

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS - INTITUTO BIOMÉDICO
MESTRADO EM MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA APLICADA

CAMILA HAMOND REGUA MOTTA

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA LEPTOSPIROSE NO DESEMPENHO ATLÉTICO DE
EQUINOS

NITEROI/ RJ
2010

CAMILA HAMOND REGUA MOTTA

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA LEPTOSPIROSE NO DESEMPENHO ATLÉTICO DE
EQUINOS

Dissertação apresentada ao Mestrado de
Microbiologia e Parasitologia aplicada da
Universidade Federal Fluminense.

Orientador: Prof.Dr Walter Lilenbaum.

NITEROI/ RJ
2010

CAMILA HAMOND REGUA MOTTA

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA LEPTOSPIROSE NO DESEMPENHO ATLÉTICO DE
EQUINOS

Dissertação apresentada ao Mestrado de
Microbiologia e Parasitologia aplicada da
Universidade Federal Fluminense

Aprovada em

BANCA EXAMINADORA

Prof.Dr. Walter Lilenbaum
Universidade Federal Fluminense

Prof.Dr. Daniel Lessa
Universidade Federal Fluminense

Profa.Dra Rachel Ferreira
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

NITEROI/ RJ
2010

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre me iluminar e me guiar...

Ao meu marido, Jorge Tiê Costa Reis, pelo amor, amizade, respeito e compreensão.

Aos meus pais, Paulo de Tarso Motta e Márcia Hamond Régua Motta, minha irmã, Sabrina Hamond Régua Motta, e meu sobrinho Pablo Hamond Kloosterman, pelo carinho e apoio em toda minha vida.

Ao professor Dr. Walter Lilenbaum pela orientação, paciência e oportunidade de realizar este trabalho.

A Elizabeth Maria de Abreu Kraus pela amizade, apoio e ensinamentos.

Ao Gabriel Mendes de Souza Martins pela alegre convivência no laboratório, incentivo, sugestões, colaboração e ensinamentos.

Ao professor Dr. Renato Vargens pela sua colaboração e paciência.

A Carla Dray Marassi pela análise estatística dos resultados deste trabalho.

Ao professor PhD Nicolau Maues da Serra-freire pelo incentivo na minha vida profissional.

À professora Dra. Andrea Maria de Araújo Gabriel pela amizade e incentivo.

Aos treinadores Jaime Aragão, A. Castilho, Túlio Penelas, Luciano T Holanda, Nair dos Santos, Teófilo Oliveira, C.Rodrigues, JC Nogueira, A. Machado, J.Oliveira, C.R Gomes, J. Queiroz, J.D.L Santos, O.Loezer por cederem os animais para realização deste trabalho.

As minhas amigas Juliana Machado Gouvêa, Isabela Campos Lage, Lavicie Arais e Livia Forte pela amizade, carinho e incentivo.

À todos que, direta ou indiretamente, prestaram sua colaboração.

RESUMO

Embora os sintomas mais freqüentemente descritos na leptospirose em equinos sejam febre, icterícia, nefrite e complicações oculares, pouco se estuda sobre a interferência desta infecção no desempenho atlético destes animais. O objetivo deste estudo foi avaliar a associação da sororeatividade para leptospirose com a ocorrência de hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) e com o desempenho atlético em equinos. Estudou-se 180 equinos adultos mantidos em treinamento no Jockey Clube Brasileiro do Rio de Janeiro para detecção de anticorpos anti-*Leptospira* pela técnica da soroaglutinação microscópica. Noventa (50,0%) animais se mostraram sororreativos com títulos ≥ 200 , com predomínio do sorotipo Copenhageni (87,8%). Os 79 animais sororreativos para Copenhageni foram avaliados por endoscopia das vias aéreas superiores 30 minutos após o exercício. Destes, 32 (40,5%) apresentavam histórico de dificuldade em ganhar peso, 24 (30,4%) inapetência e queda de desempenho atlético. Ao exame clínico, sete (7,8%) apresentaram icterícia, 18 (20,0%) lacrimejamento e hiperemia ótica, 24 (30,4%) encontravam-se apáticos, dois (2,5%) com mialgia, quatro (4,4%) com letargia e 33 (41,8%) com opacidade de pêlo. Na endoscopia das vias aéreas superiores 16 (20,2%) dos animais sororreativos apresentaram HPIE, assim como 10 (11,1%) dos equinos soronegativos para leptospirose. Dos 79 animais sororreativos para o serovar Copenhageni, 37 (41,1%) foram tratados com penicilina procainada associada à estreptomicina, e 15 dias após o tratamento verificou-se melhora significativa com relação à dificuldade em ganhar peso, inapetência, apatia e letargia. Já no que se refere à melhora do desempenho atlético e opacidade de pelo, as melhoras foram evidentes 45 dias após o tratamento. Sete destes animais apresentavam HPIE ao primeiro exame, e reverteram de grau 4 para 3 (dois animais) ou 2 (cinco animais). Verificou-se, portanto, associação entre sororeatividade para leptospirose com o desempenho atlético destes animais, principalmente no que diz respeito à severidade da HPIE, e que o tratamento específico foi capaz de reverter tal quadro.

Palavras - chave: Leptospirose, equino, desempenho atlético.

ABSTRACT

Although the symptoms most frequently reported equine leptospirosis are fever, jaundice, nephritis and ocular complications, little is studied about the interference of this infection in the athletic performance of these animals. The aim of this study was to evaluate the association of seroreactivity to leptospirosis with the occurrence of pulmonary hemorrhage induced by exercise (EIPH) and athletic performance in horses. We studied 180 adult horses kept in training at the Jockey Club Brasileiro in Rio de Janeiro to detect anti-*Leptospira* antibodies by the microscopic agglutination test. Ninety (50.0%) animals showed seroreactive securities ≥ 200 , with a predominance of Copenhageni (87.8%). The 79 animals to seroreactive Copenhageni were evaluated by endoscopy of the upper airways 30 minutes after exercise. Of these, 32 (40.5%) had a history of difficulty in gaining weight, 24 (30.4%), appetite loss and athletic performance. On physical examination, seven (7.8%) had jaundice, 18 (20.0%) tearing and redness optics, 24 (30.4%) were apathetic, two (2.5%) with myalgia, four (4.4%) with lethargy and 33 (41.8%) with opacity of hair. Endoscopy of the upper airways 16 (20.2%) animals showed seroreactive EIPH, and 10 (11.1%) of horses seronegative for leptospirosis. Of the 79 animals seroreactive for serovar Copenhagen, 37 (41.1%) were treated with procaine penicillin be associated dihydrostreptomycin, and 15 days after treatment there was significant improvement in parameters difficulty gaining weight, poor appetite, apathy and lethargy. Now as regards the improvement of athletic performance and opacity of hair, the improvements were evident 45 days after treatment. Seven of these animals showed the first examination EIPH, reversed and grade 4 to 3 (two animals) or 2 (five animals). It is therefore an association between seroreactivity to leptospirosis with the athletic performance of these animals, especially with regard to the severity of EIPH, and that specific treatment was able to reverse such a framework.

Key-works: Leptospirosis, equine, athletic performance

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Agente etiológico	13
2.1.1 Taxonomia	13
2.1.2 Aspectos biológicos e morfológicos das leptospiras	14
2.2 Epidemiologia	15
2.2.1 Leptospirose em geral	15
2.2.2 A infecção nos equinos	17
2.3 Patogenia	20
2.4 A enfermidade em equinos	22
2.4.1 Alterações clínicas	23
2.5 Hemorragia pulmonar induzida por exercício	25
2.5.1 HPIE e repercussão no desempenho atlético	27
2.6 Tratamento	27
3 OBJETIVO	29
3.1 Objetivo geral	29
3.2 Objetivos específicos	29
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Desenho do estudo	30
4.2 Animais	30
4.3 Análise sorológica	31
4.4 Endoscopia das vias aéreas superiores	33
4.5 Tratamento	34
4.6 Análise estatística	34
5 RESULTADOS	35
5.1 Análise sorológica	35
5.2 Endoscopia das vias aéreas superiores	39
5.3 Tratamento	39

6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1: Amostras de leptospiras utilizadas como antígenos para o diagnóstico sorológico de leptospirose em 180 equinos atletas	32
Tabela 2: Distribuição dos serovares de leptospiras sp em 90 cavalos atletas sororeativos do Rio de Janeiro	37
Tabela 3: Alterações clínicas observadas em 79 cavalos atletas sorreativos para Copenhageni e 90 soronegativos para leptospirose no Rio de Janeiro, Brasil	38
Tabela 4: Classificação do grau da hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) observadas em 79 cavalos atletas sororeativos para Copenhageni e 90 soronegativos para leptospirose no Rio de Janeiro, Brasil	40
Tabela 5: Evolução das alterações clínicas observadas em 37 cavalos atletas sororeativos para serovar Copenhageni antes, 15 e 45 dias após tratamento específico com antibióticos no Rio de Janeiro, Brasil	41

RELAÇÃO DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Graus de hemorragia pulmonar observados em sete equinos sororeativos para serovar Copenhageni, antes, 15 e 45 dias após tratamento específico com antibióticos no Rio de Janeiro, Brasil

42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

° C	Graus Celsius
HPIE	Hemorragia Pulmonar induzida por exercício
IM	Intramuscular
LBA	Lavado bronquioalveolar
LPS	Lipopolissacarídeo
LT	Lavabo traqueobrônquico
MAT	Técnica da soroaglutinação microscópica
PSI	Puro Sangue Inglês
®	Marca registrada

1 INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose causada pela espiroqueta *Leptospira interrogans* (sensu lato) e pode acometer diversas espécies de animais, inclusive os equinos. É causada por diferentes espécies de *Leptospira* sp., que estão presentes na água, solo e reservatórios animais de zonas urbanas e rurais. Os animais infectados podem desenvolver o estado de portadores crônicos renais e tornarem-se reservatórios.

A expansão da equideocultura nacional, associada à intensificação na criação, contribuiu para o aumento na ocorrência de doenças, dentre elas a leptospirose. A leptospirose equina manifesta-se normalmente por uveíte recorrente, abortamentos e/ou outros distúrbios reprodutivos. Embora evidências sorológicas de infecções por *Leptospira* sejam comuns em equinos, a doença clínica não é freqüente. Em equinos a leptospirose geralmente se manifesta como doença aguda ou crônica, individual ou de rebanho, sendo que a maioria das infecções apresenta caráter inaparente.

O impacto da leptospirose sobre a saúde pública reflete-se no alto custo do tratamento nos indivíduos acometidos, com letalidade da ordem de 5 a 20%. No entanto, quanto à saúde animal, as consequências dessa infecção encontram-se particularmente na esfera econômica, tendo em vista as perdas diretas (com o tratamento e morte do animal) e indiretas (queda na produtividade, aumento do intervalo entre partos, queda de desempenho esportivo, dentre outros). A leptospirose animal representa, portanto, um fator de preocupação para os profissionais envolvidos com a saúde animal e pública.

A perda do desempenho atlético é um problema grave em cavalos de competição. A carreira de um cavalo de corrida é curta, logo quando ocorre alguma alteração clínica ou no treinamento que atrapalhe seu desempenho, o animal está perdendo tempo da sua carreira e o proprietário tendo gastos além do esperado. O desempenho atlético dos equinos requer a interação complexa de mecanismos que envolvem os sistemas musculoesquelético, nervoso, respiratório e cardiovascular.

O mecanismo de desencadeamento da hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) ainda necessita de esclarecimento. No entanto, as teorias mais aceitas atribuem a causa à

alta pressão vascular atingida nos pulmões durante o exercício. De qualquer modo, trata-se de uma condição progressiva e, ao que se saiba, ainda não existe tratamento eficaz para sua resolução. A fisiopatologia da hemorragia pulmonar associada a leptospirose também é pouco compreendida. Foi formulada a hipótese na qual a leptospira, pela ação direta, confirmado pelo achado de antígenos da bactéria no endotélio vascular do pulmão ou através de toxinas pode levar a uma agressão vascular dos pulmões, particularmente a uma vasculite difusa de pequenos vasos, ou capilarite. As toxinas libertadas pela leptospirosas podem levar a alteração dos fatores de coagulação e a diátese hemorrágica.

Neste contexto, o presente estudo se propôs em avaliar a associação de sororeatividade para leptospirose com a hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) e com o desempenho atlético em equinos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agente etiológico

2.1.1 Taxonomia

As leptospiros pertencem à ordem Spirochaetales e à família Leptospiraceae que compreende dois gêneros, *Leptospira* e *Leptonema*. Por meio da classificação sorológica, o gênero *Leptospira* é dividido em duas espécies, *L. interrogans* e *L. biflexa*. Considerando-se a classificação baseada em dados sorológicos, as leptospiros patogênicas pertencem à espécie *Leptospira interrogans*, enquanto a espécie *Leptospira biflexa* reúne as leptospiros ambientais, de vida livre (BARANTON; OLD, 1995).

Tanto *L. interrogans* quanto *L. biflexa* são classificadas em numerosos serovares, de acordo com a análise de sua constituição antigênica, por meio de reações de absorção cruzada de aglutininas. Dois ou mais serovares antigenicamente relacionados formam um sorogrupo. A espécie *L. interrogans* compreende 23 sorogrupos e mais de 200 serovares enquanto *L. biflexa* compreende 38 sorogrupos com mais de 60 serovares (FAINE et al., 2000). As variações dos carboidratos da cadeia lateral do LPS são responsáveis pela diversidade antigênica dos serovares das leptospiros (YANAGIHARA et al., 1984).

A classificação fenotípica, baseada em achados sorológicos, vem mais recentemente sendo substituída pela genotípica, baseada na hibridização DNA-DNA, a qual agrupou as leptospiros em diversas espécies genômicas, correspondendo então a grupos com DNA relacionado (LEVETT et al., 2005; MATTHIAS et al., 2008). Até o momento, foram identificadas 14 espécies e quatro genomoespécies (ainda não denominadas), com cepas contendo 70% ou mais de relação DNA-DNA (PEROLAT et al., 1998; BRENNER et al., 1999; LEVETT et al., 2005; MATTHIAS et al., 2008). Como a reclassificação do gênero manteve os nomes das espécies *L. interrogans* e *L. biflexa*, para evitar confusão na nomenclatura chama-se *L. interrogans sensu lato* e *L. biflexa sensu lato* quando se refere à antiga nomenclatura sorológica, e *L. interrogans sensu strictu* e *L. biflexa sensu strictu* quando se refere às genomoespécies

(ZUERNER; BOLIN, 1995). O maior problema da classificação genotípica é que muitas vezes um mesmo serovar pode representar mais de uma espécie genômica (BRENNER et al., 1999).

2.1.2 Aspectos biológicos e morfológicos das leptospiras

As leptospiras são organismos helicoidais, medindo de 10 a 20 µm de comprimento, aeróbias estritas, que apresentam uma ou as duas extremidades em forma de gancho e se movimentam através de flagelo contido no envelope externo. Podem ser de vida livre ou parasitas de homens e animais (ELLIS et al., 1983).

São visualizadas por microscopia de campo escuro ou contraste de fase e não são facilmente coradas. Utilizam sais de amônia como fonte de nitrogênio, ácidos graxos de cadeia longa como fonte de carbono e purinas (FAINE et al., 2000).

Sua membrana externa, assim como outras espécies de espiroquetas, possui várias camadas que envolvem completamente os filamentos axiais e o cilindro protoplásmico helicoidal. Nesse cilindro se encontra o material nuclear, citoplasma, membrana citoplasmática e a porção de peptidoglicano da parede celular (QUIN et al., 1994; HAAKE, 2000). O envelope externo é composto por proteínas, lipídeos e lipopolissacarídeos, concentrando grande parte dos seus fatores de virulência (VINH et al., 1986).

São bactérias fastidiosas, com tempo de geração de 6 a 16 horas, crescimento ótimo em pH 7,2-7,6 e temperatura de 28°C a 30°C (SMIBERT, 1977). As leptospiras são pouco resistentes à luz solar direta, aos desinfetantes comuns e aos antissépticos. As leptospiras patogênicas sobrevivem na água variando seu período conforme a temperatura, o pH, a salinidade e contaminação. Todas as leptospiras são sensíveis em pH ácido de 6,8 ou menos, porém sobrevivem em condições alcalinas em pH entre 7,8 e 7,9. O armazenamento em nitrogênio líquido preserva a virulência e a antigenicidade do agente, sendo o método mais frequentemente utilizado para o armazenamento (FAINE et al., 2000).

2.2 Epidemiologia

2.2.1. Leptospirose em geral

A leptospirose é uma doença infecto-contagiosa que acomete os animais domésticos, silvestres e os seres humanos sendo, portanto, classificada como uma zoonose. Esta enfermidade vem assumindo grande importância, tanto nos países em desenvolvimento quanto nos desenvolvidos, afetando a saúde animal, a economia de produção e a saúde pública, como também a disponibilidade de proteína animal para a população (FAINE et al., 2000).

É uma doença sazonal ocorrendo predominantemente nos períodos de chuva, sendo a incidência significativamente mais alta em países de clima quente do que em países de clima temperado, devido à longa sobrevivência das leptospiras no meio ambiente em temperaturas quentes e condições úmidas (ROMERO et al., 2003).

O crescimento urbano desordenado e a grande quantidade de lixo espalhado sobre as vias e terrenos baldios propiciam também um ambiente ideal para a proliferação da população murina. A leptospirose era considerada uma doença esporádica e rural; no entanto, casos de leptospirose urbana têm sido registrados e a doença passou a ser um problema de saúde pública, associada à alta mortalidade (KO et al., 1999).

A ocorrência de leptospirose é variável em diferentes partes do mundo, podendo observar-se tanto de forma esporádica quanto endêmica. Os surtos se reproduzem por exposição à água contaminada com urina ou tecidos provenientes de animais infectados (FAVERO et al., 2002). Atualmente a leptospirose é considerada uma doença urbana e endêmica no Brasil, o que constitui um sério risco a saúde pública (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Existem vários ciclos epidemiológicos na leptospirose, que envolvem diferentes reservatórios e mecanismos de transmissão, mas as condições ambientais são sempre muito importantes para a ocorrência da doença. Cada serovar tende a ser mantida por um hospedeiro específico e a prevalência do mesmo pode ser influenciada pela região envolvida, enquanto a ocorrência das serovar na população animal com a qual estas pessoas têm contato (HEATH; JOHNSON, 1994).

Os animais sinantrópicos, domésticos e selvagens são reservatórios essenciais para a persistência dos focos de infecção. Os seres humanos são apenas hospedeiros incidentais e terminais dentro da cadeia de transmissão. O principal reservatório é constituído pelos roedores sinantrópicos (domésticos) das espécies *Rattus norvegicus* (ratazana ou rato de esgoto), *Rattus rattus* (rato de telhado ou rato preto) e *Mus musculus* (camundongo ou catita). Ao se infectarem, não desenvolvem a doença e tornam-se portadores, albergando a leptospira nos rins e eliminando-

a viva no meio ambiente, contaminando desta forma, água, solo e alimentos. O *Rattus norvegicus* é o principal portador da leptospira do sorotipo Icterohaemorrhagiae, uma das mais patogênicas para o homem (POSSAS 2000; SARKAR et al., 2002).

Os reservatórios animais são cronicamente infectados nos rins pelos diferentes serovares de *Leptospira* (LEVETT, 2001; ATHANAZIO et al., 2008), um dos locais de predileção da bactéria. Assim, a transmissão da leptospirose ocorre pela eliminação de leptospiras na urina havendo a contaminação de água e solo, sendo esse o principal veículo de transmissão da doença (JOUGLARD; BROD, 2000; MCBRIDE et al., 2005); ou ainda, as leptospiras podem persistir no trato genital, sendo desta forma eliminadas pelo sêmen e secreções vaginais e, portanto transmitidas pela cópula ou inseminação artificial (FAINE et al., 2000).

Acredita-se que as leptospiras sejam eliminadas em altas concentrações na urina de ratos, visto que recente estudo demonstrou que ratos experimentalmente infectados eliminam até 10^7 bactérias/mL de urina (NALLY et al., 2005). No Rio de Janeiro, já foi demonstrado que cerca de 30% das ratazanas de vida livre são portadoras de leptospiras, predominantemente do sorogrupo Icterohaemorrhagiae (LILENBAUM et al., 1993).

O estado de portador renal dos hospedeiros de manutenção é um elemento chave na transmissão da leptospirose. As leptospiras naturalmente tendem a formar agregados na água, o que pode estar relacionado à sua manutenção no meio ambiente (TRUEBA et al., 2004).

As vias de transmissão clássicas da leptospirose são através do contato com a pele lesada e mucosa. O conhecimento dos serovares e seus hospedeiros de manutenção são essenciais para a compreensão da epidemiologia da doença em uma dada região (LEVETT, 2001).

Os animais que sobrevivem à fase aguda da leptospirose podem desenvolver a condição de portadores convalescentes onde as leptospiras instalam-se e multiplicam-se nos túbulos renais e são eliminados para o meio ambiente por períodos variáveis. Imunoglobulinas específicas são normalmente achadas na urina (FAINE et al., 2000).

A enfermidade nos animais domésticos apresenta diversas manifestações clínicas, dependendo da espécie animal, do serovar infectante e do ambiente envolvidos. Serovares adaptados tendem a causar doença crônica e por vezes subclínica nos hospedeiros de manutenção; enquanto que serovares não adaptados (incidentais) causam doença aguda e grave. Os equinos, além dos distúrbios reprodutivos, apresentam uveíte recorrente causada pela presença

de leptospiras ou anticorpos específicos nas câmaras oculares, e que pode evoluir para a cegueira (HARTSKEERL et al., 2004; LÉON et al., 2006).

2.2.2 A infecção nos equinos

A primeira demonstração da infecção por leptospiras em equinos foi realizada pelos pesquisadores Nieschultz e Wawo–Roentoe em 1930, citado por Barbosa (1962) os quais observaram o aparecimento freqüente de aglutininas no soro de equinos. Contudo somente em 1947 Lyubashenko e Novikova citado por Cordeiro et al. (1974) descreveram a doença e isolaram pela primeira vez o agente a partir de amostras da espécie eqüina.

No Brasil, o primeiro trabalho sobre a infecção por leptospiras em equinos foi realizado por Corrêa et al., (1957). Os autores realizaram um inquérito sorológico em 118 equinos no estado de São Paulo e confirmaram a ocorrência de anticorpos específicos em cavalos no Brasil. Como resultado, registraram uma taxa de 16,9% de sororeatividade pela técnica de soroaglutinação microscópica com predominância dos serovares Australis, seguido de Icterohaemorrhagiae e Sejröe.

Santa Rosa et al. (1968) pesquisaram soros de equinos abatidos em matadouro e equinos de corrida nas proximidades de São Paulo pela técnica de soroaglutinação microscópica. Foi considerado o título inicial de 200 como significativo para uma reação positiva. Dos 419 soros de equinos de matadouro, 37,9% tiveram reações positivas, sendo os serovares Pomona e Canicola os mais freqüentes, enquanto que em animais de corrida, dos 217 soros pesquisados, 6,9% estavam positivos, sendo Pomona (2,8%) e Icterohaemorrhagiae (2,3%) os mais encontrados. Foi ainda descrita correlação de Pomona e Icterohaemorrhagiae com a oftalmia periódica.

Cordeiro et al. (1974) pesquisaram soros de 404 equinos de vários grupos, dentre eles, animais de sela, puro sangue inglês do Jockey Clube e equinos utilizados para a produção de soro hiperimunes, nos municípios de Belo Horizonte, Vianópolis e Barbacena. Os autores consideraram positivas as reações com títulos iguais ou maiores que 100. Verificaram a ocorrência de 14,8% de animais reagentes, sendo Pomona o serovar mais encontrado em cavalos de sela (26,1%) e Bataviae em cavalos de corrida (26,9%).

Giorgi et al. (1981) realizaram um inquérito sorológico da leptospirose em 1.653 equinos puro-sangue de carreira na cidade de São Paulo. Foram encontradas 75 (4,5%) reações positivas

com títulos iguais ou maiores que 200 pela da prova de aglutinação microscópica, e os serovares mais freqüentes foram Icterohaemorrhagiae (41,3%) e Javanica (30,7%). Além disso, os autores conseguiram isolar pela primeira vez no Brasil a bactéria *Leptospira interrogans*, serovar Icterohaemorrhagiae de rins de um feto abortado. Ellis et al. (1983) por meio isolamento e de achados sorológicos de equinos realizados na Irlanda do Norte, observaram que grande parte desses animais estavam positivos para Bratislava, o que levou á hipótese de que equinos poderiam ser hospedeiros de manutenção para esta serovar.

Pinheiro et al. (1985) pesquisaram 1.145 amostras de soros de equinos e muares procedentes de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná e São Paulo, utilizando prova de aglutinação microscópica. Foi encontrada uma freqüência de 10,5% de animais reagentes com títulos iguais ou superiores a 200. Os serovares predominantes foram Pomona, Javanica e Canicola.

Matthews et al. (1987) realizaram um inquérito sorológico analisando a presença de uveíte recidivante em equinos e pôneis no Reino Unido. Títulos positivos foram encontrados em 13 dos 138 animais (9,1%) sem anormalidades oftálmicas e em três dos 27 animais (11,1%) com uveíte anterior. Sejroe foi comum nos três animais soropositivos com uveíte anterior. Segundo os autores o resultado demonstra que a infecção por leptospira não é a maior causa de uveíte anterior em equinos no Reino Unido, mas sugere que esse microrganismo possa estar associado com alguns casos de uveíte recorrente anterior.

Abuchaim (1991) examinou soros sangüíneos de 420 equinos provenientes de nove municípios do Rio Grande do Sul por meio da prova de aglutinação microscópica. Constatou que 37,4% dos soros apresentaram títulos iguais ou maiores que 100. Os serovares mais encontrados foram Icterohaemorrhagiae e Pomona. Além disso, observou que 55,6% dos animais testados estavam clinicamente sadios, podendo ser importante fonte de contaminação para o homem e para outros animais.

Lilenbaum et al. (1993) ao estudarem problemas reprodutivos em éguas devido à leptospirose no estado do Rio de Janeiro, notaram que apesar de nas outras espécies a leptospirose ser reconhecida como causa de grandes problemas reprodutivos, nos equinos esta relação é menos estudada. Neste estudo foi realizado o teste em 113 soros sangüíneos de éguas com problemas reprodutivos, desses 56 (49,5%) estavam reativas. Os serovares mais encontrados foram Canicola (15,9%), Andamana e Ballum (ambas com 9,7%).

Pellegrin et al. (1994) realizaram sorologia em 150 equinos provenientes de 10 fazendas no Pantanal. Todos os rebanhos foram considerados positivos e 139 (92,6%) dos soros testados reagiram com títulos iguais ou maiores que 100 para detecção de aglutininas anti-leptospiras. Os serovares mais observados foram Icterohaemorrhagiae e Hardjo. Segundo os autores, a evidência da infecção por Hardjo nos equinos pode acontecer por contato direto ou indireto com bovinos, visto serem estes os hospedeiros de manutenção deste sorotipo.

Lilenbaum (1998) avaliou achados sorológicos em 547 éguas de seis rebanhos do Rio de Janeiro, durante o período de 1993-1996. Encontrou 235 reações positivas com títulos iguais ou maiores que 100. Os serovares predominantes foram Icterohaemorrhagiae (43,4%), Bratislava (27,2%), Pomona (14,4%) e Hardjo (4,26%). O autor atribuiu a alta predominância de éguas positivas para Icterohaemorrhagiae à presença de roedores, pois esses são portadores sadios da doença e são, portanto fonte de contaminação dos equinos.

Langoni et al. (2004) analisaram 1.402 amostras de soros de equinos dos estados São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul, desse total 754 (54%) estavam positivos para um ou mais serovares com títulos iguais ou maiores que 100. Os serovares mais encontrados foram Icterohaemorrhagiae (37,0%), Castellonis (16,9%), Djasiman (6,1%), Copenhageni (4,5 %) e Hardjo (4,3%).

Oliveira e Pires Neto (2004) realizaram um estudo no Rio Grande do Sul sobre o diagnóstico e a ocorrência da infecção por leptospiras em várias espécies, dentre elas a equina. Realizaram exames sorológicos, no período de 2000 a 2002 em 992 equinos, destes 727 (73,3%) foram positivos com títulos iguais ou superiores de 100, com predominância de Bratislava e Copenhageni.

Em um estudo realizado por Linhares et al. (2005) na microrregião de Goiânia, entre os 16 serovares pesquisados, apenas cinco foram detectados, sendo que, dos 82 soros positivos, 56 (68,39%) foram positivos para Icterohaemorrhagiae, 11 (13,4%) para Pomona, sete (8,5%) para Wolffi, cinco (6,1%) para Hardjo e 3 (3,6%) para Canicola. A alta prevalência encontrada foi justificada pelos autores pelo manejo higiênico-sanitário deficiente.

Pinna et al. (2007) avaliaram um rebanho com 148 cavalos que apresentavam um nível elevado de abortamento (12%), morte embrionária (10%) e óbitos neonatais (8%). Foi realizado o teste de soroaglutinação microscópica (MAT) onde 72 (87,8%) foram sororeativos ao serovar Bratislava, seis (7,3%) ao serovar Icterohaemorrhagiae e quatro (4,9%) ao serovar Australis. Os

animais sororeativos foram tratados com dihidroestreptomicina e vacinados. Após um ano, sororeatividade e ocorrência de abortamentos, morte embrionária e neonatal declinou.

2.3 Patogenia

Os fatores de virulência de leptospiras são expressos por cepas patogênicas apenas quando em hospedeiros susceptíveis. A patogenia da leptospirose compreende uma seqüência de eventos comprovados e potenciais que envolvem rápida invasão tecidual, alterações patológicas e fisiológicas em diversos órgãos e sistemas, resposta imune adaptativa e eliminação do agente etiológico dos tecidos e líquidos orgânicos. Todavia a compreensão dos mecanismos celulares e moleculares ainda é muito limitada (PEREIRA, 2005).

A patogenia da leptospirose inclui a penetração ativa dos microrganismos através de mucosas (ocular, respiratória e gênito-urinária), da pele escarificada e até mesmo da pele íntegra, em condições especiais que favoreçam a dilatação dos poros, como ocorre quando da permanência por tempo prolongado em coleções de água contaminada (BLENDEN, 1976).

Vencidas as barreiras da porta de entrada, as leptospiras multiplicam-se ativamente no interstício e nos humores orgânicos (sangue, linfa e líquido), caracterizando um quadro agudo (leptospirose). As lesões primárias são atribuídas à ação mecânica do microrganismo nas células endoteliais de revestimento vascular. A consequência direta da lesão dos pequenos vasos são as hemorragias, seguidas da formação de trombos e do bloqueio de aporte sanguíneo nas áreas acometidas, levando a infartos (FAINE et al., 2000).

Os túbulos renais, áreas do organismo onde os anticorpos estão em concentrações baixas, parecem ser o local preferencial da colonização por leptospiras. Acredita-se que a explicação para isto se deva ao aporte sanguíneo ser limitado nestas regiões o que leva a uma menor eficiência das imunoglobulinas nestes locais (FAINE et al., 2000). Segundo GUYTON (1981), o fluxo sanguíneo renal na cortical corresponde a 20% do débito cardíaco, enquanto na região medular externa e interna é de 9% e 1% respectivamente, corroborando com os achados de ATHANAZIO et al. (2008) que sugerem que as leptospiras encontrem nos rins um escape do sistema imune.

Uma vez a infecção instalada, pode haver a evolução para doença aguda em hospedeiros sensíveis, bem como o desenvolvimento de imunidade protetora e eliminação do microrganismo, ou desenvolvimento do estado de portador crônico (FAINE et al., 2000). Nos ratos, hospedeiros

resistentes à infecção por *Icterohaemorrhagiae*, as leptospiros disseminam-se por todos os tecidos durante a primeira semana de infecção e depois são apenas encontradas nos rins (ATHANAZIO et al., 2008).

A excreção urinária de leptospiros é intermitente e pode ser de longa duração, na dependência dos hospedeiros acometidos e do serovar de leptospiros envolvido. Nos roedores infectados a presença de leptospiros na urina pode ser permanente. Nos animais de produção acometidos as leptospiros têm sido evidenciadas tanto na urina como no sêmen e em corrimentos vaginais o que confirma não só a colonização dos túbulos renais como também dos órgãos da reprodução e das suas glândulas anexas (ELLIS, 1994; LILENBAUM et al., 2009).

O dano pulmonar principal na leptospirose tem sido estudado em seres humanos e em modelos experimentais. Este ocorre devido às intensas hemorragias intra-alveolares (NALLY et al., 2004; PEREIRA et al., 2005; YANG et al., 2006), levando à insuficiência respiratória (GOUVEIA et al., 2008). Raras leptospiros são visualizadas nos pulmões (NALLY et al., 2004; YANG et al., 2006), sugerindo outro mecanismo de patogenia neste órgão que não a ação direta do microrganismo. A presença de imunocomplexos em membranas alveolares de cobaias sugere um processo auto-imune como etiologia da hemorragia pulmonar observada na leptospirose (NALLY et al., 2004). Em casos graves os pulmões apresentam grandes sufusões. Já no coração observa-se pericardite e petéquias no epicárdio e endocárdio (BALDWIN; AYKINS, 1987).

A patogênese das alterações pulmonares na leptospirose em seres humanos está atualmente sob investigação. Dois mecanismos principais da patogênese da leptospirose são sugeridos, sendo um mediado por toxinas e outro baseado na resposta imune do hospedeiro. A agressão mediada por toxinas determina vasculite capilar e parece ser a principal causa de hemorragia pulmonar (LUKS et al., 2003). O tecido pulmonar em pacientes com leptospirose normalmente apresenta muito menor número de leptospiros do que no fígado e no sangue, sugerindo que anormalidades pulmonares possam ser devidas a uma exposição de toxinas produzidas pelo patógeno em sítios distantes, como o fígado (BHARTI et al., 2003). A disseminação das leptospiros é provavelmente uma consequência da sua rápida translocação através das células. Foi proposto que a capacidade da *Leptospira* ao passar por células pode não ser tão importante como a taxa na qual elas penetram nas células. Isto facilitaria a disseminação rápida, antes que as células de defesa possam inibi-las (BAROCCHI et al., 2002).

A lesão tecidual primordial da leptospirose parece ser a lesão endotelial, levando à vasculite e às hemorragias nos tecidos (AREAN, 1962). Hemorragias, anemia hemolítica, hemoglobinemia, hemoglobinúria e icterícia são achados decorrentes da hemólise e lesão endotelial (DAHER et al., 2002; WAGENAAR et al., 2007). A trombocitopenia é comumente observada nas formas graves da leptospirose, podendo ocorrer em decorrência de hemorragias, citotoxicidade e agregação plaquetária (NICODEMO et al., 1989; GREENE, 2004; YANG et al., 2006; WAGENAAR et al., 2007).

A resposta imune contra leptospiras parece ser estimulada por componentes da membrana externa, tais como LPS, proteínas e lipoproteínas. A resposta adquirida se desenvolve a partir da segunda semana de infecção e é específica para o serovar infectante. A especificidade é conferida pelo LPS, que é altamente imunogênico (DE LA PENA-MOCTEZUMA, 1999). Os anticorpos específicos opsonizam as leptospiras, as quais são fagocitadas por macrófagos (MERIEN et al., 1997). WANG et al. (1984) observaram resistência de leptospiras à fagocitose por neutrófilos, enquanto SEBASTIAN (1994) verificou que na leptospirose a intensidade das lesões teciduais está intimamente relacionada à estirpe do serovar e a adaptabilidade do hospedeiro.

2.4 A enfermidade em equinos

A leptospirose nos animais domésticos apresenta diversas manifestações clínicas, dependendo da espécie animal, do serovar infectante e do ambiente envolvidos. Serovares adaptados tendem a causar doença crônica e por vezes subclínica nos hospedeiros de manutenção, enquanto serovares não adaptados causam doença aguda e grave. Os equinos, além dos distúrbios reprodutivos, apresentam uveíte recorrente (também conhecida como oftalmia periódica; cegueira da lua) causada pela presença de leptospiras ou anticorpos específicos nas câmaras oculares, e que pode evoluir para a cegueira (HARTSKEERL et al., 2004; LÉON et al., 2006).

2.4.1 Alterações clínicas

A leptospirose em equinos é uma importante enfermidade da esfera da reprodução, uma vez que determina o nascimento de crias fracas, natimortalidade ou mortalidade neonatal e

abortamento (comumente no 6º mês de gestação), como seqüela comum após invasão sistêmica. O abortamento sem prévia doença clínica também é comum (LILENBAUM, 1998; RADOSTITS et al., 2002). Os equinos podem apresentar infecção subclínica e usualmente tem um curso brando, já nas infecções agudas e subagudas apresentam um distúrbio sistêmico transitório, com sinais de hipóxia, depressão, relutância em se mover (HARTWIGK, 1990).

Os sinais clínicos da leptospirose em equinos compreendem o abortamento, morte perinatal, natimortos, nascimento de potros fracos e a oftalmia periódica (RIET-CORREA et al., 2001). Os sorotipos Kennewicki e Pomona são os mais comumente reportados como agentes por abortamentos, embora Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Hardjo e Canicola também tenham sido descritos. Estes ocorrem em idades gestacionais que variam entre 140 e 250 dias de gestação. Em alguns locais a leptospira pode ser considerada como a principal causadora de abortamento, onde as infecções fetoplacentárias são responsáveis por um terço dos natimortos e da morte perinatal que, em 75% dos casos, ocorrem em virtude de infecção bacteriana (RADOSTITS et al., 2002).

A presença do agente no interior do bulbo ocular causa uveíte, com envolvimento da úvea posterior (íris, corpo ciliar e coróide), córnea, retina e nervo óptico (HUNTER; HERR, 1994). Os sinais clínicos característicos são o lacrimejamento aumentado, blefarospasmo, fotofobia em graus variados, miose e catarata em casos mais avançados (GELLAT, 2003).

No estudo realizado por Williams (1968) que induziu a infecção com Pomona em equinos, observou-se febre durante três dias que ocorreu de 3 a 10 dias após exposição, inapetência, leve depressão, inconstantes graus de icterícia e leucocitose com neutrofilia. Já Van den Ingh et al. (1989) observaram desconforto respiratório grave, depressão e febre em doze potros de 4 a 12 semanas de idade. Outros sinais incluíam icterícia em um potro, marcha instável em outro potro e diarreia em dois potros. A doença foi rapidamente fatal e em todos os potros foi encontrada pneumonia hemorrágica na necrópsia. Foi isolado a partir do sangue *Leptospira interrogans* serovar Iora (do sorogrupo Australis) em um dos potros.

Divers et al., (1992) avaliaram um garanhão puro sangue inglês soropositivo para Pomona que apresentava histórico de febre, letargia leucocitose e persistente piúria, compatível com doença inflamatória do trato urinário.

Já HONG et al. (1993); HUNTER; HERR (1994) observaram também a ocorrência de febre, icterícia e morte por nefrite intersticial.

Carvalho et al. (2006) avaliaram doze potros de um mesmo rebanho, sendo que alguns destes animais apresentavam temperatura em torno de 39°C, apatia, indisposição, anorexia, icterícia e uveíte. A úvea posterior apresentava-se hiperêmica, edemaciada, com intenso lacrimejamento e fotofobia. Dos doze potros, oito foram reativos para Butembo, Cynopteri, Sentot, Bratislava e Wolffi.

No estudo realizado por Bavereund et al. (2009) os autores concluíram que não houve associação entre os sinais clínicos e a infecção por Bratislava e Icterohaemorrhagiae, exceto para associação entre fadiga e problemas respiratórios com soropositividade para Bratislava. Os resultados deste estudo sugerem que cavalos mais velhos e expostos a fatores associados à vida livre (a pasto) apresentaram maior soroprevalência para Bratislava.

Alterações pulmonares associadas à leptospirose são pouco estudadas em equinos. No entanto, estas vêm sendo bastante relatadas em seres humanos. Nestes, o acometimento pulmonar varia entre 20% e 70% dos pacientes com leptospirose (CARVALHO 1989; LEVETT 2001), e se manifestam como uma simples pneumonia intersticial ou, em casos extremos, como hemorragia pulmonar profusa (CARVALHO 1989; GOLÇALVES et al., 1992). Clinicamente, traduz-se por hemoptises, dispnéia e infiltrados pulmonares no radiograma de tórax, acompanhados geralmente de hipoxemia, o que configura o quadro de hemorragia alveolar (CARVALHO et al., 1992; SILVA et al., 1998). As manifestações hemorrágicas mais comumente observadas são epistaxe, petéquias, púrpuras e equimoses (MAROTO et al., 1999), embora formas graves sejam também descritas, caracterizando-se pela rápida evolução para hemoptise maciça, seguida de insuficiência respiratória e morte por asfixia (GONÇALVES et al., 1992; SILVA et al., 1998; SILVA et al., 2002). No estudo de Paganin et al., (2009) 134 pacientes apresentaram envolvimento pulmonar grave que foi definido pela evidência de insuficiência respiratória aguda. Dois fatores foram relacionados ao envolvimento pulmonar grave: dispnéia e oligúria / anúria.

2.5 Hemorragia pulmonar induzida por exercício

Os distúrbios do sistema respiratório podem ocupar o segundo lugar, atrás dos distúrbios do sistema músculo-esquelético, na limitação do desempenho atlético dos equinos. Ocorrem

grandes perdas econômicas quando os programas de treinamento de equinos são interrompidos em razão de enfermidades respiratórias (REED; BAYLY, 2000).

A hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) é uma das principais causas de redução no desempenho atlético de cavalos de corrida, principalmente nos da raça Puro Sangue Inglês, sendo a influência no rendimento proporcional ao grau de sangramento (BACCARIN, 2005). Sem dúvida alguma HPIE severa resulta em queda de desempenho atlético, e em ocasiões raras, pode levar a morte (GUNSON et al., 1988). Também é fato que muitos cavalos com queda de desempenho possuem evidências citológicas de HPIE no lavado traqueobrônquico (LT) ou lavado bronco-alveolar (LBA), ou possuem sangue evidente ao exame endoscópico 30 a 90 minutos após exercício extenuante ou corrida (MARLIN et al, 1993).

Dispnéia respiratória é rara em cavalos com HPIE e quando presente indica hemorragia severa ou outras doenças pulmonares como pneumonia, pneumotórax ou ruptura de abscesso pulmonar. Sons pulmonares anormais estão presentes em um pequeno número de cavalos com HPIE e caracterizam-se pelo aumento da intensidade de sons respiratórios normais durante o período de recuperação após exercício (O'CALLAGHAN et al., 1987).

A prevalência da HPIE aumenta com a idade, porém não tem sido observada relação com o sexo do animal (COUETIL; HINCHCLIFF, 2004). Existe uma relação direta entre o aumento da prevalência da HPIE e o aumento da velocidade alcançada pelos animais, sendo que as lesões da HPIE não são detectadas em cavalos PSI jovens que não tenham treinado em velocidades acima 7 m/s (RAPHEL; SOMA, 1982; OIKAWA, 1999).

Inúmeras hipóteses têm sido apresentadas para explicar a origem do sangramento dos cavalos. Publicações passadas relatavam a presença de epistaxe após corrida e acreditava-se que o sangramento era originário da cabeça ou da cavidade nasal. Cook (1974) mencionou que a presença de sangue nas narinas e traquéia dos cavalos era provavelmente originada dos pulmões. Pascoe et al., (1981) confirmaram estes achados e sugeriram que o termo HPIE (hemorragia pulmonar induzida pelo exercício) deveria ser utilizado para descrever a presença de sangue nas vias aéreas associada ao exercício.

De acordo com Ramsel et al. (2001) o grau da HPIE está relacionada com a pressão arterial pulmonar e pode exacerbar-se quando o animal se exercita em percurso inclinado em relação ao plano. A causa da hipertensão pode estar relacionada com a enorme potência

desenvolvida pelo coração durante o esforço e estar associada com a máxima distensão e recrutamento dos capilares.

A falência por estresse dos capilares pulmonares pode ser considerada a origem do sangramento na HPIE (LAGSETMO et al., 2000). A ruptura dos vasos sanguíneos, responsável pela origem do sangue na HPIE, é ocasionada pelo enfraquecimento dos capilares vasculares por doenças pulmonares primárias (O'CALLAGHAN et al., 1987). No entanto, HPIE também é relatada em animais jovens sem evidências de doença pulmonar prévia (OIKAWA, 1999). Foi relatada alta pressão vascular pulmonar em equinos em exercício. Esta pressão combinada com o aumento do esforço inspiratório acarretaria a falência por estresse dos capilares pulmonares (MANOHAR; GOETZ, 1999).

Outras causas são mencionadas, como os processos obstrutivos das vias aéreas anteriores (COOK et al., 1988), coagulopatias, doença das pequenas vias aéreas, hiperviscosidade induzida por exercício (FEED; WOOD, 1993), alta pressão sanguínea atribuída ao aumento do débito cardíaco (PASCOE et al., 1986), redistribuição do fluxo sanguíneo durante o exercício (BERNARD et al., 1996) e trauma mecânico resultante do impacto do movimento (SCHROTER et al., 1998, 1999). Derksen et al., (2009) sugerem que a remodelação venosa na região dorso caudal do pulmão desempenham um papel importante na patogênese da HPIE.

Exame traqueobroncoscópico logo após a corrida é uma técnica bem aceita para detectar a HPIE e tem sido muito utilizada (PASCOE et al., 1981; BURREL, 1995). Traqueobroncoscopia pode ser utilizada para estimar a severidade da HPIE usando um sistema de graduação. O sistema de graduação primeiramente utilizado por Pascoe et al. (1981) foi alterado (Pascoe et al., 1985) e preconiza uma escala de quatro níveis, a qual varia de zero (ausência de sangue) a três (filete de sangue maior que 5mm de largura). Uma modificação recente do sistema de graduação destes foi sugerida por Hinchcliff et al. (2005) sendo o grau zero caracterizado por ausência de sangue na faringe, laringe, traquéia ou brônquio principal, visualizado da bifurcação traqueal; grau um por presença de um ou mais filetes de sangue, menor de $\frac{1}{4}$ do comprimento da traquéia, na traquéia ou base do brônquio principal visualizando da bifurcação traqueal; grau dois presença de longo filamento de sangue (maior do que metade do comprimento da traquéia) ou dois pequenos filamentos de sangue ocupando menos do que $\frac{1}{3}$ da circunferência da traquéia; e grau três definido pela presença de vários filamentos e placas de sangue cobrindo mais do que $\frac{1}{3}$ da circunferência traqueal, entretanto, sem formações de reservatórios na passagem torácica. O nível

mais avançado, grau quatro, caracteriza-se por múltiplas placas de sangue cobrindo mais de 90% da superfície traqueal e presença de reservatórios de sangue na passagem torácica, podendo apresentar ou não epistaxe.

2.5.1 HPIE e repercussão no desempenho atlético

Repetidos episódios da HPIE pode ter um impacto negativo no desempenho do animal, resultado de injúrias constantes nos pulmões. Devido à progressão natural e crônica, danos permanentes nos pulmões podem ocorrer muitas vezes secundariamente à resposta inflamatória local, com presença de hemossiderófagos intersticiais e aumento da deposição de tecido conjuntivo. Hemossiderófagos, fibrose e destruição do parênquima pulmonar podem ocorrer secundariamente à prévia hemorragia, pela presença de hemácias no interstício pulmonar, desencadeando processo inflamatório pelos macrófagos. Um aumento da celularidade pode também diminuir a complacência pulmonar. A proliferação da vascularização bronquial nessas áreas pode estar presente devido uma resposta inflamatória normal. O resultado da resposta inflamatória causada pelo sangue pode ter mais impacto no desempenho do que a presença deste nas vias aéreas (BIRKS et al., 2003).

2.6 Tratamento

O controle da leptospirose em equinos é baseado no tratamento dos animais infectados com antimicrobianos parenterais e na vacinação do rebanho com bacterinas específicas (PINNA et al., 2007). Segundo GERRITSEN et al. (1994) o tratamento é importante, pois elimina o estado de portador renal, diminuindo a fonte de infecção e conseqüentemente a exposição de animais não infectados com o agente.

Vários protocolos com antimicrobianos foram descritos para o tratamento da leptospirose, como penicilina benzatina (20.000 UI/kg), via intramuscular (IM), a cada 48 horas, por três aplicações; penicilina associada á estreptomicina (20 mg/kg), via IM, repetindo o tratamento após 7 e 14 dias; diidroestreptomicina (12 mg/kg) via IM a cada 12 horas, durante três dias seguidos; diidroestreptomicina (25 mg/kg) via IM em dose única ou com repetições após três e

cinco dias; ou oxitetraciclina (40 mg/kg) via IM, uma vez ao dia durante três ou cinco dias (RADOSTITS et al., 2002).

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Identificar a sororeatividade para leptospirose em cavalos atletas e avaliar sua associação com a ocorrência de hemorragia pulmonar induzida por exercício e com o desempenho atlético destes animais.

3.2 Objetivos específicos

- Detectar por métodos sorológicos a presença de aglutininas anti-*Leptospira* em equinos atletas durante o período de treinamento e competição.
- Correlacionar a sororeatividade destes animais com a hemorragia pulmonar induzida por exercício.
- Correlacionar a sororeatividade destes animais com o desempenho atlético.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Estudou-se 180 equinos adultos mantidos em treinamento no Jockey Clube Brasileiro, Rio de Janeiro. De todos os animais realizou-se avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-*Leptospira*. A colheita de sangue para exames sorológicos foi realizada antes do início do exercício e a avaliação clínica foi realizada antes, durante e após o mesmo exercício, no mesmo dia. Em todos os animais realizaram-se ainda as endoscopias das vias aéreas superiores, 30 minutos após o exercício. Dos 90 animais que se mostraram sororeativos apenas 37 foram tratados e estes também foram acompanhados por sorologia e endoscopia após o tratamento.

4.2 Animais

Foram estudados 180 cavalos atletas, com idade variando entre dois e seis anos, não vacinados para leptospirose, de ambos os sexos e mantidos em cocheiras no Jockey Clube Brasileiro do Rio de Janeiro/RJ. Os animais eram todos da raça Puro Sangue Inglês (PSI) e as amostras foram posteriormente classificadas de acordo com a sororeatividade para leptospirose.

Os animais utilizados na pesquisa foram submetidos à anamnese detalhada buscando identificar sinais sugestivos da doença. Em seguida realizou-se, após a colheita das amostras sanguíneas, exame físico com a observância dos parâmetros de comportamento/atitude, estado nutricional, apetite, pelagem, presença de ectoparasitos, classificação da secreção nasal e mucosa, turgor cutâneo, retração de globo ocular, palpação de linfonodos, aferição de temperatura retal, pulso e tempo de preenchimento capilar, ausculta digestiva, pulmonar e cardíaca, e um exame clínico específico do sistema musculoesquelético. A avaliação clínica foi realizada antes e após o exercício. O desempenho atlético foi avaliado baseado no desempenho na raia no treinamento e com base nos registros das apresentações em corrida, colocações e vitórias.

Neste estudo não foi realizado o isolamento bacteriano, que é considerado o padrão ouro para o diagnóstico da leptospirose, uma vez que os responsáveis pelos animais não permitiram a colheita de amostras de urina para o processamento microbiológico. Acredita-se que tal recusa deva-se em parte à utilização da mesma amostra para a realização de testes anti-*doping*.

4.3 Análise sorológica

As amostras de sangue foram colhidas da via jugular do animal em repouso em tubos de vácuo pela punção na veia jugular. Em seguida, estas foram transportadas até o laboratório, onde foram centrifugadas e o soro foi estocado em tubos plásticos Eppendorf® a -20° C para posterior análise. O diagnóstico sorológico para leptospirose foi realizado de acordo com a recomendação técnica da Organização Mundial de Saúde, pela técnica da soroaglutinação microscópica com antígenos vivos e leitura em microscópio equipado com condensador de campo escuro, conforme Lilenbaum; Santos (1995). Utilizou-se como antígenos a coleção do Laboratório de Bacteriologia Veterinária do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal Fluminense, composta de 22 serovares distintos de leptospiras, representando 16 sorogrupos (Tabela 1). Todas as amostras com atividade aglutinante em diluição 1:50 foram posteriormente testadas contra o antígeno reativo usando diluições em série de razão dois até que o título mais alto fosse obtido, a fim de identificar o serovar infectante. Para caracterização de sororeatividade, consideraram-se como reativas as amostras com título ≥ 200 , enquanto amostras com títulos ≤ 100 foram consideradas negativas.

Tabela 1: Amostras de leptospiras utilizadas como antígenos para o diagnóstico sorológico de leptospirose em 180 equinos atletas.

Sorogrupo	Serovar	Amostra Referência
AUSTRALIS	Australis	Ballico
	Bratislava	Jez bratislava
AUTUMNALIS	Autumnalis	Akiyami A
	Butembo	Butembo
BALLUM	Ballum	Mus 127
	Castellonis	Castellon 3
BATAVIAE	Bataviae	Van Tienen
CANICOLA	Canicola	Hond Utrecht IV
CELLEDONI	Whitcombi	Celledoni
CYNOPTERI	Cynopteri	3522 C
GRIPPOTYPHOSA	Grippotyphosa	Moskva V
HEBDOMADIS	Hebdomadis	Hebdomadis
ICTEROHAEMORRHAGIAE	Icterohaemorrhagiae	RGA
	Copenhageni	M 20
JAVANICA	Javanica	Veldrat Batavia 46
PANAMA	Panama	CZ 214 K
POMONA	Pomona	Pomona
PYROGENES	Pyrogenes	Salinem
SEJROE	Hardjo	Hardjoprajitno
	Hardjo	Hardjobovis
	Wolffi	3705
TARASSOVI	Tarassovi	Perepelicin

4.4 Endoscopia das vias aéreas superiores

A endoscopia das vias aéreas superiores foi realizada 30 minutos após o exercício intenso (corrida). O animal era mantido em posição quadrupedal, devidamente contido com ajuda de um auxiliar veterinário e de um cavaliário. Sedativos não foram utilizados na realização destes exames.

A avaliação do trato respiratório anterior foi realizada com fibroscoposcópio flexível Olympus, GIF, tipo CF-P20L de 1,60m de comprimento com 14 mm de diâmetro e uma fonte de luz halógena de 15 v/150 W. Esta se iniciou com a introdução de sonda endoscópica no conduto nasal, seguindo pelo meato nasal, região da nasofaringe, faringe, laringe, traquéia e carina.

No momento em que se introduzia a sonda endoscópica vagorosamente pelo meato nasal ventral direito inspecionava-se a concha nasal ventral e dorsal, meato comum e septo nasal. À medida que a sonda avançava, observavam-se as conchas etmoidais e a faringe caudalmente. Na faringe foi realizada uma avaliação anátomo-funcional do palato mole, óstios faríngeos da tuba auditiva, lúmen faríngeano e recesso faríngeano. A mesma avaliação foi realizada na laringe, inspecionando a epiglote, cartilagens aritenóideas, lúmen laringeano e cordas vocais. Após a passagem da sonda pela *rima glotis*, realizava-se a inspeção do lúmen traqueal, observando a presença de secreções ou sujidades. Quando a sonda era posicionada próximo à carina, os brônquios principais direito e esquerdo e seus primeiros segmentos eram visualizados. Na retirada da sonda, as estruturas eram reavaliadas na seqüência inversa.

A avaliação da HPIE foi feita de acordo com a tabela proposta por Hinchcliff et al. (2005). Nesta, o grau zero é caracterizado por ausência de sangue na faringe, laringe, traquéia ou brônquio principal, visualizado da bifurcação traqueal; grau um por presença de um ou mais filetes de sangue, menor de $\frac{1}{4}$ do comprimento da traquéia, na traquéia ou base do brônquio principal visualizando da bifurcação traqueal; grau dois presença de longo filamento de sangue (maior do que metade do comprimento da traquéia) ou dois pequenos filamentos de sangue ocupando menos do que $\frac{1}{3}$ da circunferência da traquéia; e grau três definido pela presença de vários filamentos e placas de sangue cobrindo mais do que $\frac{1}{3}$ da circunferência traqueal, entretanto, sem formações de reservatórios na passagem torácica. O nível mais avançado, grau quatro, caracteriza-se por múltiplas placas de sangue cobrindo mais de 90% da superfície traqueal e presença de reservatórios de sangue na passagem torácica, podendo apresentar ou não epistaxe.

4.5 Tratamento

Aos animais sororeativos foi proposto o tratamento específico baseado na aplicação da associação de penicilina G procaína e estreptomicina (penstrep®) 20 mg/kg, na dose de 25 mL, dose única, pela via intramuscular, os parâmetros clínicos foram avaliados no dia do início da antibioticoterapia, (d0), e 15 (d15) e 45 dias (d45) após seu termino.

4.6 Análise estatística

A significância da frequência de observação dos sinais clínicos e sua diferença entre os dois grupos estudados e a eficácia do tratamento foram avaliadas pelo teste não-paramétrico do χ^2 (qui-quadrado), considerando significativo quando $p < 0,05$.

A significância da severidade da HPIE e sua diferença entre d0 antes do tratamento e d15 e d45 após tratamento foi avaliada pelo teste exato de Fisher's, considerando significativo quando $p < 0,05$.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, verificou-se a presença de aglutininas anti-leptospiras em soro de 90 equinos, sendo Copenhageni o serovar mais frequente, em 79 amostras, ou 87,7% dos reativos. Tal serovar é membro do sorogrupo Icterohaemorrhagiae e ambos são morfológica e geneticamente semelhantes (MAJED et al., 2005). Desta forma, os resultados deste estudo concordam com vários estudos realizados em equinos no Brasil, como Giorgi et al. (1981), Lilenbaum (1998), Langoni et al. (2004) e Linhares et al. (2005), que apontam o serovar Icterohaemorrhagiae como sendo o mais frequente em equinos.

Segundo Girio et al., (1994) Copenhageni tem importância como agente etiológico da leptospirose equina tanto em casos assintomáticos como sendo responsável por transtornos reprodutivos em fêmeas. Uma vez que Copenhageni tem como seu hospedeiro natural os ratos (*Rattus norvegicus*), acredita-se que esta espécie provavelmente esteja agindo como transmissora do serovar aos equinos.

As vilas hípcas do Jockey Clube do Rio de Janeiro oferecem múltiplas formas para a viabilidade, permanência e transmissão da leptospirose devido a características favoráveis do ambiente, do manejo e das instalações. Os resultados do presente estudo sugerem que as leptospiras chegam ao meio ambiente principalmente pela urina de roedores, e que esses agentes encontraram condições para sobreviver e meios para alcançar um equino suscetível nas coleções de águas paradas, representadas por áreas alagadiças (duchas coletivas), bebedouros e reservatórios de água não higienizados periodicamente. No Rio de Janeiro, 30% da população de *Rattus norvegicus* foi demonstrada como portadora de leptospiras, com predominância para o serovar Icterohaemorrhagiae (LILENBAUM et al., 1993).

No presente estudo foram evidenciadas alterações clínicas compatíveis com a leptospirose em 42 (53,2%) animais sororeativos. Uma vez que foi demonstrado que o agente predominante foi Copenhageni, este não é um achado inesperado. Copenhageni não é um serovar adaptado à espécie eqüina, e desta forma infecções por tal estirpe são sabidamente mais associados à presença de sinais clínicos agudos e à ocorrência de surtos em equinos (FAINE et al., 2000). No entanto, 37 (46,8%) animais sororeativos não apresentaram alterações clínicas dignas de nota. Destes, 34 (80,9%) são animais mais velhos (entre 5 e 6 anos) e com longo tempo de permanência no Jockey Clube do Rio de Janeiro. Uma vez que estes animais estiveram expostos

ao agente há mais tempo, sugere-se que estes animais apresentem uma forma crônica da infecção, caracterizada por sintomatologia branda, o que já foi intensamente descrito na literatura especializada (PESCADOR et al, 2004; LINHARES et al, 2005).

Analisando os dados obtidos sobre os sinais clínicos dos animais sororeativos, constatou-se que os mais freqüentes foram dificuldade em ganhar peso, inapetência, queda de desempenho atlético, lacrimejamento exacerbado e hiperemia ótica, icterícia, apatia e opacidade de pelos. Estas alterações foram significativas para os animais sororeativos para leptospirose em relação os animais soronegativos.

Inapetência e apatia, citados por Williams (1968) e por Carvalho et al. (2006) como sintomas associados a casos de leptospirose também foram registrados entre os animais sororeativos do presente estudo. Dos 32 (40,5%) animais sororeativos que apresentaram dificuldade de ganhar peso, 24 (30,4%) tinham inapetência, achados similares aos reportados por Williams (1968).

A opacidade de pelo foi vista em 33 (41,8%) animais sororeativos e em dois (2,2%) dos animais soronegativos. Apesar de não haver na literatura especializada referencia específica á associação de leptospirose com opacidade de pelos, sabe-se que animais que apresentam alguma alteração patológica ficam com pêlos descolorados, quebradiços e grosseiros (TORRES; JARDIM, 1987).

Apesar de não ter sido verificada no presente estudo a ocorrência de mialgias, sabe-se que a anemia associada á leptospirose pode levar a uma queda da capacidade muscular dos cavalos acometidos (TROWBRIDGE et al, 1981).

Tanto a icterícia como a hiperemia ótica e lacrimejamento exacerbado estiveram fortemente associadas com a sororeatividade a leptospirose, pois a totalidade dos equinos que apresentou tais sinais clínicos se mostrou sororeativo. A icterícia e a hiperemia ótica são achados decorrentes da hemólise e lesão endotelial (DAHER et al., 2002; WAGENAAR et al., 2007). A icterícia também foi associada à sororeatividade para leptospirose em equinos por diversos autores como Williams (1968); Van den Ingh et al. (1989); Hong et al. (1993); Hunter; Herr (1994) e Carvalho et al. (2006). Já no que se refere ao lacrimejamento aumentado e á hiperemia ótica, estes foram descritos como sinais característicos da uveíte causada pela leptospira (GELLAT, 2003).

No momento do exame clínico dos animais não foi constatada a ocorrência de febre, depressão, anorexia ou alterações neurológicas, mas em diferentes estudos tais sinais foram descritos, estando geralmente associadas a surtos agudos da infecção (WILLIAMS, 1968; VAN DEN INGH et al. 1989; DIVERS et al. 1992; HONG et al. 1993; HUNTER; HERR 1994; CARVALHO et al. 2006).

Apenas quatro (4,4%) animais sororeativos para leptospirose se apresentaram letárgicos, e este achado não apresentou significância em relação a sororeatividade. Tal achado não parece ser freqüente, e foi relatada por Divers et al. (1992) em um garanhão puro sangue inglês com diagnóstico de leptospirose aguda.

Tanto a claudicação como a diarreia não apresentaram significância nos animais sororeativos, o que corrobora os achados da literatura, visto que não se encontram relatos na literatura relacionando tais sinais à leptospirose. Já a queda do desempenho atlético foi uma das principais queixas, quando se trata de animais de competição. Todos os animais que apresentaram queda do desempenho apresentaram alguma alteração clínica compatível com a leptospirose.

Existem várias especulações sobre os fatores etiológicos da HPIE no equino atleta, e uma variedade de fatores têm sido sugeridas como causadores ou influenciadores. Dos animais estudados 16 (20,2%) dos animais sororeativos apresentaram HPIE, assim como 10 (11,1%) dos equinos soronegativos para leptospirose. A HPIE é bastante comum em equinos de esporte, visto que relatos indicam que 75 a 90 % dos cavalos de corrida da raça Puro Sangue Inglês apresentam tal alteração, em diferentes graus de sangramento, pelo menos em algum momento da vida (EPPINGER, 1990).

Considerando-se o grau da HPIE nos 16 animais sororeativos ao serovar Copenhageni, 11 (68,7%) apresentaram grau 4, sendo que sete (43,7%) destes animais apresentaram aumento do grau da HPIE e epistaxe mesmo após exercício leve. Devido a existência de outras causas de epistaxe, o exame endoscópico das vias aéreas garante o diagnóstico definitivo. O exame é melhor realizado entre 30 a 90 minutos após o exercício (SWEENEY;REILLY, 2001). De acordo com Maroto et al. (1999) uma das manifestações hemorrágicas mais comumente observadas em humanos com leptospirose é a epistaxe. Apesar da ocorrência de hemorragia pulmonar, verificada pela broncoscopia, não foi constatado desconforto respiratório nos animais. Tal manifestação é pouco frequentemente associada à leptospirose, embora Van den Ingh et al.

(1989) tenham relatado a morte de 12 potros com pneumonia hemorrágica associada á leptospirose.

Dentre os 37 animais submetidos á antibioticoterapia específica, verificou-se que estes apresentaram após o tratamento melhora significativa nos parâmetros clínicos. Pinna et al. (2007) também observaram declínio na ocorrência de alterações reprodutivas como abortamentos, morte embrionária e neonatal associadas á leptospirose após a introdução de antibioticoterapia específica (dihidroestreptomicina 25mg/Kg PV em dose única). Segundo Gerritsen et al. (1994) o tratamento dos animais infectados é importante, pois elimina o portador renal, diminuindo a fonte de infecção e conseqüentemente a exposição de animais não infectados com o agente.

O uso da associação de penicilina com estreptomicina na dosagem única de 25 mg/kg foi suficiente para controle da doença. Com o tratamento os animais melhoraram seu desempenho atlético e os prejuízos econômicos causados pela leptospirose foram consideravelmente reduzidos. Com o tratamento, os animais voltaram a se alimentar normalmente tendo um aumento de peso significativo médio de 10 kg, tendo mostrado estado geral mais saudável, com pêlos brilhantes e estado mais ativo.

Em relação à hemorragia pulmonar, sete (43,7%) cavalos apresentaram aumento do grau da HPIE mesmo após exercício leve. Acredita-se que a fisiopatogenia da HPIE em equinos esteja associada a um aumento da pressão arterial pulmonar. Assim, a alta pressão vascular pulmonar verificada durante o exercício físico, combinada com o aumento do esforço inspiratório, acarretaria a falência por estresse dos capilares pulmonares levando a HPIE (MANOHAR; GOETZ, 1999). Oikawa (1999) sugere que a intensidade do exercício é um fator importante na patogênese da HPIE. Após o tratamento específico da leptospirose, verificou-se uma diminuição significativa no grau da hemorragia. Desta forma, sugere-se que o aumento do sangramento teria sido influenciado pela doença uma vez que a lesão tecidual primordial da leptospirose parece ser a lesão endotelial, levando à fragilidade capilar, vasculite e consequentes hemorragias nos tecidos (AREAN, 1962).

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que, em animais sororeativos para serovar Compenhageni com sintomatologia clínica, a presença de aglutininas anti-leptospiras observadas por meio do teste de soroaglutinação microscópica foi conclusiva para o diagnóstico da doença, além de alertar para o risco iminente de perdas econômicas bastantes significativas, somando-se à gravidade de um problema de Saúde Pública.

Todos os animais com queda no desempenho atlético apresentaram alguma alteração clínica compatível com a leptospirose.

Sugere-se que a leptospirose interfira no aumento do grau da HPIE, estudos focados na interação das duas enfermidades devem ser desenvolvidos para melhor esclarecimento das alterações ocorridas nos indivíduos.

Os animais que foram tratados com antibioticoterapia melhoraram a saúde e o rendimento após tratamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUCHAIM, D.M. Presença de aglutininas anti-*Leptospira* em soro de equinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.19, p.9-14, 1991.

AREAN, V. M. The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). **American Journal of Pathology**, v.40, p.393-423, 1962.

ATHANAZIO, D.A; SILVA, E.F; SANTO, C.S; ROCHA, G.M; VANNIER-SANTOS, M.A; MCBRIDE, A.J; KO, A.I; REIS, M.G. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. **Acta Tropica**, v.105, n.2, p.176-180, 2008.

BACCARIN, R.Y.A. Diagnóstico e tratamento das pneumopatias de esforço. In: **Simpósio Internacional do Cavalo atleta - SIMCAV**, 4º, 2005. Belo Horizonte. Anais.: p. 12-28.

BALDWIN, C. J; AYKINS C. E. Leptospirosis in dogs. **Compendium Small Animals**, v. 9, n.5, p. 499-506, 1987.

BARANTON, G; OLD, I. G. The spirochetes: a different way of life. Bull. **Instituto Pasteur**, v.93, p.63-95, 1995.

BARBOSA, M. Aglutininas e lisinas anti-leptospira em soros de bovinos, equinos e suínos - Minas Gerais. **Arquivo Escola de Veterinária UFMG**, v.14, n.1, p.1-26, 1962.

BAROCCHI, M.A; KO, A.I; REIS, M.G; McDONALD, K.L; RILEY, L.W. Rapid translocation of polarized MDCK cell monolayers by *Leptospira interrogans*, an invasive but nonintracellular pathogen. **Infection and Immunity**, v.70, p.6926-6932, 2002.

BAVERUD, V; GUNNARSSON, A; ENGVALL, E.O; FRANZÉN, P; EGENVALL. *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.51, n.15, p.1-10, 2009.

BERNARD, S; GLENNY, R; ERICKSON, H; FEDDE, M; POLISSAR, N; BASARABA, R; HLASTALA, M. Minimal redistribution of pulmonary blood flow with exercise in racehorses. **Journal of Applied Physiology** v.81, p.1062-1070, 1996.

BHARTI, A.R; NALLY, J.E; RICALDI, J.N. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infectious Diseases**, v.3, p.757-771, 2003.

BIRKS, E.K; DURANDO, M.M.; MCBRIDE, S. Exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.19, p.87-100, 2003.

BLENDEN, D.C. Aspectos epidemiológicos de la leptospirosis. In: 8ª Reunion Interamericana sobre el Controle de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis, Guatemala, 1975. Publicacion Científica 316, Organizacion Panamericana de La Salud, Washington, p.160-168, 1976.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – 6. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2005, 816 p.

BRENNER, A.F; KAUFMANN, KR; SULZER, AG; STEIGERWALT, FC; ROGERS, RS. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp nov and four new *Leptospira* genomospecies, **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.49, p.839–858, 1999.

BURREL, M. H. Endoscopic and virological observations on respiratory disease in a group of young thoroughbred horses in training. **Equine Veterinary Journal**, v. 17, n. 2, p. 99-103, 1995.

CARVALHO, J.E.M. **Comprometimento pulmonar na leptospirose [tese]**. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense; 1989.

CARVALHO, J.E.M; MARCHIORI, E.S; SILVA, J.B.G. Comprometimento pulmonar na leptospirose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.25, p.21-30, 1992.

CARVALHO, B.R; FREITAS, P.F.A; MORAES, G.P; BASTOS, J.E.D; LIMA, A.M.C; MUDIM, A.V. Manifestações clínicas de leptospirose equina no Distrito de Cruzeiro dos peixotos de Uberlândia-MG-relato de caso. **Veterinária Notícia**, Uberlândia, v.12, n.2, p.107, 2006.

COOK, W. R. Epistaxis in the racehorse. **Equine veterinary. Journal**, v. 6, p. 45-48, 1974.

COOK, W.R; WILLIAMS, R.M; KIRKER-HEAD, C.A. Upper airway obstruction (partial asphyxia) as the possible cause of exercise-induced pulmonary hemorrhage in the horse: An hypothesis. **Journal Equine Veterinary Science**, v.8, p.11-26, 1988.

CORDEIRO, F.; RAMOS, A.A.; BATISTA, J.A. Aglutininas antileptospira em soros equinos de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Série veterinária, v. 9, n. 7, p. 45-48, 1974.

CORRÊA, M.O.A; AMATO NETO, V; VERONESI, R; FABBRI, O.S. Leptospiroses em equinos: inquérito sorológico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.15, p.186-193, 1955.

COUETIL, L.L; HINCHCLIFF, K.W. Non-infectious diseases of the lower respiratory tract., in **Equine Sports Medicine and Surgery**. Hinchcliff, K.W; Kaneps, A.J; Geor, R.J, Editors: Saunders: Edinburgh, p.613-656, 2004.

DAHER, E.F; OLIVEIRA NETO, F.H; RAMIREZ, S.M.P. Evaluation of hemostasis disorders and anticardiolipin antibody in patients with severe leptospirosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, n. 2, p. 85-90, 2002.

DE LA PENA-MOCTEZUMA, A., D. M. BULACH, T. KALAMBAHETI, AND B. ADLER. Comparative analysis of the LPS biosynthetic loci of the genetic subtypes of serovar Hardjo: *Leptospira interrogans* subtype Hardjoprajitno and *Leptospira borgpetersenii* subtype Hardjobovis. **FEMS Microbiology Letters**, v.177, p.319–326, 1999.

DERKSEN, F.J; WILLIAMS, K.J; PANNIRSELVAM, R.R; DE FEIJTER-RUPP, H; STEEL, C.M; ROBISON, N.E. Regional distribution of collagen and haemosiderin in the lungs of horses with exercise-induced pulmonary haemorrhage. **Equine Veterinary Journal**, v.41, n.6, p.586-591, 2009.

DIVERS, T.J; BYARS, T.D; SHIN, S.J. Renal dysfunction associated with infection of *Leptospira interrogans* in horse. **Journal of the American Veterinary Medical association**, v.201, n.1, p.1391-1392, 1992.

ELLIS, W.A; O'BRIEN, J.J; CASSELS, J.A; MONTGOMERY, J. Leptospiral infections in horses in Northern Ireland. Serological and microbiological findings. **Equine Veterinary Journal**, v.15, n.4, p.317-20, 1983.

ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. In: MILLER, R.B. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v.10, p.463-476, 1994.

EPPINGER, M. Hemorragia pulmonar de esforço e o desempenho de equinos PSI (*Equus caballus*) em corridas no Jockey Club do Paraná. 1990. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

FAINE, S., ADLER, B., BOLIN, C., PEROLAT, P. *Leptospira* and Leptospirosis. MedSci, Melbourne, Austrália, 2nd Ed., 2000.

FAVERO, A.C.M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Serovares de leptospirosas predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 613–619, 2002.

FEDDE, M.R; WOOD, S.C. Rheological characteristics of horse blood: significance during exercise. **Respiratory physiology**, v.94, p.323-335, 1993.

GELLAT, K.N. Oftalmologia eqüina. In: _____. **Oftalmologia veterinária**. 3. ed. São Paulo; Manole, p. 365-369, 2003.

GERRITSEN, M.J; KOOPMANS, M.J; PETERSE, D; OLYHOEK, T. Effective treatment with dihydrostreptomycin of naturally infected cows shedding *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjobovis. **American Journal of Veterinary Research**, v.55, n.3, p.339-343, 1994.

GIORGI, W; TERUYA, J.M; MACRUZ, R; GENOVEZ, M.E; SILVA, A.S; BORGIO, F. Leptospirose em equinos: inquérito sorológico e isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* de feto abortado. **Instituto Biológico São Paulo**, v.47, n.2, p.47-53, 1981.

GIRIO, R.J.S. Leptospirose experimental em eqüinos infectados com o sorotipo Compenhageni. Aspectos sorológicos, hematológicos, bioquímicos e anatomo-patológicos. Jaboticabal-SP, 1994. Tese (Livre Docência) FCAV/ UNESP.

GONÇALVES, A.J.R; CARVALHO, J.E.M; SILVA, J.B.G. Hemoptises e síndrome de angústia respiratória aguda como causa de morte na leptospirose. Mudança dos padrões clínicos e anatomo-patológicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.25, p.261-70, 1992.

GOUVEIA E; METCALFE, J; DE CARVALHO, A.L.F.; AIRES, T.S.F; VILLASBOAS-BISNETO, J. C; QUEIRROZ, A; SANTOS, A.C.; SALGADO, K; REIS, M.G.; KO, A. Leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 505-508, 2008.

GREENE, C. E. Doenças bacterianas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (orgs.) **Tratado de medicina interna veterinária**. São Paulo: Manole, 2004, cap.66. p. 410-421.

GUNSON, D.E; SWEENEY, C.R; SOMA, L.R. Sudden death attributable to exercise-induced pulmonary hemorrhage in racehorses: nine cases (1981-1983). **Journal American Medical Association**, v.193, n.1, p.102-106, 1988.

GUYTON, A.C. Divisão dos líquidos corporais: equilíbrios osmóticos entre líquidos extracelulares e intracelulares. In: _____ **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara S.A., cap. 33, p. 338-347, 1981.

HAAKE, D. A; CHAO,G; ZUERNER, R.L; BARNETT, J.K; D. BARNETT, D; MAZEL, M; MATSUNAGA, LEVETT, J.P.N; BOLIN, C.A. The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v.68, p.2276-2285, 2000.

HARTSKEERL, R.A; GORIS, M.G.A; BREM, S; MEYER, P; KOPP, H; GERHARDH, S; WOLLANKE, B. Classification of *Leptospira* from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 51, n. 3, p. 110-115, 2004.

HEATH, S. E; JOHNSON, R. Leptospirosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.205, n.11, p.1518-1523, 1994.

HINCHCLIFF, K.W; JACKSON, M.A; BROWN, J.A; DREGDE, A.F; O'CALLAGHAN, P.A; MCCAFFREY, J.P; MORLEY, P.S; SLOCOMBE, R.F; CLARKE, A.F. Tracheobronchoscopic assessment of exercise-induced pulmonary hemorrhage in Thoroughbred race horses. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.6, p.596-598, 2005.

HONG, C.B; DONAHUE, J.M; GILES, R.C; PETRITES-MURPHY, M.B; POONACHA, K.B; ROBERTS, A.W; SMITH, B.J; TRAMONTIN, R.R; TUTTLE PA; SWERCZEK T.W. Equine abortion and stillbirth in central Kentucky during 1988 and 1989 following seasons. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.5, p. 560-566, 1993.

HUNTER, P; HERR, S. Leptospirosis. In: COETZER, J.A.W.; THOMSON, G.R.; TUSTIN, R.C. **Infection and Disease of Livestock**. Oxford: Oxford University, 1994. cap. 2, p. 997-1008.

JOUGLARD, S. D. D; BROD, C. S. Leptospirose em case: prevalência e fatores de risco no meio rural do Município de Pelotas, RS. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, n. 2, p. 181-185, 2000.

KO, A. I; REIS, M.G; DOURADO, C.R, JOHNSON, W.D; RILEY, L.W, and the Salvador Leptospirosis Study Group. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. **The Lancet**, v. 354, p.820-825, 1999.

LANGONI, H; DA SILVA, A.V; PEZERICCO, S.B; DE LIMA, V.Y. Anti-leptospirose agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goiás, and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.10, n.3, p.207-218, 2004.

LANGSETMO, I; MEYER, M; ERICKSON, H. Relationship of pulmonary arterial pressure to pulmonary hemorrhage in exercise horses. **Equine Veterinary Journal**, v.32, p. 379-384, 2000.

LÉON, A; PRONOST, S; TAPPREST, J; FOUCHER, N; BLANCHARD, B; ANDRÉ-FONTAINE, G; LAUGIER, G; LECLERCQ, R. Identification of pathogenic *Leptospira* strains in tissues of a premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. **The Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, n. 18, p. 218-221, 2006.

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

LEVETT, P.N; MOREY, R.E; GALLOWAY, R; STEIGERWALT, A.G; ELLIS W.A. Reclassification of *Leptospira parva* Hovind-Hougen *et al.* 1982 as *Turneriella parva* gen. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n.55, p.1497-1499, 2005.

LILENBAUM, W; RIBEIRO, V; MARTIN, E; BISPO, V. Estudo sorológico para detecção de anticorpos anti-leptospira em *Rattus norvegicus* de Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Latino-Americana de Microbiologia**, v.35, p.357-60, 1993.

LILENBAUM, W; SANTOS, M.R.C. Effect of Management Systems on the prevalence of Bovine Leptospirosis. **The Veterinary Record**, v. 138, p. 570-571, 1995.

LILENBAUM, W. Leptospirosis on animal reproduction: IV. Serological findings in mares from six farms in Rio de Janeiro, Brazil (1993-1998). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.2, p.61-63, 1998.

LILENBAUM, W; VARGES, R; RISTOW, P. C. L. V. B; CORTEZ, A; SOUZA, S.O; RICHTZENHAIN, L; VASCONCELLOS, S. A. Identification of *Leptospira* spp. carriers among seroreactive goats and sheep by Polymerase Chain Reaction. **Research in Veterinary Science**, v. 87, p. 16-19, 2009.

LINHARES, G. F. C; GIRIO, R. J. S; LINHARES, D. C. L; MONDEIRO, L. C. M; OLIVEIRA, A. P. A. Serovares de *Leptospira interrogans* e respectivas prevalências em cavalos da microrregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, p.255-259, 2005.

LUKS, A.M.; LAKSHMINARAYANAN, S; HIRSCHMANN, J.V. Leptospirosis presenting as diffuse alveolar hemorrhage: case report and literature review. **Chest** , v.123, p.639-643, 2003.

MAJED, Z; BELLENGER, E; POSTIC, D; POURCEL, C; BARANTON, G; PICARDEAU, M. Identification of Variable-Number Tandem-Repeat Loci in *Leptospira interrogans* Sensu Stricto. **Journal of Clinical Microbiology**, v.2, p.539-545, 2005.

MANOHAR, M; GOETZ, T.E. Pulmonary vascular pressures of strenuously exercising Thoroughbreds during intravenous infusion of nitroglycerin. **American Journal Veterinary Research**, v.60, n.11, p.1436-1440, 1999.

MARLIN, D. Exercise-induced pulmonary haemorrhage. In: **Congresso Internacional de Medicina Veterinária Esportiva Equina**. Anais.: Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Centro de Medicina Equina da FMVZ-UNESP, Botucatu, p.11, 2001.

MAROTTO, P.C; NASCIMENTO, C.M; ELUF-NETO, J; MAROTTO, M.S; ANDRADE, L; SZATANJBOK, J; SEGURO, A.C. Acute lung injury in leptospirosis: clinical and laboratory features outcome, and factors associated with mortality. **Clinical Infection Disease**, v.29, p.1561-1563, 1999.

MATTHEWS, A.G; WAITKINS, S.A; PALMER, M.F. Serological study of leptospiral infections and endogenous uveitis among horses and ponies in the United Kingdom. *Wquine Veterinary Journal*, v.19, p.125-128, 1987.

MATTHIAS, M.A; RICALDI, J.N; CESPEDES, M; DIAZ, M.M; GALLOWAY, R.L; SAITO, M; STEIGERWALT, A.G; PATRA, K.P; ORE, C.V; GOTUZZO, E; GILMAN, R.H; LEVETT,

P.N; VINETZ, J.M. Human leptospirosis caused by a new, antigenically unique *Leptospira* associated with a *Rattus* Species reservoir in the Peruvian Amazon. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n.4, p.213.2008.

McBRIDE, A.J; ATHANAZIO, D.A; REIS, M.G; KO, A.I. Leptospirosis. **Current Opiniom Infection Diseases**, n. 18, p. 376–386, 2005.

MERIEN, F; BARANTON, G; PEROLAT, P. Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. **Infection and Immunity** , v. 65, n. 2, p. 729–738, 1997.

MÜLLER, C.S; RACHID FILHO, A; TITTON, D.C; PAIVA, E.S. Manifestações clínicas e laboratórias de polimiosite em um caso de leptospirose. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.46, n.6, p.424-427, 2006.

NALLY, J.E; CHANTRANUWAT, C; WU, X.Y; FISHBEIN, M.C; PEREIRA, M.M; BLANCO, D.R; LOVETT, M.A. Alveolar septal deposition of immunoglobulin and complement parallels pulmonary hemorrhage in guinea pig model of severe pulmonary leptspirosis. **American Journal of Pathology**, v.164, p.1115-1127, 2004.

NALLY, J.E; FISHBEIN, M.C; BLANCO, D.R; LOVETT, M.A. Lethal infection of C3H/HeJ and C3H/SCID mice with an isolate of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. **Infection and Immunity**, v.73, n.10, p.7014-7017, 2005.

NICODEMO, A.C; MEDEIROS, N; DEL NEGRO, G; AMATO NETO, V. Hematologic changes in leptospirosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 31, n. 2, p. 71-79, 1989.

O'CALLAGHAN, W; HORNOF, W; FISHER, P; PASCOE, J.R. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in the horse: results of detailed clinical, post mortem and imaging study. **Equine Veterinary Journal**, v.19, p.417-424, 1987.

O'CALLAGHAN, W; PASCOE, J.R; TYLER, W.S. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in the horse: results of a detailed clinical, pos-mortem imaging study. VIII. Conclusions and applications. **Equine Veterinary Journal**, v.19, p.428-434, 1987.

OIKAWA, M. Exercise-induced haemorrhagic lesions in the dorsocaudal extremities of the caudal lobes of the lungs of young thoroughbred horses. **The Journal of Comparative Pathology**, v.121, n.4, p.339-347, 1999.

OLIVEIRA, S.J; PIRES NETO, J.A.S. Aspecto etiológicos e diagnóstico nas leptospiroses. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.10, p.36-46, 2004.

PAGANIN, F; BOURDIN, A; BORGHERINI, G; DALBAN, C; POUBEAU, P; TIXIER, F; GOUIX, A; NOEL, J.B; COTTE, L; ARVIN-BEROD, C. **Revue des Maladies Respiratoires**, v.26, n.9, p.971-979, 2009

PASCOE, J.R; FERRARO, G.L; CANNON, J.H; ARTHUR, R.M.; WHEAT, J.D. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing thoroughbreds: A preliminary study. **American Journal Veterinary Research**, v.42, p.703-707, 1981.

PASCOE, J.R; MCCABE, A.E; FRANTI, C.E; ARTHUR, R.M. Efficacy of furosemide in the treatment of exercise-induced pulmonary hemorrhage in thoroughbred racehorses. **American Journal Veterinary Research**, v.46, p.2000-2003, 1985.

PASCOE, J.R; O'CALLAGHAN, M.W; TYLER, W.S; MASON, K. Exercise-induced pulmonary hemorrhage-an update. **Proceedings American Association of Equine Practitioners**, p.263, 1986.

PELLEGRIN, A.O; SILVA, R.A.M.S; RIBEIRO, S.C. Ocorrência de aglutininas anti-*Leptospira* em eqüinos do Pantanal Mato-Grossense, sub-região da Nhecolândia. In: **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Anais.... Olinda: SPEMV, p.190, 1994.

PEREIRA, M.M. Leptospirose. In: Coura JR. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Editora Guanabara Koogan, 2005. p.1497-1508.

PEREIRA, M.M; PEREIRA da SILVA, J.J; PINTO, M.A; MACHADO, M.P; LENZIL, H.L; MARCHEVSKY, R.S. Experimental leptospirosis in Marmoset monkeys (*Callithrix jacchus*): a new experimental model for studies of severe pulmonary leptospirosis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.72, p.13-20, 2005.

PEROLAT, P; CHAPPEL, R.J; ADLER, B; BARANTON, G; BULACH, D.M; BILLINGHURST, M.L; LETOCART, M; MERIEN, F; SERRANO, M.S. *Leptospira fainei* sp. nov., isolated from pigs in Australia. **International Journal of Systematic Bacteriology**, n.48, p.851-858, 1998.

PESCADOR, C.A; CORBELLINE, L.G; LORETTI, A.P; JUNIOR, E.W; FRANTZ, F.J; DRIEMEIER, D. Aborto equino por *Leptospira sp.* **Ciência rural**, v.34, n.1, p.271-274, 2004.

PINHEIRO, H.H; SILVEIRA, W; OLIVEIRA, V.C. Pesquisas de aglutininas antileptospiras em soros equinos abatidos no frigorífico Xavante – Araguari, MG. **A Hora Veterinária**, v.5, n.27, p.42-44, 1985.

PINNA, M.H; VARGES, R; ABREU, R; LILENBAUM, W. Outbreak of equine leptospirosis by s. Bratislava. **Online American Journal of Veterinary Research**, v. 11, n. 3, p. 1-4, 2007.

POSSAS, C.A. Urbanização, ecologia e emergência de formas graves da leptospirose: análise comparativa de dados secundários nacionais. In: **Anais do evento comemorativo do centenário do Instituto Oswaldo Cruz e da Fundação Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, 2000.

QUINN, P.J; CARTER, M.E; MARKEY, B; CARTER, G.R. **Clinical Veterinary Microbiology**. 1ed. Spain: Grafos, p. 292-303, 1994.

ROMERO, E. C; BERNARDO, C.C. and YASUDA, P. H. Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in Sao Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.45, p. 245-248, 2003.

RADOSTITS, O. M; GAY, C. C; BLOOD, D. C; HINCHCLIFF, K. W. **Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro, 2002, p. 874-887.

RAMSEL, C; KINDIG, C.A; MCDONOUGH, P. Inclined running increases severity of exercise-induced pulmonary hemorrhage in the horse. **Medicine Science Sports Exercise**, v.33, p.59, 2001.

RAPHEL, C.F; SOMA, L.R. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in thoroughbreds after racing and breezing. **American Journal Veterinary Research**, v.43, p.1123-1127, 1982.

REED, S. M; BAYLY, W. M. **Medicina interna equina**, 1^a Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000. 938p.

RIET-CORREA, F.; LEMOS, R.A.A. Leptospirose. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e equinos**. 2.ed. São Paulo : Varela, 2001. v.1, p.275-284.

SANTA ROSA, C.A; CASTRO, A.F.P; CAMPEDELLI FILHO, O; MELLO, D. Leptospirose em equinos. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v.35, n.2, p.61-65, 1968.

SARKAR, V; NASCIMENTO, S.F; BARBOSA, R; MARTINS, R; NUEVO, H; KALAFANOS, I; GRUNSTEIN, I; FLANNERY, B; DIAS, J; RIREY, L; REIS, M; KO, A.I. Population-Based Case-control investigation of risk factors for leptospirosis during in Urban Epidemic. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**, v.66, p.605-610, 2002.

SCHROTER, R.C.; MARLIN, D.J.; DENNY, E. Exercise-induced pulmonary haemorrhage (EIPH) in horses results from locomotory impact induced trauma - a novel, unifying concept. **Equine Veterinary Journal**, v.30, p.186-192, 1998.

SCHROTER, R.C; LEEMING, A; DENNY, E. Modeling impact-initiated wave transmission through lung parenchyma in relation to the aetiology of exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Equine Veterinary Journal Supplied**, v.30, p.34-38, 1999.

SEBASTIAN, E. Leptospirosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. n. 205, p. 1518-1523, 1994.

SILVA, J.J.P; CARVALHO, J.E.M; DALSTON, M.O. Forma pulmonar grave da leptospirose (FPGL): uma nova apresentação clínica da doença no Estado do Rio de Janeiro.Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, v.72, p.169-71. 1998.

SILVA, J.J.P; DALSTON, M.O; CARVALHO, J.E.M. Clinicopathological and immunohistochemical features of the severe pulmonary form of leptospirosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, p.395-99, 2002.

SMIBERT, R. M. The Spirochaetales. In A. I. Laskin and H. A. Lechavelier (ed.), CRC handbook of microbiology, 2nd ed, v.1,p.195-228, 1977.

SWEENEY, C.R; REILLY, L.K. Sistema respiratório. In: Segredos em Medicina de Equinos. Porto Algre: Artmed, p.136-151, 2001.

TORRES, A.P; JARDIM, W.R. Criação de cavalos e outros equinos. Rio de Janeiro: Ed Nobel, 1987.

TRUEBA, G; ZAPATA, S; MADRID, K; CULLEN, P; HAAKE, D. Cell aggregation: a mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. **Internetaional Microbiology**, n. 7, p. 35-40, 2004.

VAN DEN INGH, T.S; HARTMAN, E.G; BERCOVICH, Z. Clinical *Leptospira interrogans* serogroup Australis serovar Lora infection in a stud farm in The Netherlands, **Vet Q**, v.11, p.175,1989.

VINH, T; ADLER, B; FAINE, S. Ultrastructure and chemical composition of lipopolysaccharide extracted from *Leptospira interrogans* serovar compenhageni. **Journal of General Microbiology**, v.132, p.103-109, 1986.

WAGENAAR, J.F; GORIS, M.G; SAKUNDARNO, M.S; GASEM, M.H; MAIRUHU, A.T; DE KRUIF, M.D; TEN CATE, H; HARTSKEERL, R; BRANDJES, D.P; VAN GORP, E.C. What role do coagulation disorders play in the pathogenesis of leptospirosis? **Tropical Medicine and International Health**, v. 12, n. 1, p. 111-122, 2007.

WANG, B; SULLIVAN, J; SULLIVAN, G.W; MANDELL, G.L. Interaction of leptospire with human polymorphonuclear neutrophils. **Infection and Immunity**, v.44, n. 2, p. 459-464, 1984.

WILLIAMS, R.D. The presence and duration of persistence of *Leptospira pomona* in equine ocular tissues following experimentally induced systemic infection. **M.S. Thesis, Purdue University**, Lafayette, Ind., 1968.

YANG, C.W; HUNG, C.C; WU, M.S; TIAN, Y.C; CHANG, C.T; PAN, M.J; VANDEWALLE, A. Toll-like receptor 2 mediates early inflammation by leptospiral outer membrane proteins in proximal tubule cells. **Kidney International**, v.69, p.815–822, 2006.

YANAGIHARA, Y; KAMISANGO, K; YASUDA, S; KOBAYASHI, S; MIFUCHI, I; AZUMA, I; YAMAMURA, Y; JOHNSON, R.C. Chemical composition of cell walls and polysaccharide fractions of spirochetes. **Microbiology and Immunology**, v.28, p.535-544, 1984.

ZUENER, R.L; BOLIN, C.A. IS1533-based PCR assay for identification of *Leptospira interrogans sensu lato*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.33, p.3284-3289, 1995.

