ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS NA LEPTOSPIROSE CANINA

MARCIA MERY KOGIKA Auxiliar de Ensino

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

MITIKA KURIBAYASHI HAGIWARA

Professor Associado

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

REGINA MIEKO SAKATA MIRANDOLA

Técnico Especializado

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

KOGIKA, M.M.; HAGIWARA, M.K.; MIRANDOLA, R.M.S. Alterações bioquímicas na leptospirose canina. Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, 27(2):177-182, 1990.

RESUMO: Foram estudadas as alterações bioquímicas em cães naturalmente infectados por Lepiospira inierrogans e agrupados conforme o quadro mórbido apresentado. O grupo I foi constituído por 65 cães que manifestaram icterícia e síndrome urêmica, reagentes ao sorotipo copenhageni e/ou icierohaemorrhagiae; o grupo II foi representado por 15 cães anictéricos, porém urêmicos, reagentes em sua maioria ao sorotipo canicola e, finalmente, o grupo III, compreendido por 8 cães assintomáticos ou com sintomatologia vaga. contactantes do grupo I e II e reagentes ao sorotipo icierohaemorrhagiae, copenhageni ou canicola. As alterações bioquímicas estavam relacionadas ao comprometimento de órgãos como fígado e rins, independente do sorotipo infectante. Assim, os níveis séricos de uréia e creatinina estavam relacionados ao comprometimento hiperbilirrubinemia enquanto а cenal. hiperfosfatasemia indicavam 0 comprometimento hepático, portanto, a existência de uma colestase intra-hepática. Os níveis de ALT e AST normais ou discretamente aumentados permitiram diferenciar leptospirose de outros processos nepáticos em que há necrose celular com liberação dessas enzimas citoplasmáticas para a circulação sangüínea.

UNITERMOS: Sangue, bioquímica; Leptospirose, cães

INTRODUCÃO

Datam dos primórdios do século os conhecimentos de que os cães poderiam ser infectados pelo agente da Moléstia de Weil, com o subsequente desenvolvimento de um quadro mórbido semelhante ao do homem. Estudos clínicos realizados por diversos pesquisadores permitiram concluir pela existência de duas formas de manifestações clínicas da doença, a ictérica, acompanhada por nefrite e uremia, denominada Moléstia de Weil canina, causada principalmente pelo sorotipo icterohaemorrhagiae e a gastroentérica, conhecida como tifo canino ou Moléstia de Stuttgard, determinada na maioria das vezes pelo sorotipo canicola

São inúmeros os trabalhos relativos aos aspectos epidemiológicos, sobretudo, prevalência da infecção em diferentes populações caninas como também, os que avaliam aspectos clínicos e patológicos em animais experimentalmente infectados 15,16,22,11,13,20. Quanto aos últimos aspectos, LOW et alii 15,16 (1956) e NAVARRO et alii 20 (1981) realizaram estudos sobre a bioquímica sangüínea na infecção experimental de cães pelo sorotipo icierohaemorrhagiae, enquanto KEENAM et alii 13 (1978) descreveram as alterações bioquímicas observadas na infecção pelo sorotipo bataviae.

Em contrapartida, são poucos os trabalhos em que foram avaliados os parâmetros bioquímicos em cães naturalmente infectados. CALDAS et alii ⁴ (1976) avaliaram a atividade sérica de aspartato amino transferase (AST) em cães assintomáticos, contactantes de pacientes humanos com leptospirose, enquanto GARRET et alii ⁸ (1979) relataram as alterações bioquímicas observadas em um caso de infecção natural, em que foi possível o isolamento do agente etiológico através da urocultura.

O diagnéstico definitivo da leptospirose baseiase na pesquisa de anticorpos aglutinantes, através da
prova de soroaglutinação microscópica com antígenos
vivos ou do isolamento do agente através da
hemocultura, urocultura ou da cultura do líquor .
Estes métodos, no entanto, não são acessíveis a todos
os profissionais veterinários, sendo importantes os
dados laboratoriais que possam auxiliar no diagnóstico
da leptospirose, permitindo o estabelecimento precoce
da terapia adequada para minimizar a disseminação do
agente no meio ambiente .

Com o escopo de avaliar os aspectos clínicos da infecção natural em cães, foram estudados, durante dois anos, os casos presuntivos de leptospirose nessa espécie animal, caracterizando-se as formas clínicas da manifestação da doença, a evolução do processo, as variações no hemograma e da bioquímica sangüínea. Parte das informações obtidas foi previamente publicada 14 e, no presente trabalho, procurou-se caracterizar as alterações bioquímicas séricas em



casos de infecçao natural de caes por leptospiras, nas suas diferentes formas de manifestação clínica.

MATERIAL E MÉTODO

Animais utilizados

Os animais do presente estudo foram atendidos no Ambulatório do Hospital Veterinário da Faculdade de Hedicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Pauto, no período de abril de 1983 a março de 1985, os quais pelos dados epidemiológicos e clínicos foram considerados como casos presuntivos de leptospirose (KOGIKA et alii 14, 1987). O diagnóstico foi confirmado através da pesquisa de aglutininas antileptospiras e, em alguns casos, pelo isolamento do agente etiológico no sangue periférico ou na urina.

De acordo com o quadro mórbido apresentado, os cães foram separados em três grupos. O grupo I foi constituído por 65 animais, de diferentes raças, de ambos os sexos, sendo mais frequentes os de faixa etária de 2 a 6 meses. Todos os animais desse grupo haviam manifestado icterícia e síndrome urêmica e eram reagentes ao sorotipo *icterohaemorrhagiae* e/ou copenhageni sendo que, em 5 deles, foi possível o isolamento do agente etiológico através da urocultura.

O grupo II foi representado por 15 cães, a maioria adultos jovens, anictéricos e urêmicos e reagentes em sua grande maioria ao serovar canicola. Foi comprovada a leptospirúria em 4 desses animais. Finalmente, o grupo III foi constituído por 8 cães assintomáticos ou com sintomatologia vaga, tais como febre, anorexia e prostração discreta e de curta duração, contactantes dos animais do grupo I ou II e reagentes ao sorotipo icierohaemorrhagiae, copenhageni ou canicola. Desses cães, foram isoladas três amostras de leptospiras, através da urocultura, e uma através da hemocultura.

Colheita de material

As amostras de sangue de cada animal foram colhidas das veias safena, cefálica ou jugular e centrifugadas imediatamente após a 2500 rotações por minuto, durante 15 minutos para a obtenção de soro sangüíneo. Para a realização da hemocultura, cerca de 2 ml de sangue eram semeados asseticamente em tubos contendo o meio de Fletcher.

As amostras de urina foram colhidas através de cateterismo vesical, utilizando-se sondas plásticas descartáveis ou da cistocentese, destinando-se parte para a urinálise e outra para a semeadura em meio de rietcher, no intuito de proceder-se ao isolamento da leptospira.

Métodos

Exame de urina: pelos métodos usuais descritos em 5 (1980).

Dosagem de proteínas séricas: Método de biureto $(HENRY \,\,^{12},\,\,1969)$.

Dosagem de albumina sérica: Método de verde de bromocresol $^{\rm 1}$.

Dosagem das bilirrubinas séricas: Método de MALLOY & EVELYN 19 (1937), utilizando-se kit comercial (WIENER).

Dosagem das transaminases: Aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) através, do método colorimétrico, segundo a técnica de REITMAN & FRANKEL 21 (1957), utilizando-se kits comerciais (MERCK).

Dosagem de fosfatase alcalina (FA): Método colorimétrico de acordo com a técnica de BESSEY et alii 3 (1946), valendo-se de kits comerciais (MERCK).

Dosagem de uréia sangüínea: Método de diacetil monoxima, citado por FEARON 7 (1939).

Dosagem de creatinina sérica; Método de LUNTGARTEN & WENK 18 (1972).

RESULTADOS

Os valores médios de uréia, creatinina, proteína sérica total, albumina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), bilirrubinas séricas, bem como seu desvio padrão, valores máximos e mínimos dos cães dos grupos I, II e III estão apresentados nas Tab. 1, 2 e 3 respectivamente.

Em relação ao grupo I, as alterações observadas foram a hiperazotemia, a hipercreatinemia, hiperfosfatasemia, hiperbilirrubinemia mista, com predomínio da forma direta, além de discreto aumento de aspartato aminotransferase (AST). Quanto aos animais do grupo II, foram encontradas alterações bioquímicas refletindo o comprometimento renal, isto é, hiperazotemia e hipercreatinemia e em alguns animais, hiperfosfatasemia e discreto aumento nos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST). Já no grupo III, tanto a função renal quanto a hepática se apresentavam dentro da normalidade.

DISCUSSÃO

Em trabalhos experimentais, LOW et alii 15,16 (1956) e NAVARRO et alii 20 (1981) haviam observado

que, em cáes infectados pelo sorotipo *icteronaemorriagiae*, ocorriam alterações hematológicas e bioquímicas, acompanhando a sintomatologia manifestada pelos animais e que refletiam o comprometimento de órgãos como o fígado e rins.

Ao analisar os casos de ocorrência natural da doença em cães, os animais que haviam apresentado sintomas de comprometimento hepatorrenal grave foram incluídos no grupo I. A presença de hiperazotemia e hipercreatinemia é indicativa de grave comprometimento renal, enquanto a hiperbilirrubinemia e hiperfosfatasemia comprovam a existência de uma lesão nepática. As alterações desses parâmetros podem ser creditadas ao dano causado pela localização das leptospiras no interstício renal e no parênquima hepático 9.

Ainda em relação ao comprometimento hepático, os níveis de AST e ALT normais ou discretamente aumentados permitiram excluir tanto a hepatite infecciosa canina quanto as hepatopatias de origem tóxica, processos esses que resultam quase sempre em necrose celular e liberação dessas enzimas intracitoplasmáticas para a circulação sangüínea (BENJAMIN 2 , 1979 e HAGIWARA et alii 10 , 1983). Nos casos de leptospirose, o aumento da atividade sérica dessas enzimas, principalmente o de AST, é, na maioria das vezes, discreto, tendo sido citado por CALDAS et alii 4 (1976) em cães contactantes de casos humanos de leptospirose. De acordo com GARRET et alii (1979) e NAVARRO et alii ²⁰ (1981) a hipertransferasemia estaria na dependência da severidade do processo hepático e do período de evolução da doença em que se processa o exame bioquímico.

Embora NAVARRO et alii ²⁰ (1981) tenham citado a hipoproteinemia, mais especificamente hipoalbuminemia, como possíveis alterações leptospirose canina causada pelo sorotipo icierohaemorrhagiae, tal não foi observado no presente trabalho. Isto pode ser explicado pelo fato de ser a leptospirose por esse sorotipo uma doença de evolução aguda, não havendo, mesmo nos casos mais graves. alterações nos níveis séricos de albumina. Isto porque, ainda que houvesse comprometimento parcial da síntese protéica, a queda dos níveis séricos dessa proteína ou de outras sintetizadas no hepatócito seria observada bem mais tardiamente (ETTINGER . 1983). Justificam-se, assim, os valores normais da proteína sérica total, bem como da albumina, encontrados nos pacientes com essa forma de doença, sem significar, como haviam sugerido NAVARRO et alii 20 (1981). infecção mais branda.

Os animais do grupo II apresentaram a forma gastroentérica da doença, em que os sintomas predominantes foram os gastrointestinais e desidratação à semelhança das observações de ROCA &

CAFFARENA ²² (1972) em cães infectados pelo sorotipo canicola. Portanto, nos membros deste grupo, o comprometimento renal foi confirmado de maneira explícita através das provas bioquímicas (hiperazotemia e hipercreatinemia). Em apenas uma ocasião foi observado aumento nos níveis séricos de aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina em um animal que havia apresentado necrose extensa da lingua.

Em relação aos animais do grupo III em que não foram encontradas alterações bioquímicas significativas apenas a urianálise revelou, em alguns casos, comprometimento renal. A benignidade da infecção nesses animais pode ser explicada pelo fato de que em cerca de dois terços dos casos o sorotipo infectante era canucola. A infecção por esse sorotipo pode ser assintomática ou evoluir de forma favorável, sem muitas conseqüências ao organismo canino que o alberga 17,9

As análises bioquímicas realizadas nos casos de leptospirose canina causada pelo sorotipo icterohaemorrhagiae ou canicola permitiram concluir que as alterações observadas estavam relacionadas ao comprometimento hepático ou renal, independente do sorotipo infectante. Assim, os níveis séricos elevados de uréia e creatinina estavam relacionados ao comprometimento renal, enquanto o comprometimento hepático foi revelado através da hiperfosfatasemia e hiperbilirrubinemia, sem aumento significativo nos níveis séricos de ALT e AST, o que permitiu diferenciar a leptospirose de outros processos hepáticos em que há necrose celular.

KOGIKA, M.M.; HAGIWARA, M.K.; MIRANDOLA, R.M.S. Serum biochemistry alterations in canine leptospirosis. Braz. J. vet. Res. anum. Sci., São Paulo, 27(2):177-182, 1990.

SUMMARY: Serum biochemistry abnormalities were studied in naturally occuring leptospirosis in dogs in order to establish an useful profile for diagnostic purpose. The dogs were grouped according to clinical manifestations. Group I was comprised by 65 uremic and icteric dogs, reagents to serovar copenhageni and/or icterohaemorrhagiae and the second group by 15 non icteric but uremic dogs, most of them reagents to serovar canicola. The third group was comprised by 8 asymptomatic dogs that had been in contact with group I or group II dogs and presented antileptospira agglutinins against serovar icteronaemorrhagiae, copenhageni or canicola. Biochemical abnormalities observed were related to injured organs such as liver or kidney with no correlation to the infectious serovar. Thus, hyperazotemia and hypercreatinemia were

found in dogs with renal injury in both group I and II whereas hyperbilirrubinemia and hyperphosphatasemia were signs of intrahepatic cholestasis due to an hepatic injury. Normal or mild increase in serum ALT and AST levels revealed minimal hepatocellular necrosis with none or almost none release of intracytoplasmatic enzymes to the blood stream and allowed to differentiate leptospirosis from other inflammatory liver diseases.

UNITERMS: Blood biochemistry; Leptospirosis in dogs

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-BARTOLOMEW, R.J. & DELANEY, A., 1966 apud HENRY, R.J. 12
- 02-BENJAMIM, M.M. Outline of veterinary clinical pathology. 3.ed. Ames, The Iowa State University Press, 1978.
- 03-BESSEY, O.A.; LOWRY, O.H.; BROCK, M.J. A method for the rapid determination of alcaline phosphatase with five cubic milimeters of serum. J. biol. Chem., 164:231, 1946
- 04-CALDAS, E.M.; SAMPAIO, M.B.: BADARO, M.V.; SANTOS, M.D.; TISHCHENKO, L.M. Leptospirose canina: alguns aspectos sorológicos, laboratoriais e clinicos. Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Bahla,1:53-66, 1976.
- 05-COLES, E.H. Veterinary clinical pathology. 3.ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1980.
- 06-ETTINGER, S.J. Textbook of veterinary internal medicine. Disease of dogs and cat. 2.ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1983.
- 07-FEARON, W.R. The carbamido diacetyl reaction: a test for citrulline. Biochem. J., 33:902-907, 1939.
- OB-GARRET, A.W. & WILLIAMSON, C.H. Leptospirose in a dog. Vet. Med. small Anim. Clin., 74:497-502, 1979.
- 09-GREENE, C.E. Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat. Philadelphia, W.B. Saunders, 1984.
- 10-HAGIWARA, M.K.; KOGIKA, M.M.; MALUCELLI, B.E. Sindrome de coagulação intravascular disseminada Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, 27(2):177-182, 1990.

- (SCIVD) em cães com aflatoxicose. In: SEMANA DE VETERINÁRIA DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2., São Paulo, 1983. Trabalhos apresentados. p.63.
- 11-HAGIWARA, M.K. & SANTA ROSA, C.A. Leptospirose canina em São Paulo. Arq. Inst. Biol., 42:111-118, 1975.
- 12-HENRY, R.J. Química clínica. Bases y principios. Barcelona, Gims, 1969. v.1.
- 13-KEENAN, K.P.; ALEXANDER, A.D.; MONTGOMERY, C.A. Pathogenesis of experimental Leptospira interrogans, bataviae, infection in the dog: serovar microbiological studies. Amer. J. ver. Res., 39:449-454, 1978.
- 14-KOGIKA, M.M.; HAGIWARA, M.K.; YASUDA, P.H.; MIRANDOLA, R.M.S. Alterações hematológicas na leptospirose canina. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 24:41-46, 1987.
- 15-LOW, D.G.; BERGMAN, E.N.; HIATT, C.W.; GLEISER, C.A. Experimental canine leptospirosis. II. Renal function studies. J. infect Dis., 98:260-265, 1956.
- 16-LOW, D.G.; HIATT, C.W.; GLEISER, C.A.; BERGMAN, Experimental canine leptospirosis. I. Leptospira icterohaemorrhagiae infections in imature dogs. J. infect. Dis., 98:249-259, 1956.
- 17-LOW, D.G.; MATHER, G.W.; FINCO, D.R.; ANDERSON, Long-term studies of renal function in N.V. canine leptospirosis. Amer. J. vet. Res., 28:731-739, 1967.
- 18-LUSTGARTEN, J.A. & WENK, R.E. Simple, rapid, kinect method for serum creatinine measurement. Clin. Chem., 18:1419-1422, 1972.
- 19-MALLOY, H.T. & EVELYN, K.A. The determination of bilirrubin with the photoeletric colorimeter. $J_{\rm c}$ Biol. Chem., 119:481-490, 1937.
- 20-NAVARRO, C.E.K.; KOCIBA, G.J.; KOWALSKI, J.J. Serum biochemical changes in the dog with experimental Leptospira interrogans icterohaemorrhagiae infection. Amer. J. vet. Res., 42:1125-1129, 1981.
- 21-REITMAN, S. & FRANKEL, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic

oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases.

Amer. J. Clin. Path., 28:56-63, 1957.

sindromes uremicos e ictericos en caninos. *Gac. vet.*, Buenos Aires, *34*:406-410, 1972.

22-ROCA, R.C. & CAFFARENA, R.M. Incidencia de la leptospirosis como agente etiologico en

23-YASUDA, P.H. Leptospirose em cães errantes da cidade de São Paulo. São Paulo, 1979. /Tese de doutorado - Instituto de Ciências Biomédicas da USP/

Recebido para publicação em 02/05/90 Aprovado para publicação em 10/07/90

TABELA 1 - Valores médios, desvio padrão, valores máximos e mínimos dos parâmetros bioquímicos (*) de 65 cães urêmicos e ictéricos, com títulos na SAM (**) para leptospirose igual ou superior a 100. São Paulo, SP, 1987.

PARÂMETROS	V.MÉDIO	D.PADRÃO	V.MAX.	V.MIN.	NORMAL
Proteina total (g/l)	64,0	12,0	98,0	40,0	61,0 - 78,0
Albumina (g/l)	30,0	7,0	44,0	14,0	31,0 - 40,0
Uréia (nmol/1)	70,5	38,4	166,0	14,2	3,3 - 6,6
Creatinina (umol/l)	866,3	530,4	2828,8	123,8	88,4 - 176,8
AST (U/L)	30,1	26,1	99,0	2,0	6,2 - 13,0
ALT (U/L)	24,9	21,1	99,0	3,0	4,8 - 24,0
FA (U/L)	279,1	183,8	821,2	22,5	29,0 - 137,0
BT (umol/l)	352,2	210,3	1162,8	44,5	1,7 - 10,4
BD (umoi/i)	295,8	160,7	757,5	37,6	0 - 2,4
BI (umol/l)	56,4	65,0	410,4	0,0	1,7 - 8,0

^{*} Expressos de acordo com o Sistema Internacional de Unidades.

AST: aspartato amino transferase:

ALT: alanina amino transferase;

FA: fosfatase alcalina; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta.

^{**} SAM - Prova de soroaglutinação microscópica com antígenos vivos.

TABELA 2 - Valores médios, desvio padrão, valores máximos e mínimos dos parâmetros bioquímicos (*) de 15 cães urêmicos e anictéricos, com títulos na prova de SAM (**) para leptospirose igual ou superior a 100 e/ou urocultura positiva. São Paulo. SP, 1987.

PARAMETROS	MÉDIA	D.PADRÃO	V.MAX.	V.MIN.	
Uréia (mmol/l)	79,0	47,7	166,6	17,3	
Creatinina (umol/1)	627,6	318,2	1078,5	194,5	
AST (U/L)	33,7	40,9	95,0	10,0	
ALT (U/L)	2,0	0,8	3,0	1,0	
FA (U/L)	130,6	154,4	361,1	38,3	

^{*} Expressos de acordo com o Sistema Internacional de Unidades.

AST: aspartato amino transferase;

ALT: alanina amino transferase;

FA: fosfatase alcalina.

TABELA 3 - Valores médios, desvio padrão, valores máximos e mínimos dos parâmetros bioquímicos (*) em 8 cães anictéricos e não urêmicos, com títulos na prova de SAM (**) para leptospirose, iguais ou superiores a 100 e/ou urocultura positiva. São Paulo, SP, 1987.

MÉDIA	D.PADRÃO	V.MAX.	V.MIN.	
7,7	2,0	12,8	6,1	
141,4	26,5	168,0	106,1	
3,5	3,5	6,0	1,0	
5,0	2,6	7,0	2,0	
75,4	10,1	85,6	65,3	
	7,7 141,4 3,5 5,0	7,7 2,0 141,4 26,5 3,5 3,5 5,0 2,6	7,7 2,0 12,8 141,4 26,5 168,0 3,5 3,5 6,0 5,0 2,6 7,0	

^{*} Expressos de acordo com o Sistema Internacional de Unidades.

AST: aspartato amino transferase;

ALT: alanina amino transferase;

FA: fosfatase alcalina.

^{**} SAM - Prova de soroaglutinação microscópica com antígenos vivos.

^{**} SAM - Prova de soroaglutinação microscópica com antígenos vivos.