecimento da duração da imunidade e proteção cruzada produzidas por uma infecção natural (Sykes 2014; Sykes et al. 2011; Schuller et al. 2015).

Embora a mortalidade seja reduzida, a leptospirose pode ainda desenvolver-se em cães vacinados com elevada exposição bacteriana. As vacinas contra as leptospiras podem prevenir a morbidade e mortalidade clínicas, mas não impedem a excreção renal, pois a vacinação nem sempre garante uma proteção completa contra os serovares, sendo que as vacinas são concebidas para prevenir doenças, mas não infecções (Andrade-Silveira et al., 2024).

No contexto de medicina de abrigo as vacinas contra a leptospirose, segundo a WSAVA, são consideradas vacinas não essenciais, sendo o seu uso justificado se o risco de exposição for elevado com base em casos documentados na comunidade local ou mesmo na população do abrigo (Squires et al., 2024).

Na medicina de abrigo a prática de vacinação e esterilização simultânea de cães e gatos presentes nos abrigos e em programas de captura e esterilização é frequente. Embora idealmente a vacinação deva ser separada de procedimentos como a esterilização, vários estudos demonstraram que a anestesia e a cirurgia não prejudicam, significativamente, as respostas dos anticorpos à vacinação (Squires et al., 2024).

Em relação aos seres humanos, até à data, as vacinas comerciais contra a leptospirose humana apenas estão disponíveis em alguns países como o Japão, China, Cuba e França. Estas vacinas são baseadas em bacterinas inativadas, contudo, apenas induzem proteção serovar específica e imunidade de curto prazo, necessitando assim de imunização com reforços regulares. Além disso, são observados efeitos secundários

graves após a imunização com estas vacinas (I. R. Azevedo et al., 2023).

2.10.2 Outros métodos de prevenção

Outros métodos de prevenção incluem a diminuição do acesso a potenciais fontes de infecção, tais como áreas pantanosas e águas paradas, e a minimização do contacto com animais selvagens através da utilização de vedações e controlo de roedores (Sykes et al., 2011).

Outra medida é a administração de doxiciclina durante duas semanas (5 mg/kg de doxiciclina a cada 12 horas, ou de 10 mg/kg a cada 24 horas) a cães que coabitem com outros infetados, de forma a prevenir a sua infecção, mesmo que não apresentem sintomatologia compatível com a doença. O tratamento de gatos que vivem na mesma casa não está aconselhado (Schuler et al. 2015).

A manutenção das condições de higiene nos canis e o isolamento dos animais infetados também ajuda na prevenção da infecção (Greene et al. 2012).

Para além disto, é fundamental a melhoria dos hábitos de higiene e proteção individual, destacando-se o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) como luvas, bata descartável, máscara e botas de borracha em indivíduos expostos a possíveis fontes de contágio e manter os ambientes limpos e secos, evitando acumulação de urina e outros resíduos que possam servir de fonte de contaminação. Para além disto também é importante iniciar a antibioterapia o mais rapidamente possível de forma a interromper a eliminação de bactérias e também colocar os cães infetados em isolamento e evitar a sua circulação (Schuller et al. 2015).

2.11 Centros de Recolha Oficial

A nível nacional, a gestão do bem-estar e controlo populacional de animais errantes é da competência dos Centros de Recolha Oficial (CRO), os quais se podem definir como “um qualquer alojamento oficial onde um animal é hospedado por um período determinado pela autoridade competente, nomeadamente os canis e os gatis municipais” (DL 260/2012 de 12 de dezembro).

Os Centros de Recolha Oficial, através do alojamento de animais errantes capturados, têm por objetivo sanitário a vigilância, controlo e prevenção de zoonoses, assim como a segurança das populações humanas através de diversas ações (DGV 2010).

2.12 Leptospirose em contexto de medicina de abrigo

A medicina de abrigo é um campo da Medicina Veterinária que visa principalmente apoiar a saúde e o bem-estar dos animais sem detentores, embora o campo seja amplo e possa também incluir aspetos de medicina animal individual, gestão populacional, gestão de abrigos, saúde pública e políticas públicas. Em 2014 a medicina de abrigo foi formalmente reconhecida como especialidade pelo American Board of Veterinary Practitioners (ABVP), após anos de crescimento rápido devido a uma variedade de fatores, incluindo o aumento da opinião pública para melhorar o bem-estar dos animais nos abrigos e o aumento da procura de Médicos Veterinários nos abrigos de animais (Powell et al., 2023).

A infeção por leptospirose entre os trabalhadores dos abrigos e as populações de animais acolhidos parece ser subnotificada. Vários abrigos de animais funcionam com apoio financeiro insuficiente e com falta de educação contra as doenças zoonóticas. Em comparação com a população em geral, os seres humanos e os animais em ambientes de abrigo têm maior probabilidade de serem expostos a doenças zoonóticas, incluindo a leptospirose (Alashraf et al., 2020).

As más práticas de higiene e a gestão da limpeza das jaulas/boxes levam muitas vezes à atração de roedores, que são presas de gatos e também de cães. Os acessórios pessoais inadequados e a autoproteção descuidada durante o trabalho diário nos canis podem expor as mucosas humanas ou a pele lesada às bactérias, sendo que a falta de higiene desempenha um papel grande na transmissão da doença nos abrigos de animais. A leptospirose pode também ser transmitida por animais assintomáticos infetados, mesmo com boa higiene e ausência de ratos, uma vez que estes animais estão em contacto direto com os seres humanos (Alashraf et al., 2020).

As populações de cães errantes e dos mantidos em abrigos são consideradas mais suscetíveis à infeção devido ao maior grau de exposição ambiental a agentes patogénicos, em consequência das condições ambientais dos abrigos, como a sobrelotação, os padrões de higiene deficientes e a higienização inadequada, para além da permanência prolongada de um grande número de cães mantidos numa área relativamente pequena que facilita a transmissão da leptospirose entre animais (Miotto et al., 2018; Moraes et al., 2020).

Num ambiente de abrigo, os excretos urinários assintomáticos têm o potencial de infetar outros animais, bem como trabalhadores e adotantes. Os trabalhadores do abrigo estão diariamente expostos ocupacionalmente à urina de cães e gatos, uma vez que são os responsáveis pelos cuidados básicos destes animais (Spangler et al., 2020).

Tem sido descrita uma elevada seroprevalência nas populações de cães em abrigos em todo o mundo, que é uma situação que pode surgir como um problema de saúde pública (Miotto et al., 2018).

Devido à implementação de uma lei (Lei n.º 27/2016, de 23 de agosto) que proibiu a eutanásia de cães errantes capturados por organismos de controlo de animais, estabelecendo a esterilização e a adoção como as principais estratégias legais para o controlo de populações errantes e abrigadas, tal pode levar ao aparecimento de vários abrigos sobrelotados, muitas vezes caracterizados por más condições sanitárias e elevados níveis de infestação de roedores. Muitos destes abrigos apresentam deficiências estruturais e financiamento limitado, os protocolos sanitários de admissão ou adoção não são frequentemente implementados. Tais condições podem representar maiores probabilidades de transmissão de leptospirose entre cães alojados em abrigos e riscos ocupacionais para os trabalhadores e cuidadores de canis, aumentando potencialmente as probabilidades de adoção de animais cronicamente infetados, o que poderá contribuir para a transmissão de cão para pessoa, aproximando os portadores assintomáticos dos adotantes e das suas famílias (Miotto et al. 2018).

Um estudo sobre a leptospirose canina na Austrália, focado em cães de abrigos de animais, revelou uma seroprevalência de 1,9% (n=956) (Zwijnenberg et al., 2008), e outro estudo realizado com os de um abrigo da cidade de Barbacena, Sudeste do Brasil, revelou uma seroprevalência de 13,44% (n=172) (Moraes et al., 2020). Num outro estudo, oito canídeos testaram positivo para leptospirose entre 92 canídeos (8,6%) de abrigos caninos no México através de um método serológico (Anabel et al., 2013). Segundo Oliveira (2012), a leptospirose foi detetada em 20% das 65 amostras de urina de cães de abrigo testadas molecularmente, e ainda noutro estudo 13,1% dos 219 aparentemente saudáveis que foram testados tinham ADN de leptospira na urina, indicando o estado de eliminação destes animais (Spangler et al. 2020). Estes estudos indicam que os cães de abrigos podem desempenhar um papel importante na zoonose a nível de saúde pública, uma vez que os aparentemente saudáveis podem excretar leptospirose cronicamente na urina, contaminando o ambiente e, potencialmente, expondo outros animais e pessoas à infeção. A identificação de excretadores urinários é, por isso, importante na prevenção da propagação da leptospirose. A cultura de leptospirose a partir de amostras clínicas é extremamente difícil, mas as técnicas moleculares, como o qPCR, fornecem uma ferramenta alternativa útil para detetar a disseminação de leptospirose (Spangler et al. 2020).

2.13 Saúde pública

Face a todos as características da leptospirose até aqui descritas, percebemos que esta é uma doença que pode ter um forte impacto a nível da saúde pública.

A leptospirose é uma doença zoonótica e transmitida pela água em todo o mundo. É descrita pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma doença negligenciada e reemergente de importância global para a saúde pública no que diz respeito à morbidade e mortalidade tanto em pessoas como em animais. Devido à negligência, à urbanização rápida e não planeada e ao mau saneamento, a leptospirose surge como uma das principais causas de doença febril aguda em muitos dos países em desenvolvimento. Todo o indivíduo corre o risco de ser infetado, pois os animais domésticos e selvagens são portadores de leptospirosas, no entanto a população em risco varia entre profissionais de saúde, cuidadores de animais, agricultores e trabalhadores agrícolas, pescadores, caçadores de roedores, praticantes de desportos aquáticos, funcionários da força nacional de resposta a desastres, pessoas que fazem voluntariado em operações de resgate em áreas afetadas por inundações, trabalhadores sanitários, trabalhadores do esgoto, etc (Karpagam and Ganesh 2020).

Infecta mais de 1 milhão de pessoas e é responsável por cerca de 60.000 mortes por ano em todo o mundo, sendo que a carga real da leptospirose pode ser superior à estimada devido a várias razões: (i) os casos notificados são relativamente menores; (ii) teste no local de atendimento eficaz para diagnóstico, as terapêuticas e a prevenção de doenças não estão bem estabelecidas; (iii) a situação epidemiológica não está, aparentemente, bem determinada; e também (iv) saneamento deficiente e a rápida urbanização (Karpagam and Ganesh 2020).

Entre 2010 e 2021, foram notificados 713 casos de leptospirose em Portugal, dos quais 328 (46%) ocorreram nos Açores (Hospital da Luz n.d.). Em 2021, Portugal relatou 43 casos confirmados de leptospirose, sendo 11 (26%) nos Açores (Centre for Disease Prevention n.d.). Observou-se um aumento anual médio de 5% na taxa de notificação de leptospirose em Portugal durante o período de 2010 a 2021. A leptospirose é mais comum em homens, com uma razão de 4:1 em relação às mulheres, e afeta principalmente indivíduos entre 20 e 70 anos. A maioria dos casos ocorre entre julho e dezembro, com pico em agosto e setembro (Beauté et al. 2024). A região dos Açores apresenta uma incidência particularmente elevada, representando uma proporção significativa dos casos nacionais (Hospital da Luz n.d.).

A leptospirose é endémica principalmente em países com clima tropical ou subtropical húmido. Embora seja conhecida por ser prevalente nas regiões tropicais, agora, a leptospirose também é observada nas regiões temperadas devido a vários

fatores, como as alterações climáticas e a migração/habitação humana com saneamento, eliminação de resíduos e gestão não planeada ou deficiente (Karpagam and Ganesh 2020). As epidemias ocorrem frequentemente com inundações associadas a chuvas excessivas ou desastres naturais, como furacões, tufões ou terremotos (Guerra 2013).

Uma das consequências problemáticas e difíceis de erradicar da infeção por *Leptospira* spp. é o estado de portador renal, que pode durar muitos meses ou mesmo anos. Uma forma ligeira de leptospirose raramente leva à morte; no entanto, nas formas graves (diagnosticadas em 5–10% dos doentes), a mortalidade pode atingir os 5–40%. Outra preocupação é a formação de biofilmes pelas bactérias o que leva a que sobrevivam por mais tempo num nicho ambiental diferente (Karpagam and Ganesh 2020).

Os Médicos Veterinários têm um papel importante na sensibilização da população em relação a esta doença de forma a prevenir casos de infeção por *Leptospira* spp., aconselhando sempre que possível os seus clientes das várias formas de prevenção e controlo da doença.

Para além de ser uma doença que pode levar a graves danos na saúde dos animais e dos seres humanos, podendo mesmo ser fatal, tem ainda um impacto económico significativo, especialmente em países tropicais e subtropicais onde é mais prevalente. Este impacto económico é multifacetado, afetando diretamente a saúde pública, os sistemas de saúde e as atividades económicas, incluindo a agropecuária.

Permanecem muitos desafios para determinar a carga global e o impacto da leptospirose. Estes incluem a falta de sistemas de vigilância estabelecidos e de diagnósticos no local de atendimento, tanto a nível nacional como local, o que limita a capacidade de detetar casos e surtos.

A leptospirose exige uma abordagem integrada que combine prevenção, diagnóstico precoce, educação pública e investimentos em infraestrutura para mitigar as suas consequências, devendo praticar-se uma medicina baseada no conceito de One Health.

3 Estudo de caso do surto de leptospirose que ocorreu no Centro de Recolhas Oficial de Animais de Santarém

3.1 Antecedentes

Entre os meses de abril e julho do ano de 2024 ocorreu no Centro de Recolha Oficial de Animais de Santarém um surto de leptospirose nos canídeos residentes no CROAS.

Em meados de abril, três cães (com mais de 5 anos), começaram a demonstrar sinais clínicos, que foram comunicados à Médica Veterinária Municipal pelos tratadores, entre os quais prostração, icterícia, vômitos e diarreia com sangue. Estes três cães estavam alojados em boxes paralelas, estando mais do que um cão por boxe. Devido à falta de recursos do CRO não foi realizado nenhum exame complementar de diagnóstico nestes animais, tendo sido apenas avaliados pela Médica Veterinária e sido feito tratamento sintomático. Todos estes três cães faleceram num prazo de 2/3 dias.

No final do mês de abril de 2024, um funcionário do CRO começou a apresentar sintomatologia de febre, diarreia, cansaço, vômito com sangue, perda de apetite, machas roxas nos braços e dores musculares. Inicialmente os médicos suspeitaram de febre da carraça, doença provocada pela bactéria *Rickettsia conorii*, devido ao contacto diário do paciente com cães e gatos. Posteriormente suspeitaram de leptospirose. Iniciaram tratamento com doxiciclina ao qual o doente respondeu positivamente e testou positivo para a leptospirose. Esteve em coma durante 4 dias, tratando-se de um indivíduo do sexo masculino, com 62 anos, que era um dos tratadores dos cães, sendo responsável pela limpeza das boxes dos mesmos. Esteve internado durante cerca de 6 semanas e relata que depois de recuperado, teve ainda vários episódios de tonturas e dificuldades respiratórias, e apresenta dificuldades em movimentar o ombro esquerdo.

Neste intervalo de tempo, dos 3 funcionários restantes do CRO, um deles começou a exibir alguma sintomatologia. Tratava-se um indivíduo do sexo feminino, de 19 anos, que apresentou diarreia, cansaço e manchas roxas, sendo também um “tratador” dos cães do CRO. Posto isto, com a suspeita da Médica Veterinária Municipal, este funcionário foi a uma consulta de rotina na qual foi indicada a realização de análises para testar para a leptospirose, tendo sido positivo o resultado. Ambos os funcionários que testaram positivo voltaram a ser testados até o resultado da análise ser negativo.

A Médica Veterinária Municipal e o terceiro funcionário do CRO não tiveram sintomas e testaram negativo para a doença.

Com a recomendação do delegado de saúde para a testagem dos cães, no dia 6 de junho, a Médica Veterinária responsável, emitiu um pedido para se realizar a recolha de sangue dos canídeos presentes no CRO de modo a serem testados para a doença

e se avaliar a situação, tendo sido efetuada a recolha de sangue no dia 2 de julho pela equipa de uma clínica veterinária com a qual se efetuou um protocolo para a realização dos testes. Os resultados foram fornecidos ao CRO entre os dias 5 e 8 de julho.

A receção dos resultados mostrou que haviam vários cães positivos para a leptospirose e confirmou que o CROAS estava a confrontar-se com um surto da doença, ainda que a médica veterinária não esperasse tantos casos pois em muitos dos positivos não foram identificados sinais clínicos.

3.2 Objetivos do estudo

Este estudo incidiu sobre a população de cães presente no Centro de Recolha Oficial de Animais de Santarém (CROAS), tendo como objetivos analisar:

- As características da amostra quanto à idade, sexo e porte no momento do diagnóstico;
- As características da amostra quanto ao local e tipo de alojamento;
- As características da amostra quanto ao tempo de permanência no CRO;
- Identificar possíveis fatores de risco;
- Identificação das dificuldades na prevenção, controlo e tratamento da doença em contexto de medicina de abrigo;
- Relatar o impacto que a leptospirose pode ter a nível da saúde pública num contexto de medicina de abrigo.

3.3 Materiais e métodos

3.3.1 População em estudo

A população deste trabalho foi constituída pelos 77 cães que estavam presentes no CROAS na altura do surto de leptospirose, que ocorreu entre abril e julho de 2024.

3.3.2 Critérios de inclusão

Neste estudo foram incluídos todos os canídeos presentes no CRO durante este período de tempo testados para a leptospirose.

Para que no diagnóstico os cães fossem classificados como positivos ou negativos, foram realizados testes de imunofluorescência indireta para a pesquisa de anticorpos anti-leptospira IgG e/ou IgM (em amostras de soro sanguíneo), considerando-se um caso positivo quando se verificavam titulações no teste de IgM e/ou IgG superiores a 1:200.

3.3.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os cães que não foram testados para a doença. Foram dois cães adultos que não foram testados por questões de comportamento e contenção e uma ninhada de 6 cachorros. Estes também não foram testados pois não tiveram contacto com os adultos e estavam alojados no recobro das instalações do CRO, tendo estes cachorros seguido para adoção durante os meses de maio e junho.

3.3.4 Fontes de dados e análises estatísticas

Toda a informação foi cedida pela equipa do CROAS, sendo esta constituída pela Médica Veterinária Municipal e os funcionários do CRO na altura do surto.

Consultaram-se as fichas individuais dos cães na plataforma do CROAS na Plataforma de Gestão Integrada de Centro de Recolha Oficiais de Animais Errantes, sendo que os dados recolhidos incluem: o sexo, a idade, o porte, o local e tipo de alojamento dentro do CRO e a data de entrada dos cães nas instalações do mesmo.

A idade foi dividida em 2 categorias: cães adultos (2-7 anos) e cães seniores (≥ 8 anos), sendo que os cães jovens não tinham sido testados. É importante referir que um dos condicionalismos dos registos de dados dos abrigos é o desconhecimento frequente da idade exata dos animais, sendo esta estimada por avaliação da dentição canina pelo médico veterinário.

O porte dos cães foi dividido em 3 categorias: porte pequeno (5-10 kg), porte médio (10-25 kg) e porte grande (25-45 kg).

O tipo de alojamento foi dividido em 4 categorias: boxes interiores, boxes exteriores, pátio e cercados.

Em relação à data de entrada do animal no CROAS, está relacionada com o tempo de permanência do animal no mesmo, pelo que se dividiu em 3 categorias: cães que entraram há menos de 1 ano (< 1 ano); os que entraram entre 1 a 5 anos (1-5 anos) e os que entraram há mais de 5 anos (≥ 5 anos).

A análise dos dados foi realizada através de estatística descritiva e inferencial, utilizando-se o software R, versão 4.3.0 (R Core Team 2023) para Windows®.

Para verificar a existência de associações entre as variáveis em estudo foi aplicado o teste do Qui-Quadrado de Pearson, teste este que serve para testar se dois ou mais grupos independentes diferem relativamente a uma determinada característica, isto é, se a frequência com que os elementos da amostra se repartem pelas classes de uma variável qualitativa é ou não aleatória. Quando as frequências esperadas eram

inferiores a 5, foi realizado o teste exato de Fisher. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando o p-value obtido era inferior a 0,05 (intervalo de confiança utilizado foi de 95%). Utilizou-se um modelo de regressão logística para determinar os odds ratios.

Para a apresentação dos dados recorreu-se ao uso de tabelas com os dados estatísticos antecidos de análise.

4 Resultados

4.1 Descrição da população de cães presentes no CRO

A população residente no CROAS, entre os meses de abril e julho de 2024, era de 85 cães. Estes eram provenientes de diferentes regiões do concelho de Santarém, incluindo áreas urbanas e rurais. No CROAS, os cães eram alojados em grupos ou em boxes individuais, vacinados contra a raiva, esterilizados e todos eles tratados profilaticamente com desparasitantes.

Para o presente estudo excluem-se 8 dos 85 cães por não terem sido testados. Dos 77 cães testados, 22 (28,6%) testaram positivo para a leptospirose canina, e os restantes 55 (71,4%) testaram negativo.

4.1.1 Género

Em relação aos animais testados, 52 (67,5%) eram machos e 25 (32,5%) fêmeas, sendo que dos positivos à leptospirose, 18 (81,8%) eram machos e 4 (18,2%) eram fêmeas.

Todos os animais estavam esterilizados.

Na Tabela 1 revelam-se os resultados da distribuição dos casos de leptospirose, de acordo com o género dos animais.

Tabela 1 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com o género. N=77

Género	Leptospira positivo (n=22)	Leptospira negativo (n=55)
	N (%)	N (%)
Feminino	4 (18,2%)	21 (38,2%)
Masculino	18 (81,8%)	34 (61,8%)

Não se identificou associação estatística significativa, entre o género e a

ocorrência de leptospirose (Teste exato de Fisher: $p=0,111$).

4.1.2 Idade

Dos 22 cães positivos investigados, 18 (81,8%) eram adultos e 4 (18,2%) eram seniores. Na Tabela 2 reúnem-se os resultados da condição de leptospirose, de acordo com a idade dos cães.

Na Tabela 2 mostram-se os resultados da condição de leptospirose, de acordo com a idade dos cães.

Tabela 2 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com a idade. N=77

Idade	Leptospira positivo (n=22)	Leptospira negativo (n=55)
	N (%)	N (%)
Adultos (2-7 anos)	18 (81,8%)	39 (70,9%)
Seniores (≥ 8 anos)	4 (18,2%)	16 (29,1%)

Não se identificou-se uma associação estatística significativa entre a idade (Adultos vs. Seniores) e a ocorrência de leptospirose (Teste exato de Fisher: $p=0,399$).

4.1.3 Tempo de permanência dos cães no CRO

Dos cães com leptospirose, 13 residiam há menos de 1 ano no abrigo (59,1%), 5 entre 1 a 5 anos (22,7%) e 4 residiam há mais de 5 anos (18,2%) no CRO.

Na Tabela 3 reúnem-se os resultados da condição de leptospirose, de acordo com o tempo de permanência dos cães no CROAS

Tabela 3 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com o tempo de permanência no CROAS. N=77

Tempo de permanência	Leptospira positivo (n=22)	Leptospira negativo (n=55)
	N (%)	N (%)
(≤ 1 ano)	13 (59,1%)	20 (36,4)
(1-5 anos)	5 (22,7%)	19 (34,5%)
(≥ 5 anos)	4 (18,2%)	16 (29,1%)

Não foi evidenciada associação significativa entre o tempo de permanência e a infecção por *Leptospira* (Teste de Qui-quadrado de Pearson: $p=0,190$).

4.1.4 Porte

Relativamente aos 22 cães positivos, 4 eram de porte pequeno (18,2%), 17 de porte médio (77,3%) e 1 de porte grande (4,5%).

Na Tabela 4 indicam-se os valores da média, mediana, valores mínimo e máximo, e o desvio padrão do peso dos cães positivos.

Tabela 4 - Média, mediana, máximo, mínimo e desvio padrão do peso dos cães infetados. N=22

Medida estatística	Peso em Kg
Média	16,5
Mediana	17,5
Máximo	35
Mínimo	7,5
Desvio padrão	5,6

O peso médio dos cães positivos foi $16,5 \pm 5,6$ kg, com um mínimo de 7,5 kg e um máximo de 35,0 kg.

Na Tabela 5 reúnem-se os resultados da distribuição dos casos de leptospirose, de acordo com o porte dos cães.

Tabela 5 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo a leptospirose, de acordo com o porte. N=55

Porte	Leptospira positivo (n=22)	Leptospira negativo (n=55)
	N (%)	N (%)
Pequeno (5-10 kg)	4 (18,2%)	7 (12,7%)
Médio (10-25 kg)	17 (77,3%)	44 (80%)
Grande (25-45 kg)	1 (4,5%)	4 (7,3%)

Não foi evidenciada associação significativa entre o porte dos animais e positividade para *Leptospira* (Teste de Qui-quadrado de Pearson: $p=0,770$).

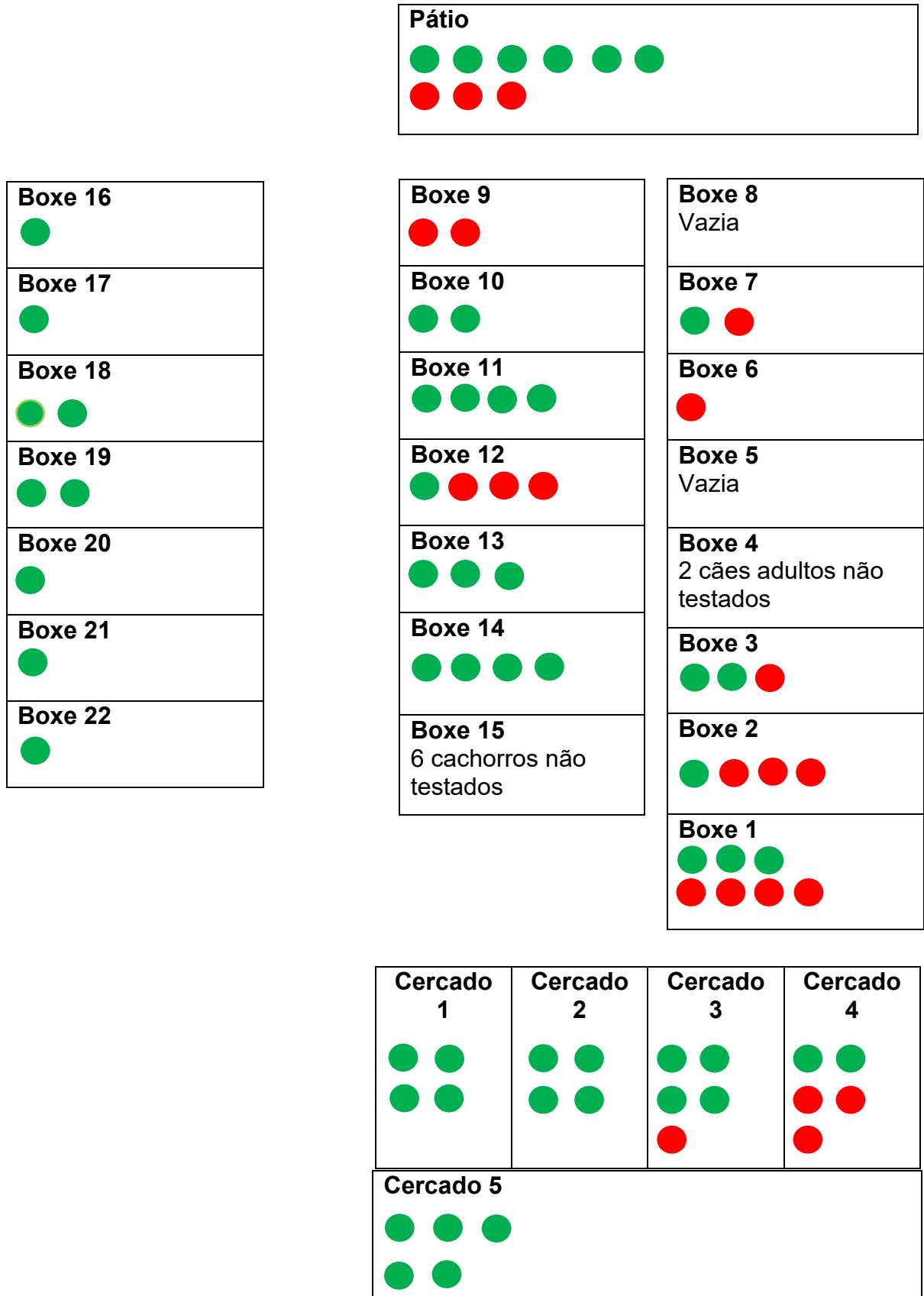
4.2 Instalações do CRO

O canil das instalações do CRO tem estruturas diferentes para o alojamento dos cães residentes no mesmo. Existem 15 boxes no interior das instalações, 7 boxes no exterior, um pátio nas traseiras das boxes e 5 cercados na parte da frente das instalações.

À data do estudo as instalações do abrigo apresentavam as seguintes características estruturais: telhas partidas, fugas de água, acumulação generalizada de detritos e falta de drenagem adequada das chuvas ou recolha de resíduos orgânicos e esgotos. O controlo de roedores era realizado esporadicamente e estavam presentes sinais da sua presença, como materiais mordidos e fezes dentro das boxes, e os funcionários relataram vários avistamentos durante o dia e também presença de roedores mortos pelos cães nas boxes.

De forma a se perceber o tipo e o local de alojamento dos cães positivos e negativos à leptospirose foi elaborada uma representação com tabelas das instalações do CROAS.

Figura 3 - Representação das instalações do CROAS, onde estão representados os animais positivos (círculos vermelhos) e negativos (círculos verdes) consoante o local e tipo de alojamento onde se encontravam.



Dos 22 cães que testaram positivo, 15 deles estavam alojados nas boxes interiores (68,2%), 3 no pátio (13,6%) e 4 nos cercados (18,2%).

Na Tabela 6 reúnem-se os resultados da distribuição dos casos de leptospirose, de acordo com o local de alojamento dos cães nas instalações do CRO.

Tabela 6 - Distribuição dos cães, com diagnóstico positivo e negativo de leptospirose, de acordo com o local de alojamento. N=77

Tipo de alojamento	Leptospira positivo (n=22)	Leptospira negativo (n=55)
	N (%)	N (%)
Boxes interiores	15 (68,2%)	21 (38,2%)
Boxes exteriores	0 (0%)	9 (16,4%)
Pátio	3 (13,6%)	6 (10,9%)
Cercados	4 (18,2%)	19 (34,5%)

Existe uma associação estatisticamente significativa entre o tipo de alojamento dos cães e o status de *Leptospira* (Teste de Qui-quadrado: $p=0,043$).

No modelo de regressão logística calculou-se um odds ratio de 3,47 para os cães alojados em boxes interiores *versus* os alojados noutros tipos de alojamento (boxes exteriores, pátio e cercados), ou seja, cães alojados em boxes interiores apresentaram uma probabilidade de testar positivo 3,47 vezes maior, em comparação com os alojados em outros tipos de locais (figuras 4 a 7).

Figura 4 - Boxes interiores (fotografia original)

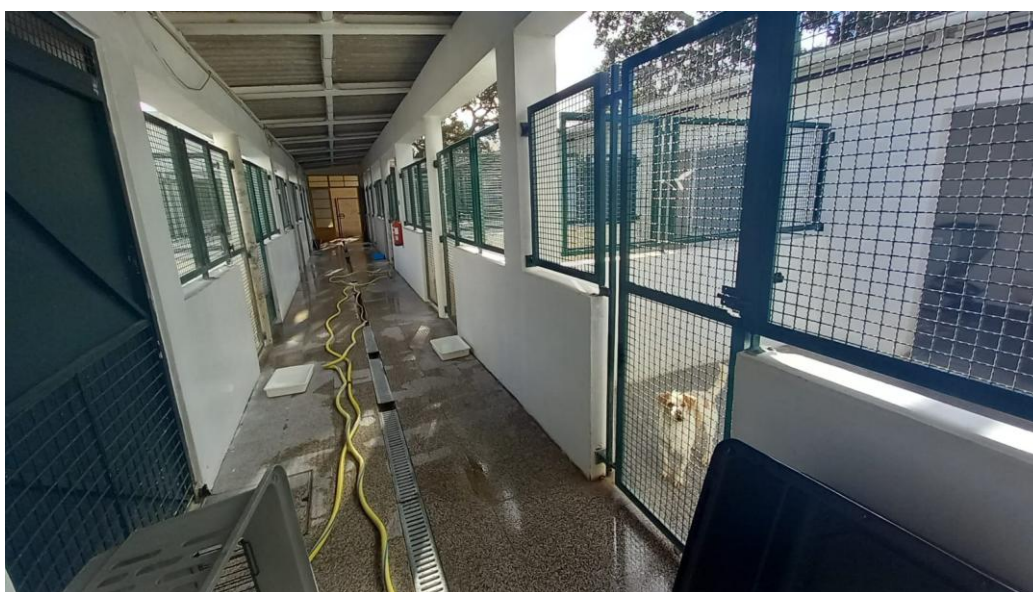


Figura 5 - Boxes exteriores (fotografia original)



Figura 6 - Pátio (fotografia original)



Figura 7 - Cercados (fotografia original)



4.3 Sinais clínicos

A frequência dos sinais clínicos, apresentados pelos cães infetados durante os meses de maio e junho está registada na Tabela 7. Estes sinais clínicos foram relatados pelos tratadores dos cães do canil e, posteriormente, registados pela Médica Veterinária responsável.

Dos 22 cães infetados, em 7 (31,8%) não foram identificados sinais clínicos.

Tabela 7 - Sinais clínicos apresentados pelos cães infetados. N=22

Sinais clínicos	N	%
Hematoquémia	9	40,9
Anorexia	1	4,5
Tosse	1	4,5
Muco nas fezes	9	40,9
Diarreia	3	13,6
Prostação	1	4,5
Melena	1	4,5

4.4 Vacinação

Os cães adultos que davam entrada no CRO até à altura do surto eram apenas vacinados contra a raiva. O CRO não tinha disponíveis vacinais polivalentes em número suficiente de forma a vacinar todos os que davam entrada, pelo que era dada prioridade a cachorros e jovens com idade estimada pela Médica Veterinária responsável de até 1 ano, para receberem estas vacinas, sendo o principal objetivo prevenir a infeção destes animais por parvovirose. Ainda que não saibamos o estatuto vacinal correto dos cães, pois não temos acesso à história do animal até ter dado entrada no CROAS, partimos do princípio que todos os adultos não estavam imunizados contra a leptospirose, até porque a maioria dos que são levados para o abrigo são animais errantes, e outros foram negligenciados pelos seus detentores pelo que é improvável que estes tenham sido vacinados contra a leptospirose e tenham a vacinação em dia. Além disto, a duração máxima da imunidade vacinal é de 1 ano.

Todos os canídeos que testaram negativo foram vacinados, com uma vacina polivalente que previne a leptospirose, no mesmo dia que se soube o resultado, ou seja, entre os dias 5 e 8 de julho. Os canídeos que testaram positivo foram, posteriormente, vacinados após acabarem a antibioterapia.

4.5 Tratamento

Todos os cães que testaram positivo no teste, quer a IgG e/ou IgM, fizeram tratamento com doxiciclina durante 15 dias. Apesar dos resultados terem sido recebidos entre os dias 5 e 8 de julho, nesta altura o CRO não tinha disponível para utilização imediata o antibiótico em quantidade suficiente para todos os canídeos, pelo que apenas no dia 12 de julho se iniciaram os tratamentos, tendo terminado a antibioterapia no dia 26 de julho, dia que completaram 15 dias da toma do antimicrobiano.

No entanto, houve um cão que iniciou tratamento antes de se saberem os resultados do teste devido a apresentar bastantes sinais clínicos.

4.6 Doenças concomitantes

Para os 77 cães testados para a leptospirose, realizaram-se também testes rápidos para leishmaniose e exames a fresco para pesquisa de microfilárias em amostras de sangue.

Dos 22 cães que testaram positivo para leptospirose, apenas 1 (4,5%) apresentava uma comorbilidade, a dirofilariose.

Dos 55 cães que testaram negativo, 5 (9,1%) testaram positivos para dirofilariose.

4.7 Desfecho clínico

Relativamente ao desfecho clínico dos 22 cães infetados, apenas 1 (4,5%) morreu, tratando-se do mesmo animal que tinha dado positivo no exame a fresco para dirofilariose.

É importante referir que antes de serem realizados os testes, morreram 3 cães cuja suspeita da causa de morte recaí sobre a leptospirose, ainda que não tenha havido confirmação laboratorial da doença.

4.8 Gatos presentes no CRO

Nas instalações do CROAS existe também um gatil separado do canil, constituído por uma sala interior e por um parque vedado exterior, apesar do parque dos gatos estar separado do pátio dos cães apenas por uma rede (figura 8). Por esta rede pode ocorrer passagem de roedores para o gatil, no entanto, nunca foram avistados ratos em qualquer parte do gatil.

Dos gatos presentes no gatil no período de tempo de abril a julho, não foram identificados animais com sinais clínicos.

Figura 8 - Vista exterior do gatil (fotografia original)



4.9 Prevenção

Após o primeiro funcionário do CROAS ter testado positivo para a leptospirose, a Médica Veterinária responsável instituiu algumas medidas para tentar controlar a doença no CRO, ainda que nesta altura não houvesse a confirmação que os cães estivessem infetados mas tinham-se fortes suspeitas devido aos dois tratadores terem testado positivo.

O único tratador que estava de serviço nesta altura passou a usar luvas e máscara na limpeza das boxes e na manipulação dos cães, assim como botas e vestuário apropriado.

Recorreu-se à instalação de pedilúvios à entrada das boxes interiores e na entrada do gatil.

5 Discussão

5.1 Fatores de risco

No presente estudo, o género não foi um fator de risco de ocorrência de leptospirose, apesar do número de machos infetados (81,8%) ter sido superior ao de fêmeas (18,2%). Isto pode ser explicado pelo facto da nossa população de cães em estudo ser constituída maioritariamente por machos (67,5%).

A idade e o porte também não foram identificados como fatores de risco, mas é necessário considerar que a idade da grande maioria dos animais é apenas uma estimativa. Embora a leptospirose possa afetar cães de qualquer idade, os cães adultos jovens (1 a 4 anos) e os cães mais velhos (12 anos ou mais) apresentam frequentemente um maior risco de infeção. Os cachorros podem também apresentar sintomas mais graves se infetados.

O local de alojamento relevou-se um fator de risco, com os cães alojados nas boxes interiores a revelarem um maior número de casos de leptospirose. Os presentes no pátio apresentaram uma probabilidade de 0.7 (valor calculado pelo modelo de regressão logística) vezes menor de contrair leptospirose do que os alojados nas boxes interiores. Por sua vez, os cães que viviam nos cercados apresentaram uma probabilidade de 0.29 (modelo de regressão logística) vezes menor de contrair leptospirose do que os alojados nas boxes interiores. Isto pode dever-se ao facto das boxes interiores serem o local de alojamento mais antigo das instalações do CROAS e terem um acesso aberto que permitia a entrada de ratos infetados e de água contaminada com leptospiras, o que representa um elevado risco de exposição. Além disso, o acesso destes animais a uma área comum no abrigo poderá contribuir para aumentar a hipótese de transmissão entre cães e o facto das boxes interiores terem um regime alimentar *ad libitum* contribui para a existência de roedores nesta área.

Além disso, foram encontrados ratos a circular livremente no canil e as suas fezes foram observadas pelo chão, ou seja, nos canis, gaiolas de isolamento e zonas de preparação de alimentos. A presença de roedores soltos pode expor os cães do abrigo a um maior risco de infeção, uma vez que os ratos deste abrigo poderão ser a fonte da leptospirose, eliminando o organismo através da urina e contaminando o ambiente (figuras 9 e 10).

O facto da localização geográfica do CROAS ser ao lado de uma estação de tratamento de resíduos e as condições das instalações do abrigo, como as telhas partidas, fugas de água e acumulação generalizada de resíduos, são também fatores que aumentam a proliferação de roedores nas instalações. A maioria das condições estruturais inadequadas foi, devidamente, corrigida pela administração do abrigo após

os meses do surto.

Nas traseiras do CROAS está situada uma associação zoófila que aloja mais cães do que o CRO onde em janeiro de 2024 ocorreu também, pelo menos, um caso de leptospirose num cão. A vantagem desta associação em relação ao CROAS consiste nas instalações desta estarem separadas da estação de tratamento de resíduos por paredes enquanto que as instalações do CROAS terem apenas rede de separação que permite a passagem de roedores.

Os possíveis hospedeiros de leptospiras deste estudo podem ser os cães e/ou os ratos que desempenham um papel como hospedeiros acidentais ou como hospedeiros de manutenção. Neste estudo, os hospedeiros acidentais foram os cães do canil e os seres humanos, enquanto que os de manutenção poderão ter sido os cães e/ou os ratos. Os hospedeiros acidentais desenvolverão leptospirose clínica, enquanto os hospedeiros de manutenção servirão como fontes de infeção para a doença. A leptospirose é endémica e os hospedeiros de manutenção, como os ratos, albergam leptospiras nos rins sem apresentarem sintomas clínicos. Assim sendo, a infeção pode ocorrer através do contacto direto com animais infetados ou com a sua urina, à medida que estes libertam leptospiras para o ambiente através da urina. No entanto, pode ainda existir a possibilidade de os cães deste abrigo terem sido os hospedeiros de manutenção uma vez que alguns dos animais detetados com anticorpos anti-leptospira pareciam clinicamente saudáveis. Para mais investigação seriam necessárias recolhas de amostras de urina e submissão a teste PCR para deteção da bactéria, de forma a se confirmar o estado de portador e, conseqüentemente, poder-se-ia determinar o papel do cão na transmissão da doença. As amostras dos ratos também deveriam ser obtidas para o mesmo fim (M. I. N. Di Azevedo et al., 2023; Khor et al., 2016).

Foram relatadas, pela Médica Veterinária Municipal, práticas de higiene inadequadas, como desinfeção inadequada das mãos após o manuseamento dos animais ou da sua alimentação, sendo também fatores de risco para a transmissão e contração da doença.

Como não foram implementados protocolos de vacinação contra a leptospirose à admissão ou durante a permanência dos animais no CRO, não conseguimos identificar se a vacinação é ou não um fator de proteção para a leptospirose nos cães deste abrigo, pois não tínhamos um grupo devidamente vacinados de forma a tentarmos identificar uma associação estatística.

Além disto, não sabemos se nos cães infetados existiriam ou não outras doenças concomitantes que tivessem atuado como fator de risco para a infeção por leptospirose, pois ao darem entrada nas instalações do CROAS apenas é avaliado o estado de saúde geral dos animais, sendo que não são realizados exames complementares de

diagnóstico de forma a investigar com mais precisão o seu verdadeiro estado de saúde.

Figura 9 - Presença de ratos nas boxes interiores (círculo vermelho) (fotografia original)



Figura 10 - Presença de ratos nas boxes interiores (círculo vermelho) (fotografia original)



5.2 Controlo e prevenção

É muito importante existirem boas práticas de trabalho de modo a se prevenir a ocorrência desta doença bem como de outras doenças de carácter zoonótico que possam surgir num CRO. Estas boas práticas incluem o uso de equipamentos de proteção individual, sobretudo, por parte dos tratadores dos animais dos CRO devido a

estes serem quem tem mais proximidade com os animais. No entanto, na prática nem sempre é fácil o cumprimento destas normas, quer seja pela falta de conhecimento dos tratadores pois não têm nenhuma formação na área, pela falta de supervisão devido à falta de pessoal, pela grande carga de trabalho no dia a dia devido à sobrelotação dos CRO e até pela falta de motivação no trabalho.

Seria importante uma mudança das equipas dos CRO a nível nacional de forma a que todos os funcionários tivessem uma formação na área, quer sejam cursos de auxiliar de veterinária ou até mesmo cursos de treinadores de cães com o objetivo de aumentar a sensibilidade dos trabalhadores para o bem-estar animal. Desta forma o funcionamento dos CRO seria assegurado pela existência de pessoal com formação adequada, estando mais atentos a mudanças de comportamento por parte dos animais e conseguiriam identificar sinais clínicos mais facilmente o que muitas vezes seria útil na deteção mais precoce de doenças e facilitaria a comunicação dentro da equipa.

Além disto, assim que se suspeitou da existência de leptospirose no CROAS, os cães que apresentavam algum sinal clínico deveriam ter sido colocados em isolamento de forma a se tentar controlar a doença diminuindo o contacto de cães suspeitos de estarem infetados com cães não suspeitos. No entanto, devido à sobrelotação e à falta de um espaço destinado ao isolamento de cães suspeitos de doenças infectocontagiosas, não se realizou a separação dos com sinais clínicos, estando alguns destes alojados em boxes ou cercados juntamente com outros, o que contribuiu para a propagação da doença.

5.3 Diagnóstico

Neste estudo foram utilizados testes de imunofluorescência indireta para detetar anticorpos IgG e IgM, apesar de o teste recomendado para o diagnóstico de leptospirose ser o MAT (Greene et al. 2012; Sykes et al., 2011). Com o MAT demora-se mais tempo para se obterem os resultados comparativamente com a serologia IgG e IgM e é mais caro, o que é uma desvantagem devido à contenção económica por parte do CROAS. Porém, o MAT tem a vantagem em relação ao PCR e à serologia IgG e IgM, de identificar o serogrupo, o que tem interesse em termos epidemiológicos, para saber se o serogrupo em causa está englobado nas vacinas disponíveis em Portugal (Schuller et al. 2015).

Houve 7 cães que testaram positivo apenas para IgG. No entanto, sendo o plano vacinal destes cães desconhecido consideramos improvável que os anticorpos detetados fossem de origem vacinal, e como o quadro clínico apresentado pela maioria era compatível com leptospirose, foram considerados positivos. Contudo, temos de ter em consideração que podem ter ocorrido resultados falsos positivos nos resultados dos

testes de imunofluorescência indireta, nos casos dos cães que deram positivo apenas para IgG, podendo estes anticorpos serem de origem vacinal.

Houve 1 cão que testou positivo apenas para IgM. Os anticorpos específicos da imunoglobulina M (IgM) são ideais para o diagnóstico de leptospirose aguda porque a sua presença indica infecção atual ou recente, e a IgM surge 4–6 dias após a infecção e permanece detetável apenas durante alguns meses (Lizer et al., 2018). Por outro lado, os títulos de IgG aumentam 2-3 semanas após a infecção, com um título máximo em, aproximadamente, um mês (Greene et al. 2012).

Posto isto, as IgM indicam infecção recente (primeira linha de defesa) e as IgG são indicativas de infecção passada ou imunidade adquirida (proteção a longo prazo), mas como os nossos cães não foram imunizados no canil contra a leptospirose consideramos que, quer os positivos a IgM e IgG ou apenas positivos a uma das imunoglobulinas, estavam infetados.

Teria sido interessante realizar outro tipo de teste para se perceber se existiriam ou não cães aparentemente saudáveis com leptospiúria que possam ter sido a causa do surto. Os animais dos CROs, antes de chegarem aos abrigos, podem ter sido expostos a roedores, outros reservatórios selvagens e água estagnada o que faz com que algum cão do CROAS possa ter dado entrada já infetado e, posteriormente ter transmitido a doença.

A leptospiúria, ou transporte renal de leptospiras, não está necessariamente associada à seropositividade. Os dados estatísticos de um estudo de Spangler et al. 2020, mostraram uma concordância razoável entre os resultados de qPCR e MAT, indicando uma baixa correlação. Embora não seja surpreendente, uma baixa correlação entre os resultados de qPCR e MAT implica que os testes serológicos não são adequados para a identificação de cães infetados assintomáticos, e estes canídeos leptospirúricos, mas negativos para MAT, possivelmente representam um risco maior para a saúde animal e pública, uma vez que são menos suscetíveis de serem detetados por testes serológicos de rotina recomendados, como o MAT (Spangler et al. 2020).

5.4 Vacinação

De salientar que os dados serológicos dos cães devem ser interpretados com cautela porque a vacinação dos canídeos pode ser responsável pelos achados serológicos contra os serovares presentes nas vacinas. Sabe-se que os títulos de anticorpos induzidos pela vacinação são baixos, e apenas se mantêm durante três a quatro meses na maioria dos casos, sendo que uma pequena proporção de cães vacinados pode ainda desenvolver anticorpos detetados até aos seis meses (Moraes et

al., 2020). No entanto, a grande maioria dos cães presentes no CROAS que testaram positivo estavam alojados nas instalações há mais de 6 meses.

Devido ao facto de não termos um grupo de cães devidamente vacinados contra a leptospirose, no presente estudo não conseguimos investigar se, eventualmente, existiria ou não um impacto da vacinação na infeção dos canídeos deste canil.

5.5 Sinais clínicos

Os sinais clínicos mais frequentes foram a hematoquémia (40,9%) e as fezes com muco (40,9%).

É importante referir que os 3 cães que morreram em abril apresentavam-se ictericos, mas como não chegaram a ser testados este sinal clínico não foi incluído nos resultados, no entanto, a sua causa de morte recaiu sobre a leptospirose.

Apesar de, em 7 dos 22 cães que testaram positivo, não tenham sido registados sinais clínicos, não os podemos considerar assintomáticos, pois em contexto de abrigo é muitas vezes difícil de detetar e identificar qual o animal com determinado sinal clínico. Isto devido a estarem alojados dentro do mesmo espaço vários cães, tornando difícil por exemplo identificar a que animal pertencem determinadas fezes ou vômito.

5.6 Terapêutica

Os animais positivos fizeram tratamento antimicrobiano com doxiciclina, o que está de acordo com o recomendado pelo Consensus Statements on Leptospirosis do ACVIM (Sykes et al. 2011), e pelo European consensus statement on leptospiroses da BSAVA (Ramsey 2024). No entanto, segundo esta bibliografia o uso de doxiciclina não é recomendado caso os animais não se alimentem e quando existem sinais gastrointestinais como vômito e diarreia, sendo, nestes casos, recomendado o uso de ampicilina ou amoxicilina com ácido clavulânico, por via intravenosa, e iniciar-se a administração oral de doxiciclina assim que seja possível, de forma a eliminar a leptospiremia e as leptospiroses dos túbulos renais. Posto isto verificamos que a utilização da doxiciclina nos animais que apresentavam diarreia e anorexia não foi a terapêutica mais indicada, apesar de não haver outro tratamento disponível para utilização no CRO.

Segundo alguns autores (Schuller et al. 2015; Sykes et al. 2011) é recomendado iniciar-se logo a antibioterapia antes de se ter o diagnóstico definitivo, quando os cães são suspeitos de leptospirose, de forma a haver uma maior recuperação clínica e a um melhor desfecho. Além disso, segundo Schuller et al 2015, deve-se administrar doxiciclina aos cães que coabitam com cães infetados de forma a prevenir a sua infeção. Neste caso, não foi iniciado um protocolo de antibioterapia antes de se ter os resultados

da imunofluorescência indireta, derivado à diminuta disponibilidade de antibióticos no abrigo, no entanto, idealmente assim que houve suspeita de casos de cães positivos à leptospirose no CRO dever-se-ia ter iniciado antibiótico a todos os canídeos de forma a tentar controlar a transmissão e a gravidade da doença assim como as suas consequências a nível de saúde pública.

5.7 Saúde pública

Com este estudo de caso percebemos que, efetivamente, a leptospirose é uma doença que pode ter um impacto significativo ao nível da saúde pública.

Dos 4 funcionários a trabalhar no CROAS no período de tempo da ocorrência do surto, a Médica Veterinária Municipal, um administrativo e 2 tratadores, 50% ficaram infetados. Estes 2 funcionários que testaram positivo foram os 2 tratadores que eram responsáveis pela limpeza das boxes e manipulação dos animais. Os 2 funcionários que tinham menos contacto diário com os cães e boxes, a Médica Veterinária e o administrativo, testaram negativo.

Um dos funcionários esteve gravemente doente, tendo mesmo corrido risco de vida, enquanto que o outro funcionário teve, apenas, sintomas mais ligeiros. Com isto percebemos a gravidade que esta doença pode ter para a saúde humana.

Com a realização deste estudo de caso identificamos ainda que, o funcionamento do CRO, teve falhas graves. Passou quase 1 mês desde a emissão do pedido para a testagem dos cães (dia 2 de junho) até ter sido realizada efetivamente a recolha de sangue aos animais para posterior testagem (dia 6 de julho). Neste intervalo de tempo o único tratador que estava ao serviço juntamente com a Médica Veterinária municipal que teve de ajudar com as limpezas das instalações devido à falta de pessoal, estiveram expostos à doença. Além disso, mesmo que se quisesse iniciar antibioterapia, mesmo sem confirmação laboratorial da infeção dos cães, o CRO não tinha o medicamento disponível em quantidade suficiente para todos, e mesmo depois de se saberem os resultados dos testes, entre dia 5 e 8 de julho, ainda se teve de aguardar até dia 12 de julho para se receber o antibiótico.

Posto isto, percebemos que é necessário que as autarquias a nível nacional, tenham uma resposta mais rápida para estas situações de forma a mitigar as suas consequências.

5.8 Limitações de estudo

O facto de não se terem realizado análises laboratoriais assim como outros exames complementares de diagnóstico, de forma a se avaliar se existiam ou não

alterações a nível renal, hepático e/ou respiratório, alterações da temperatura, nível de desidratação, TRC, entre outros sinais da doença que poderiam estar presentes, impediu uma avaliação mais detalhada do verdadeiro impacto da doença nos cães do CROAS e, conseqüentemente, da verdadeira gravidade daquela nos cães deste abrigo.

Os cães foram diagnosticados a partir de serologia IgM/IgG, e em nenhum caso foi realizado o MAT, pelo que não foi possível aferir quais os serovares infetantes. É importante a realização de estudos que procurem identificar quais os serogrupos que, mais frequentemente, originam casos de infeção em cães em Portugal, dando especial atenção aos de abrigos pois estes animais representam uma fonte de contágio relevante derivado a viverem nas ruas, o que leva a terem um elevado contacto com vários animais e pessoas, e ao facto de ao serem recolhidos e adotados poderem ser uma fonte de transmissão para novos detentores e para outros animais de companhia. Isto é também aplicável aos cães portadores crónicos de *Leptospira* spp. em Portugal, que têm igualmente um papel no ciclo de transmissão da doença, uma vez que contribuem para a disseminação de bactérias no ambiente.

Os sinais clínicos registados foram apenas os observados pelos tratadores e relatados à Médica Veterinária responsável, sendo provável que existissem outros sinais que não foram observados pelos trabalhadores.

Além disso, devido aos cães deste abrigo não estarem devidamente vacinados, não foi possível tirar conclusões quanto à vacinação ser ou não uma variável significativa na infeção por leptospiros em cães de abrigo, pelo que estudos futuros neste sentido seriam muito úteis e interessantes, de forma a se perceber o impacto da vacinação nestes lugares e conseqüentemente com o objetivo de sensibilizar tanto os tratadores como as autarquias, assim como toda a população, do impacto que esta doença pode ter a nível da saúde pública.

6 Conclusão

Embora a leptospirose seja uma doença de carácter zoonótico que pode levar à mortalidade de cães e seres humanos infetados, não é uma doença de declaração obrigatória em Medicina Veterinária, pelo que é, provavelmente, subnotificada. No entanto, é fundamental caracterizar a doença.

O local de alojamento dos cães no CRO foi a única variável que influenciou a ocorrência de leptospirose nos canídeos do CROAS, o que podemos inferir dever-se à localização do abrigo ser na zona industrial de Santarém, tendo uma empresa de tratamento de resíduos ao lado das instalações, provavelmente responsável pelo aumento da população de roedores nas imediações, que são a principal fonte de transmissão da doença.

Verificou-se que, para uma melhor avaliação do impacto da doença, é importante a realização de análises laboratoriais para percebermos a gravidade da leptospirose nos cães e nos trabalhadores.

São necessárias mais investigações para determinar o papel dos canídeos na transmissão da doença entre congéneres, seres humanos e ratos, assim como para avaliar o papel do cão assintomático como disseminador e/ou potencial fonte direta de infeção humana.

São necessários estudos regionais com amostras maiores para investigar a seroprevalência da doença e, ao mesmo tempo, é fundamental educar os trabalhadores de abrigos de animais sobre a transmissão de doenças zoonóticas e as suas formas preventivas, assim como sobre o bem-estar animal.

Consideraram-se positivos à leptospirose todos os cães que testaram positivos à serologia IgG e/ou IgM, e mesmo sabendo que os tratadores tinham testado positivo para a doença, teria sido mais correto realizar um PCR ou um MAT para confirmar o diagnóstico.

Sugere-se um estudo, a nível nacional, para investigar a prevalência da doença entre os centros de recolha oficial de animais e também nas associações zoófilas portuguesas, de forma a reduzir o possível risco de transmissão da leptospirose entre os cães e também para os cuidadores ou adotantes daqueles.

7 Referências Bibliográficas

Abdussalam M, Alexander AD, Babudieri B, Bögel K, Borg-Petersen C, Faine S, Kmety E, Lataste-Dorolle C, Turner LH. 1972. Research needs in leptospirosis. *Bulletin of the World Health Organization*, 47(1), 113–122. [accessed 2024 Out 4]. doi: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2480810/pdf/bullwho00181-0116.pdf>

Alashraf AR, Khairani-Bejo S, Khor KH, Radzi R, Rani PAMA, Goh SH, Rahman MSA, Roslan MA, Ismail R, Lau SF. 2020. Serological Detection of Anti-Leptospira Antibodies among Animal Caretakers, Dogs and Cats Housed in Animal Shelters in Peninsular Malaysia. *Sains Malaysiana*, 49(5), 1121–1128. [accessed 2024 Out 9]. doi: <https://doi.org/10.17576/jsm-2020-4905-17>

Anabel CR, Dora RS, Concepción AA, Mariel AD, Christian BP. 2013. Frequency of canine leptospirosis in dog shelters in Veracruz, Mexico. *African Journal of Microbiology Research*, 7(16), 1518–1521. [accessed 2024 Nov 29]. doi: <https://doi.org/10.5897/AJMR12.1053>

Andrade-Silveira E, Ortega-Pacheco A, Jiménez-Coello M, Cárdenas-Marrufo M. 2024. Review of leptospirosis in dogs from Mexico: Epidemiology, diagnosis, prevention, and treatment. *Veterinary World*, 1356–1361. [accessed 2024 Out 14]. doi: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.1356-1361>

Araújo DC, Silva MSV. 2024. Insuficiência Renal Aguda em Decorrência da Leptospirose. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 10(6), 775–792. [accessed 2024 Out 20]. doi: <https://doi.org/10.51891/rease.v10i6.14376>

Azevedo IR, Amamura TA, Isaac L. 2023. Human leptospirosis: In search for a better vaccine. *Scandinavian Journal of Immunology*, 98(5). [accessed 2024 Out 14]. doi: <https://doi.org/10.1111/sji.13316>

Beauté J, Innocenti F, Aristodimou A, Špačková M, Eves C, Kerbo N, Rimhanen-Finne R, Picardeau M, Faber M, Douglas G, Halldórsdóttir AM, Jackson S, Leitêna V, Vergison A, Borg ML, Pijnacker R, Sadkowska-Todys M, Martins JV, Rusu LC, Grilc E, Estevéz-Reboredo RM, Niskanen T, Westrell T. 2024. Epidemiology of reported cases of leptospirosis in the EU/EEA, 2010 to 2021. *Eurosurveillance*, 29(7), 2300266. [accessed 2024 Out 22]. doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.7.2300266>

Beck SK, Scheuchuk JF, Kostolowics MM, Bertolazzi S, Paim WP, Gheno BP. 2024. *Leptospira* spp. EM GATOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*): REVISÃO DE LITERATURA. *REVISTA FOCO*, 17(8), e5842. [accessed 2024 Nov 12]. doi: <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v17n8-146>

Brown K, Prescott J. 2008. Leptospirosis in the family dog: a public health perspective. *Canadian Medical Association Journal*, 178(4), 399–401. [accessed 2024 Out 25]. doi: <https://doi.org/10.1503/cmaj.071097>

Browne ES, Pereira M, Barreto A, Zeppelini CG, Oliveira D, Costa F. 2023. Prevalence of human leptospirosis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47, 1. [accessed 2024 Out 28]. doi: <https://doi.org/10.26633/RPSP.2023.126>

Ciurariu E, Prodan-Barbulescu C, Mateescu D-M, Tutac P, Sorop V-B, Susan M, Varga N-I. 2025. Diagnostic Advances in Leptospirosis: A Comparative Analysis of Paraclinical Tests with a Focus on PCR. *Microorganisms*. 13(3), 667. [accessed 2025 Abr 5]. doi:

<https://doi.org/10.3390/microorganisms13030667>

Daroz BB, Fernandes LGV, Cavenague MF, Kochi LT, Passalia FJ, Takahashi MB, Nascimento Filho EG, Teixeira AF, Nascimento ALTO. 2021. A Review on Host-Leptospira Interactions: What We Know and Future Expectations. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. [accessed 2024 Dec 2]. doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.777709>

Decreto-Lei no 260/2012 de 12 de dezembro. Diário da República no 240/2012 – Série I. Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território. Lisboa.

[DGV 2010] Direcção Geral de Veterinária. 2010. Centros de recolha: objetivos e obrigações legais. Lisboa: DGV. Relatório: 01/DSSPA/MI/2010.

Di Azevedo MIN, Aymée L, Borges ALSB, Lilenbaum W. 2023. Molecular Epidemiology of Pathogenic *Leptospira* spp. Infecting Dogs in Latin America. *Animals*, 13(15), 2422. [accessed 2024 Set 28]. doi: <https://doi.org/10.3390/ani13152422>

DGAV. 2015. Lista das doenças de declaração obrigatória a nível nacional.:1-3.

European Centre for Disease Prevention and Control. 2023. Leptospirosis Annual Epidemiological Report for 2021.

Gomes LR, Silva GR, Sousa FM, Martins MA, Martins GA, Souza RESC, Mundim AV, Lima AMC. 2023. Alterações clínico-patológicas, diagnóstico sorológico e molecular em cães com suspeita de leptospirose. *Semina: Ciências Agrárias*, 44(2), 823–840. [accessed 2024 Nov 20]. doi: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2023v44n2p823>

Greene, Sykes, Moore, Goldstein, Schultz. 2012. Leptospirosis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. St. Louis (MO): Elsevier. P. 431-447.

Guerra MA. 2013. Leptospirosis: Public health perspectives. *Biologicals*, 41(5), 295–297. [accessed 2024 Dec 5]. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2013.06.010>

Hospital da Luz. n.d. Leptospirose. Hospital da Luz. [accessed 2024 Nov 15]. <https://www.hospitaldaluz.pt/pt/dicionario-de-saude/leptospirose?>

[IRIS]. 2019. IRIS staging of CKD. [accedido em 2024 Dec 18]. http://www.iriskidney.com/pdf/IRIS_Staging_of_CKD_modified_2019.pdf

Karpagam KB, Ganesh B. 2020. Leptospirosis: a neglected tropical zoonotic infection of public health importance - an updated review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 39(5), 835–846. [accessed 2024 Set 28]. doi: <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03797-4>

Khor KH, Tan WX, Lau SF, Mohd Azri R, Rozanaliza R, Siti KB, Abdul Rani B. 2016. Seroprevalence and molecular detection of leptospirosis from a dog shelter. *Tropical Biomedicine*, 33(2), 276–284. [accessed 2024 Nov 19]. doi: <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2017.12.001>

Lizer J, Velineni S, Weber A, Krecic M, Meeus P. 2018. Evaluation of 3 Serological Tests for Early Detection Of *Leptospira* - specific Antibodies in Experimentally Infected Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 201–207. [accessed 2024 Dec 10]. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.14865>

Luquetti CM, Pontes DB, Silva AP, Filho GMV, Diniz BB, Hancke G, Neves RG, Amaral ALA, Rezende MF, Paim IP, Souza CVTL, Maganhin CC. 2024. Leptospirose: Tratamento e prevenção. *Journal of Medical and Biosciences Research*, 1(3), 1264–1272. [accessed 2024 Oct 17]. doi: <https://doi.org/10.70164/jmbr.v1i3.180>

Miotto BA, Guilloux AGA, Tozzi BF, Moreno LZ, Hora AS, Dias RA, Heinemann MB, Moreno AM, Filho AFS, Lilienbaum W, Hagiwara MK. 2018. Prospective study of canine leptospirosis in shelter and stray dog populations: Identification of chronic carriers and different *Leptospira* species infecting dogs. *PLOS ONE*, 13(7), e0200384. [accessed 2024 Nov 21]. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200384>

Moraes AF, Feitosa CB, Santos CM, Souza GO, Heinemann MB, Júnior KCP, Gonçalves AP. 2020. Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in shelter dogs. *Brazilian Journal of Development*, 6(6), 40492–40505. [accessed 2024 Nov 30]. doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-548>

Mottola C, Alho AM, Rafael T, Gonçalves T, Seixas R. 2015. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria. Leptospirose Em Portugal: Situação Actual e Importância Das Medidas de Controlo No Contexto Da Saúde Pública, 1–16.

Murillo A, Goris M, Ahmed A, Cuenca R, Pastor J. 2020. Leptospirosis in cats: Current literature review to guide diagnosis and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 22(3), 216–228. [accessed 2024 Oct 9]. doi: <https://doi.org/10.1177/1098612X20903601>

[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2008. Leptospirosis humana: Guia para el diagnóstico, vigilancia y control. Rio de Janeiro: OMS, OPS.127p.

Picardeau M, Bertherat E, Jancloes M, Skouloudis AN, Durski K, Hartskeerl RA. 2014. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: Current tools and emerging technologies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 78(1), 1–8. [accessed 2024 Dec 17]. doi: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.09.012>

Powell L, Reinhard CL, Serpell J, Watson B. 2023. A Survey of Veterinary Student and Veterinarian Perceptions of Shelter Medicine Employment. *Journal of Veterinary Medical Education*, 50(1), 27–52. [accessed 2024 Nov 25]. doi: <https://doi.org/10.3138/jvme-2021-0112>

Rajapakse S. 2022. Leptospirosis: clinical aspects. *Clinical Medicine*, 22(1), 14–17. [accessed 2024 Dec 28]. doi: <https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0784>

Ramsey I, editor. 2014. BSAVA Small Animal Formulary. 8th ed. Gloucester (UK): British Small Animal Veterinary Association.

Ramos TMV, Balassiano IT, Silva TSM, Nogueira JMR. 2022. Leptospirose: Características da enfermidade em humanos e principais técnicas de diagnóstico laboratorial. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 53(3). [accessed 2024 Abr 5]. doi: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202102110>

Samrot AV, Sean TC, Bhavya KS, Sahithya CS, Chan-draseskaran S, Palanisamy R, Robinson ER, Subbiah SK, Mok PL. 2021. Leptospiral Infection, Pathogenesis and Its Diagnosis - A Review. *Pathogens*, 10(2), 145. [accessed 2024 Set 17]. doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens10020145>

Schuller S, Francey T, Hartmann K, Hugonnard M, Kohn B, Nally JE, Sykes J. 2015.

European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *J Small Anim Pract.* 56(3):159-179.

Simões LS, Sasahara THC, Favaron PO, Miglino MA. 2016. Leptospirose – Revisão. *Pubvet*, 10(02). [accessed 2024 Oct 4]. doi: <https://doi.org/10.22256/pubvet.v10n2.138-146>

Spangler D, Kish D, Beigel B, Morgan J, Gruszynski K, Naikare H, Nahar VK, Coarsey MD, Verma A. 2020. Leptospiral shedding and seropositivity in shelter dogs in the Cumberland Gap Region of Southeastern Appalachia. *PLOS ONE*, 15(1), e0228038. [accessed 2024 Nov 16]. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228038>

Squires RA, Crawford C, Marcondes M, Whitley N. 2024. 2024 guidelines for the vaccination of dogs and cats – compiled by the Vaccination Guidelines Group (VGG) of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA). *Journal of Small Animal Practice*, 65(5), 277–316. [accessed 2024 Nov 1]. doi: <https://doi.org/10.1111/jsap.13718>

Sykes JE, Francey T, Schuller S, Stoddard RA, Cowgill LD, Moore GE. 2023. Updated ACVIM consensus statement on leptospirosis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 37(6), 1966–1982. [accessed 2024 Dec 10]. doi: <https://doi.org/10.1111/jvim.16903>

Sykes JE, Hartmann K, Lunn KF, Moore GE, Stoddard RA, Goldstein RE. 2011. 2010 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Leptospirosis: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1), 1–13. [accessed 2024 Set 30]. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0654.x>

Sykes JE. 2014. Leptospirosis. In: *Canine and Feline Infectious Diseases*. 1st ed. St. Louis: Missouri: Elsevier Saunders; p. 474-486.

Tansakul M, Sawangjai P, Bunsupawong P, Ketkan O, Thongdee M, Chaichoen K, Sakcamduang W. 2024. Survival outcomes, low awareness, and the challenge of neglected leptospirosis in dogs. *Open Veterinary Journal*, 14(9), 2368. [accessed 2024 Set 23]. doi: <https://doi.org/10.5455/OVJ.2024.v14.i9.25>

Uribe-Restrepo P, Perez-Garcia J, Arboleda M, Munoz-Zanzi C, Agudelo-Florez P. 2024. Clinical presentation of human leptospirosis in febrile patients: Urabá, Colombia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 18(9), e0012449. [accessed 2024 Dec 7]. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012449>

Verma V, Goyal M, Kala D, Gupta S, Kumar D, Kaushal A. 2020. Recent Advances in the diagnosis of leptospirosis. *Frontiers in Bioscience-Landmark* 25(9): 1655 - 1681. [accessed 2024 Nov 13]. doi: <https://doi.org/10.2741/4872>

Vincent AT, Schiettekatte O, Goarant C, Neela VK, Bernet E, Thibeaux R, Ismail N, Mohd Khalid MKN, Amran F, Masuzawa T, Nakao R, Amara Korba A, Bourhy P, Veyrier FJ, Picardeau M. 2019. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(5), e0007270. [accessed 2024 Oct 8]. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007270>

Zwijnenberg R, Smythe L, Symonds M, Dohnt M, Toribio J. 2008. Cross-sectional study of canine leptospirosis in animal shelter populations in mainland Australia. *Australian Veterinary Journal*, 86(8), 317–323. [accessed 2024 Oct 26]. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00324.x>