

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Leptospiróza malých zvířat

Bakalářská práce

Autor práce: Nikola Pluhařová

Vedoucí práce: MVDr. Pavel Berka

© 2015/2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Leptospiróza malých zvířat" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15.4.2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala MVDr. Pavlu Berkovi za vedení mé bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala své rodině za podporu ve studiu.

Leptospiróza malých zvířat

Souhrn

Tato bakalářská práce je zaměřena na Leptospirózu nebo-li onemocnění způsobené bakteriemi *Leptospira spp.* Nejprve se zabývám původci leptospirózy, jejím taxonomickým zařazením, jednotlivými sérovými skupinami, sérovary napadající psa, člověka, ale i kočku.

Má bakalářská práce zahrnuje také základní charakteristiku onemocnění leptospirózou, její rozšíření a výskyt. Další kapitola je věnována přenosu této infekce. Následně se zabývám patogenezí a diagnostikou, u které zmiňuji vhodné diagnostické metody pro zjištění této choroby.

Na konci mé bakalářské práce se věnuji terapii, použitím vhodných léčiv, poukazuji na možnosti prevence a to v rámci hygieny, ale i možnosti vakcinace.

Klíčová slova:

Weilova nemoc, leptospiróza, infekce, bakteriální onemocnění, prevence

Leptospirosis of small animals

Summary

This bachelor thesis is focused on Leptospirosis or disease caused by bacteria *Leptospira spp.* At first I deal with agents of leptospirosis, its taxonomic, its individually serum groups, serovars invading dog, human and cat.

My bachelor thesis also includes basic characteristic of disease leptospirosis , its expansion and presence. Next chapter is devoted to transmission of this infection. Then I follow up with pathogenesis and diagnostics, in which I allude appropriate diagnostic methods for finding this disease.

At the end of my bachelor thesis I deal with theraphy, using appropriate drugs, point to options of prevention within hygiene, but vaccination too.

Keywords:

Weil's disease, leptospirosis, infection, bacterial disease, prevention

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce	9
3 Leptospiróza.....	10
3.1 Původci.....	10
3.1.1 Taxonomie	10
3.1.2 Sérologické skupiny a sérovary	11
3.1.2.1 Sérologické skupiny	11
3.1.2.2 Sérovary vyskytující se v ČR	12
3.1.2.3 Sérovary napadající psi.....	12
3.1.2.4 Sérovary napadající člověka.....	14
3.1.2.5 Leptospiróza u koček.....	15
3.2 Základní údaje.....	17
3.3 Výskyt	18
3.4 Přenos infekce	20
4 Patogeneze.....	22
4.1 Ledviny	23
4.1.1 Akutní renální selhání - ARF.....	23
4.1.2 Chronické renální selhání – CRF.....	23
4.1.3 Difúzní abnormality parenchymu	24
4.1.3.1 Zvýšená echogenita	24
4.1.3.2 Medulární lem	25
4.2 Játra	25
4.3 Ostatní orgány	25
5 Symptomy	26

6 Diagnostika	31
6.1 MAT – mikroskopický aglutinační test.....	33
6.2 ELISA – Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay	34
6.3 PCR – polymerázová řetězová reakce.....	35
7 Terapie.....	36
7.1 Terapie ARF.....	37
7.2 Terapie DIC.....	39
7.3 Terapie postižení jater	39
8 Prevence	41
9 Prognóza.....	43
10 Závěr	44
11 Použitá literatura	45

1 Úvod

Leptospiroza nazývaná také Weilova choroba, je bakteriální zoonotické onemocnění s rozšířením po celém světě. Napadá téměř všechny savčí druhy, nejvíce je však specializována na hlodavce, ze kterých se tato infekční choroba přenáší kontaktem s jejich močí nebo jimi samými i na běžná domácí zvířata, jako je například pes.

Leptospirozou se také může nakazit člověk. Je nutno říci, že tato zoonóza je velmi nebezpečná. Často se projevuje symptomy, které mohou být i jiného původu. V případě, že se jedinec nakazí leptospirozou, je zapotřebí ji velmi rychle rozpoznat a začít správnou léčbou. Jelikož tato infekční choroba velmi často končí úmrtím jedince, není radno ji brát na lehkou váhu.

2 Cíl práce

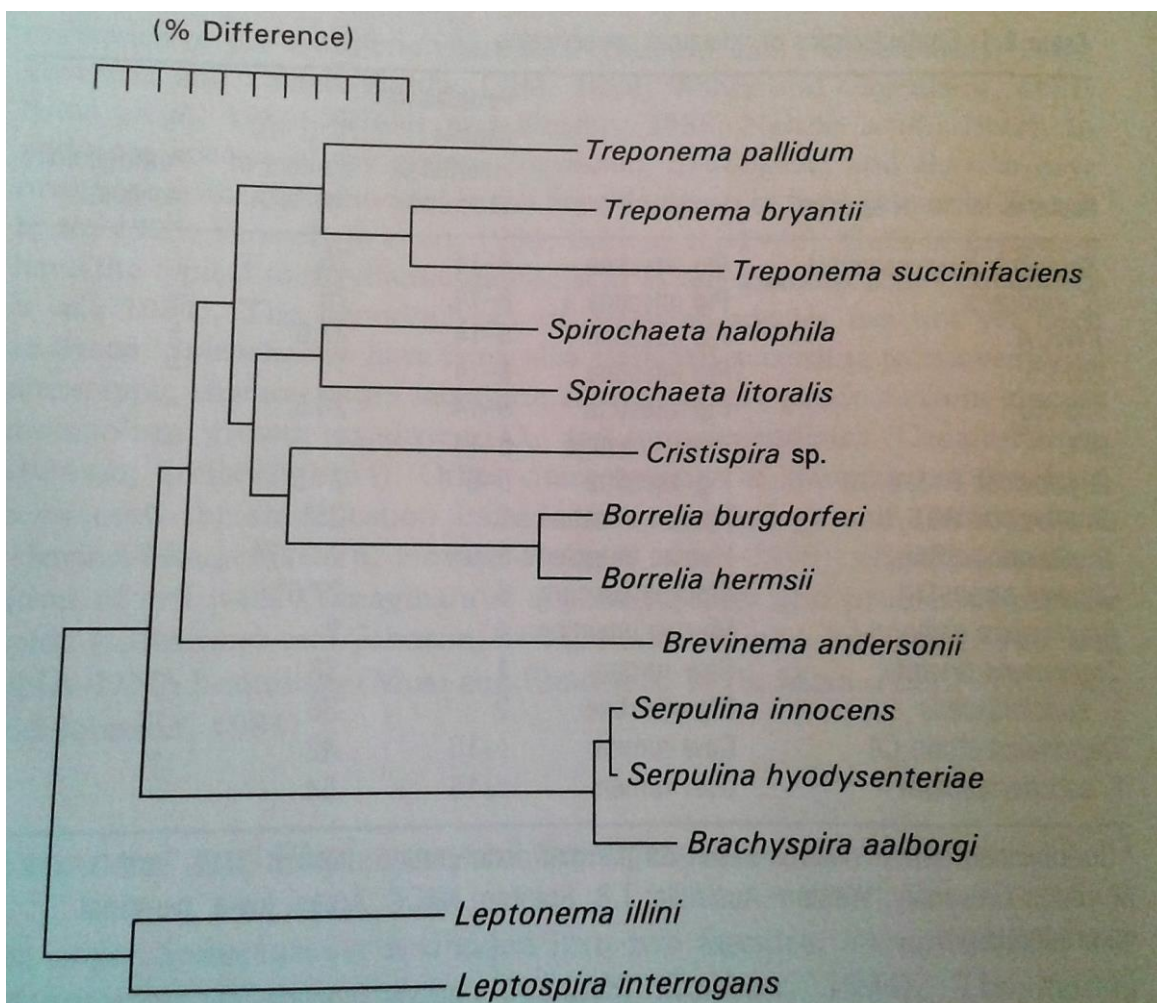
Cílem bakalářské práce je vytvoření přehledu aktuálních poznatků o původcích onemocnění Leptospiróza, jeho klinických projevu a terapie se zaměřením na možnosti prevence u malých zvířat zejména psů.

3 Leptospiróza

3.1 Původci

3.1.1 Taxonomie

- Doména: *Bacteria*
- Kmen: *Spirochaetes*
- Třída: *Spirochaetes*
- Řád: *Spirochaetales*
- Čeleď: *Leptospiraceae*
- Rod: *Leptospira*
- Druh: *Leptospira interrogans* (Sedláček, 2007)



Obrázek 1. Genetické zařazení *Leptospira interrogans* (Hampson et Stanton, c1997).

3.1.2 Sérologické skupiny a sérovary

V rámci druhu dnes rozlišujeme 228 antigenně odlišných sérovarů, rozdělených do 29 sérologických skupin. Jednotlivé sérovary leptospir se rozdělují do sérovarových skupin (Svoboda et al., 2001).

3.1.2.1 Sérologické skupiny

Sérologická skupina *Icterohaemorrhagiae*

- *L. icterohaemorrhagiae*
- *L. copenhageni*

Sérologická skupina *Australis*

- *L. bratislava*
- *L. jalna*

Sérologická skupina *Sejroe*

- *L. saxkoebing*
- *L. isticca*
- *L. polonica*

V rámci skupiny jsou některé ze sérovarů natolik antigenně příbuzné, to nám často neumožňuje běžnými sérologickými metodami zjistit o jaký sérovar se jedná, například u sérologické skupiny *Icteromorrhagiae* těžko rozlišujeme sérovary *L. icteromorrhagiae* a *L. copenhageni*.

Počet sérovarů není konečný, příčinou je objevování a popis nových, nebo reklasifikace dříve poznanych sérovarů (Svoboda et al., 1996).

3.1.2.2 Sérovary vyskytující se v ČR

Doposud bylo v ČR izolováno 8 sérovarů leptospir:

- *L. grippotyphosa*
- *L. icterohaemorrhagiae*
- *L. copenhageni*
- *L. sejroae*
- *L. bratislava*
- *L. pomona*
- *L. sorex-jalna*
- *L. canicola*

Mezi nejčastěji se vyskytující sérovary v ČR patří: *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa*, *L. sejroae* (Sedlák et Tomšíčková, 2006).

3.1.2.3 Sérovary napadající psi

Leptospiróza je velmi vážné onemocnění psů, týkající se především loveckých a služebních plemen (Bukovjan, 2008). U ostatní druhů zvířat nemá tak velký klinický význam, i když některé sérovary mohou způsobit např. zmetání prasat a skotu, nebo také u koní mohou vyvolat zdravotní potíže (Sedlák et Tomšíčková, 2006).

Mezi klinicky nejvýznamnější infekce u psů patří sérovary *L. icterohaemorrhagiae* a *L. canicola* (Hartman, 1984), někdy se také uvádí *L. grippotyphosa* (Svoboda et al., 2001).

V minulosti byla v Evropě a ve Spojených státech vyhlášena psí epidemie způsobena sérovarem *Leptospira grippotyphosa* a v menší míře výskytu *Leptospira australis* a *Leptospira automnalis* a další sérovary (Macpherson et al., c2000).

Leptospirózu u psů léčíme antibiotiky, ale pokud onemocnění nepodchytíme na počátku, je velká pravděpodobnost úmrtí jedince. Nevětší vliv na přežití psa má napadení cílových orgánů leptospirami, kde následně tyto bakterie způsobí selhávání ledvin a jater. Společně s cílovými orgány má významnou funkci i IgM (Van den Ingh et Hartman, 1986).

3.1.2.3.1 *Leptospira icterohaemorrhagiae*

Po nakažení sérovarem *L. icterohaemorrhagiae* je charakteristický ikterus, který je způsobený poškozením jater a rovněž DIC.

Hlavním rezervoárem tohoto sérovaru jsou potkani, kteří se velmi často vyskytují a jsou vázáni na lidská sídliště, kde žijí v kanalizačních sítích, v zemědělských objektech a jatkách. Teplejší roční období umožňuje potkanům vyskytovat se na březích rybníků, jiných vodních toků, skládkách, apod. V ČR se promoření potkanů pohybuje okolo 20%. Dříve byl tento sérovar zjišťován u laboratorních potkanů. *L. icterohaemorrhagiae* je adaptována na rezervoár hostitele, jímž je nejčastěji potkan, který následně močí vylučuje leptospiry ve velkém množství, aniž by klinicky vážněji onemocněl. Nakažení potkani tak napomáhají udržování nákazy, které vedou k enzootickému výskytu infekčního onemocnění. Jestliže tento sérovar infikuje hostitele, na který není adaptován, např. psa nebo člověka, následkem toho mohou vzniknout sporadické infekce v hostiteli často s velmi vážnými klinickými příznaky. (Svoboda et al., 1996)

3.1.2.3.2 *Leptospira canicola*

L. canicola způsobuje selhání ledvin, které je provázené uremickým syndromem (ulcerózní stomatitida, meléna, haematemesis). Toto onemocnění se také nazývá stuttgartská nákaza nebo typhus canum. Tato choroba je vázána na města a jejich okolí, důvodem tohoto rozšíření jsou psi, kteří jsou rezervoárem této choroby. Tato nákaza nejčastěji propuká v místech či lokalitách, kde je zvýšený vzájemný kontakt psů, např. výstavy, apod. Na území ČR a v okolních státech není sérovar *L. canicola* zjišťován již několik desítek let (Svoboda et al., 2001).

3.1.2.3.3 *Leptospira grippotyphosa*

Hlavním rezervoárem tohoto sérovaru jsou hraboši, především hraboš polní. Místa, kde hraboši žijí, se týkají převážně zemědělské krajiny, některé kolonie těchto živočichů jsou také nalézány na sídlištních trávnících. Lokalizace kolonií hrabošů nám umožňuje zjistit ohnisková místa sérovaru *L. grippotyphosa* (Svoboda et al., 1996).

3.1.2.3.4 Sérovarová skupina *Sejroe*

K hlavním rezervoárům této skupiny leptospir patří myš domácí a některé skupiny myšic. Leptospiry skupiny *Sejroe* se v menší míře vyskytují v chovech laboratorních myší. Vzhledem k hostitelům této zoonózy je více než jasné, že hlavní ohniska této nákazy se nachází především v lidských sídlech a jejich okolí. V případě nákazy touto skupinou leptospir a sérovarem *L. grippotyphosa* se na základě tradičních názorů dokládá převládající inaparentní infekce nebo lehčí průběh onemocnění u psů (Svoboda et al., 1996).

3.1.2.3.5 *Leptospira bratislava*

Oba žijící druhy našich ježků (Ježek východní a Ježek západní) patří mezi hlavní rezervoáry tohoto sérovaru. Můžeme zde tedy předpokládat přírodní ohniskovost. Přírodní ohniskovost se převážně vyskytuje i u jiných sérovarů. Tyto sérovary se váží na rezervoárové hostitele z řad drobných zemních savců, což jsou např. hlodavci a hmyzožravci. U těchto sérovarů se může také vyskytovat případná afinita k různým druhům hospodářských zvířat (Svoboda et al., 2001).

Důležité je v rámci nákazy leptospirami mít na paměti, že kterýkoliv sérovar může nakazit jakýkoliv savčí druh a následně vyvolat různou formu syndromu. Sérovary, většinou způsobují lehké projevy, mohou vyvolat i závažnou formu onemocnění např. *L. grippotyphosa* a *L. bratislava*. V rámci klinického obrazu není možné na první pohled určit nemoc vyvolávající sérovar (Svoboda et al., 2001).

3.1.2.4 Sérovary napadající člověka

Leptospirózou se mohou nakazit i lidé. Jak již bylo zmíněno, různé sérovary mohou napadat různé druhy zvířata, tak některé sérovary mají možnost napadnout i člověka.

Mezi tyto sérovary patří:

- *L. icterohaemorrhagiae*
- *L. grippotyphosa*
- *L. sejroe*

V případě že mluvíme o nákaze člověka sérovarem *Leptospira icterohaemorrhagiae*, můžeme toto onemocnění nazývat Weilova nemoc. Toto onemocnění se projevuje rozsáhlým poškozením jater způsobující velmi závažný ikterus.

Tzv. polní neboli žňová horečka je příčinou sérovaru *Leptospira grippotyphosa*. Některé sérovary, jako především *Leptospira icterohaemorrhagiae* končí smrtí nakaženého pacienta, není to však pravidlem (Svoboda et al., 1996)

Nejčastější výskyt nákazy je pozorován u lidí, kteří pracují v zemědělství. Proces infekce neprobíhá ani tak stykem se zvířaty, jako s infikovanou půdou, vodou nebo flórou. Častý výskyt leptospirozy je i u lidí, kteří pracují na jatkách, v kanalizacích, dále pak u lidí pracujících v laboratořích a u deratizačních služeb. K nákaze může u lidí dojít i při vodních sportech (Robinson et Metcalfe, 1976).

K projevení nemoci může dojít 2. – 20. den od dne nakažení lidského organismu. První příznaky jsou často mírné, chybně bývají přirovnávány k chřipce. Mnohem méně se infekce projevuje jako velmi těžké multiorgánové selhání související se selháním ledvin a jater. Projevit se může také plicním krvácením. Pokud se nakazí těhotná žena, může dojít i k potratu (Levett, 2001).

3.1.2.5 Leptospiróza u koček

Leptospirózou mohou být infikovány také kočky, i když klinické příznaky nejsou důkladně zdokumentovány (Dickeson et Love, 1993).

V tvorbě protilátek proti leptospiroze nebývá nalézán žádný významný rozdíl mezi zdravými a nemocnými zvířaty (Mylonakis et al. 2005). V jedné ze studií je uváděno, že kočky, které trpí onemocněním ledvin ať už chronickým nebo akutním mají tvorbu protilátek proti *Leptospira spp.* vyšší a z tohoto důvodu se leptospiry dostávají do jejich moči (Rodriguez et al. 2014). Bylo také prokázáno vylučování leptospir močí zdravých koček (Fenimore et al. 2012).

Ve Španělsku byl proveden výzkum prokazující leptospirózu u divokých koček. Výsledkem bylo potvrzení leptospirózy u 14% testovaných koček. Nejčastěji byla zvířata napadena sérovary *icterohemorrhagiae*, *ballum* a *sejroe*. Více než 20% bakterií u těchto koček bylo nalezeno v jejich orgánech (Millán, 2009).

Ve výzkumu z Řecka bylo potvrzeno 31% zdravých koček s pozitivními titry protilátek k sérovarům *autumnalis*, *bratislava*, a *bataviae* (Mylonakis, 2005), naopak mezi nejčastěji nalézané sérovary u koček ve Skotsku patří *hardjo*, *autumnalis*, a *icterohemorrhagiae* až u 9,2% koček (Agunloye, 1996).

V rámci výzkumu se kočky infikovaly serovarem *Pomona*, výsledkem byly projevy leptospiremie, leptospirurie, dále se vyskytla poškození na játrech a ledvinách, ale případy nebyly klinické (Fessler et Morter, 1964).

Ať už se kočky nakazí leptospirózou přirozeně v přírodě nebo v rámci výzkumu, nejčastějším nálezem je intersticiální nefritida (Fessler et Morter, 1964; Rees, 1964; Hemsley, 1956; Arbour et al., 2012).

Výzkum z USA, ke kterému byly použity tři kočky nakažené leptospirózou, prokázal u všech zkoumaných zvířat selhání ledvin, avšak poškození jater nalezeno nebylo (Arbour et al., 2012).

Ve Velké Británii byly leptospiry získány z hrudní tekutiny, komorové vody a ledvin kočky při pitvě, kdy v organismu byly pozorovány změny v podobě nadměrného krvácení, zbarvení tekutiny v dutině hrudní a v oblasti pobřišnice do slámově zlaté barvy (Bryson et Ellis, 1976).

Studie v Brazílii prokázala, že u 2 z 57 divokých a zkoumaných kočkovitých šelem, byly zjištěny protilátky proti *Leptospira spp.*, to nám dokládá, že i divoké kočkovité šelmy se mohou nakazit leptospirózou (Ullmann et al. 2012).

3.2 Základní údaje

Leptospiroza je bakteriální infekce vyskytující se psů, méně často u koček, ale napadá i jiné druhy savců. Patří mezi velmi nebezpečné zoonózy (Svoboda et al., 2001).

Leptospiroza se řadí mezi spirochetová onemocnění. Tato zoonóza je všudypřítomná. U lidí je infekce méně častá, ale pravděpodobně velmi podceňována, a to i přes vysoký stupeň prevalence tohoto onemocnění jak už u divokých, tak i některých domácích druhů zvířat (Macpherson et al., c2000).

Vyznačuje se častou přírodní ohniskovostí. Hlavním rezervoárem rodu *Leptospira* je velké množství volně žijících hlodavců (Sedlák et Tomšíčková, 2006). Nejčastější výskyt leptospirozy v ČR můžeme pozorovat u divokých zvířat, a to zvláště u zajíce polního a králíka divokého. Sérovary, které napadají tyto hlodavce, se nazývají *Leptospira grippotyphosa* a *Leptospira Australis*. Je známo mnoho druhů sérovarů, mezi které patří i velmi nebezpečný *Leptosira Icterohaemorrhagica*. Tento druh se vyskytuje především v mnoha populacích potkanů i jiných myšovitých hlodavců. V České republice se protilátky u již zmíněných druhů zvěře vyskytují do 13%. Hlavními hostiteli pro toto onemocnění jsou převážně myšovití hlodavci (Bukovjan, 2008).

Průběh této zoonózy bývá převážně subklinický. Rod *Leptospira* je dělen do několika druhů sérovarů, z nichž některé mohou vyvolat akutní klinické formy, které u psů často způsobují selhání ledvin a jater, dále pak dochází k multisystémovému postižení. Tyto sérovary se vyznačují vysokou mortalitou postižených zvířat (Svoboda et al., 1996).

Původcem tohoto onemocnění je *Leptospira interrogans* G-, velmi pohyblivé aerobní bakterie (Svoboda et al., 2001). Jsou podlouhlého spirálovitého tvaru, zakončené háčkem. Od ostatních spirochét je lze odlišit díky jejich specificky tvořenému konci, který je buď ve tvaru háčku nebo otazníku (Faine et al., 1999). Je zařazena mezi spirochéty. (Johnson et Faine, 1984) Velikost leptospir činí 6 – 12 x 0,1- 0,2 μm (Brich – Andersen, 1973). Jejich malý rozměr nám neumožňuje nebarvené leptospiry vidět je v normálním světelném mikroskopu, vidět je můžeme pouze v temném poli fázového kontrastu. Mezi leptospiry řadíme druhy patogenní, ale i saprofytické (Sedlák et Tomšíčková, 2006).



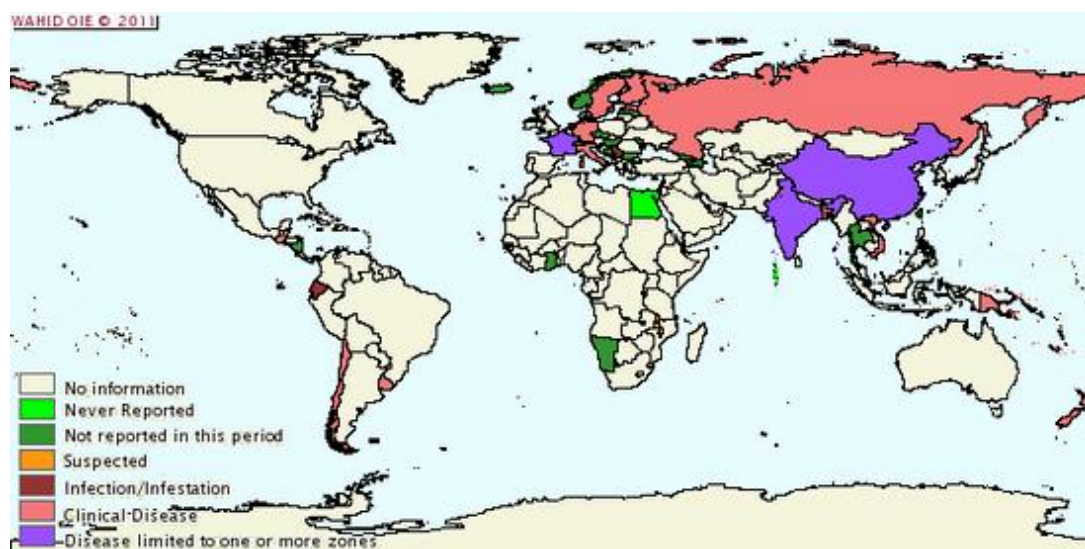
Obrázek 2. *Leptospira interrogans*.
Dostupné z: <http://www.caribvet.net/en/diseases/leptospirosis>

3.3 Výskyt

Vhodné podmínky a prostředí pro přežití leptospir jsou nejčastěji stojaté vody nebo mírně tekoucí povrchové vody např. rybníky, kaluže a potoky. Leptospiry nepřežívají pouze ve vodním prostředí, ale vhodná je pro ně také vlhká půda. K úspěšnému přežití této zoonózy ve vodě může dojít pouze za předpokladu neutrální nebo mírně alkalické reakce. Za uvedených podmínek zmiňovaných výše jsou leptospiry schopny žít až několik týdnů. Nevhodné jsou pro ně naopak znečištěné nebo kontaminované vody saprofilními bakteriemi. Tato nevyhovující prostředí přispívají leptospirám ke zkrácování délky jejich života (Svoboda et al., 1996).

Tyto bakterie jsou známé svou odolností vůči nízkým teplotám, naopak jsou velice citlivé k vysychání a UV záření slunečních paprsků. Velmi snadno je zničí i běžné dezinfekční prostředky a to i s nízkou koncentrací (Svoboda et al., 2001). Tato zoonóza se nejvíce vyskytuje v letním a podzimním období (Prescott, 2008; Weese, 2002), ale největší vliv na výskyt leptospirózy mají drobní hlodavci v rámci jejich rozmnožování. Sezóna, při které se tito malí savci přemnoží, je dána i vyšším výskytem leptospir (Sedlák et Tomšíčková, 2006).

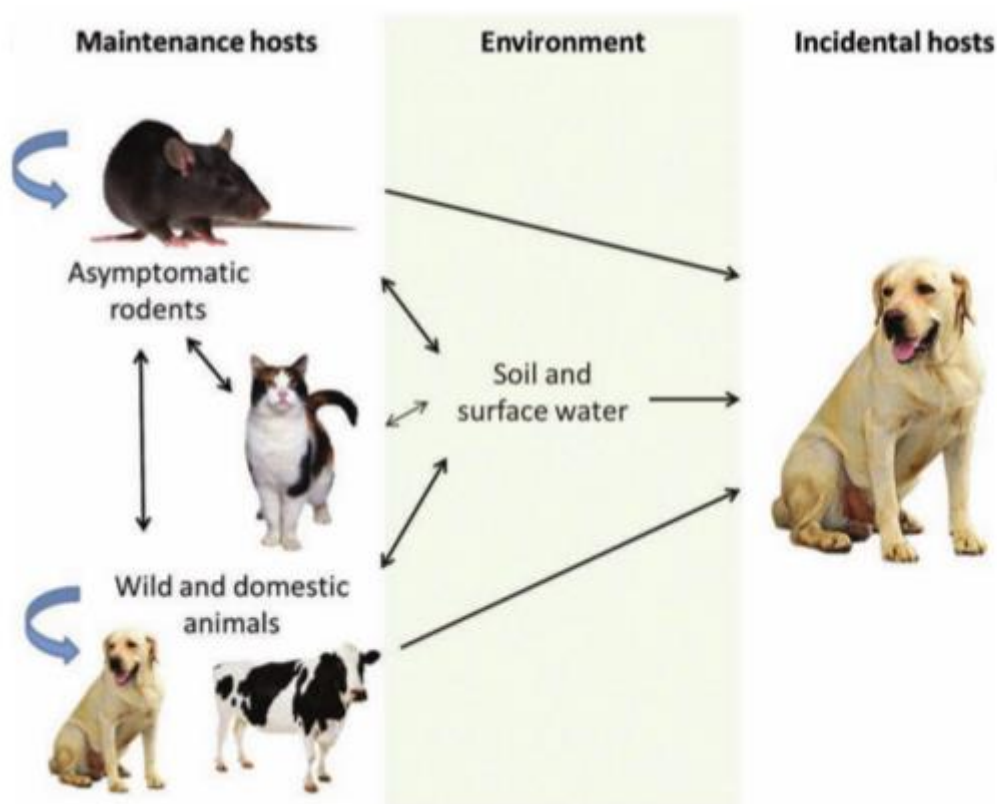
Leptospiróza je rozšířena po celém světě. Nejvíce se vyskytuje v oblastech, kde je vyšší teplota a vlhkost, také v místech s častými záplavami nebo alkalickou půdní reakcí. Tato zoonóza se týká především tropů a subtropů např. Asie, kde se můžeme nakazit především na rýžových polích, která jsou velmi vhodným prostředím pro život leptospir (Svoboda et al., 2001). V tropickém pásmu přežívají leptospiry prakticky celý rok (Langston et Heuter, 2003). Ačkoli je leptospiróza rozšířená po celém světě, rozsah sérovarů vyskytujících se v mírném pásmu je mnohem nižší, než v tropických zemích (Macpherson et al., c2000).



Obrázek 3. Rozšíření Leptospirózy ve světě – rok 2011.

Dostupné z: <http://www.caribvet.net/en/diseases/leptospirosis>

3.4 Přenos infekce



Obrázek 4. Možnosti přenosu leptospirózy (Schuller et al., 2015).

Je prokázáno, že leptospiry aktivně pronikají do hostitele neporušenou sliznicí nebo porušenou kůží, jako je třeba řezná rána a oděrka. Proniknout mohou také kůží po alespoň dvouhodinové maceraci ve vlhku. Přenos infekce pokousáním prozatím není prokázán, přenos touto cestou může nastat pouze při současném potřísnění močí. (Levett et al., 2006).

Jestli-že se leptospirám podaří vniknout sliznicí nebo poraněnou kůží do hostitele, snaží se co nejrychleji dostat do krevního oběhu, kde se následně pomnoží. Jejich cílem je napadení orgánů jako jsou játra, ledviny, CNS, slezina, oči a pohlavní soustava. Po napadení cílových orgánů probíhá další množení těchto bakterií. Organismus napadeného jedince se následně brání imunitní reakcí, která bývá velmi účinná a bakterie leptospir vyhubí, ale v místech proximálních tubulů ledvin většinou bakterie zůstávají (Iwamoto, 2009).

Přenos transplacentární, venerický, přenos mlékem při kojení a pokousáním jsou pouze úvahami vědců, nejsou pro ně žádné reálné důkazy. Leptospiry sice mohou krátkodobě přežívat i ve členovcích, ale přenos z členovců jako vektorů není vědecky prokázán. Hlavními hostiteli této zoonózy jsou hlodavci, kteří vylučují leptospiry močí, to znamená, že významný zdrojem infekce je moč hlodavců. U psů s leptospirovým onemocněním je riziko nakažení jejich močí mnohem nižší vzhledem k obvykle kyselé reakci, kterou leptospiry většinou nejsou schopny přežít (Svoboda et al., 1996). Rezervoárový druh adaptovaný na určitý sérovar po svém infikování neonemocní, ale vylučuje močí velké množství leptospir a tím infikuje své okolí (Sedlák et Tomšíčková, 2006).

Nejčastější způsob nákazy je nepřímý přes kontaminovanou vodu, potravu, půdu, vegetaci, méně častý je pak přenos přímým kontaktem s rezervoárovým zvířetem. Psi, kočky a jiní savci se mohou nakazit louží infikovanou močí hlodavců nebo při ulovení rezervoárového zvířete. To je důvod, proč se protilátky objevují spíše u loveckých a pracovních plemen psů, dále pak u toulavých venkovských psů. Tvorba protilátek stoupá se zvyšujícím se věkem psa, protože se zvyšuje pravděpodobnost střetu infekčním agens.

Přenos leptospir mezi psy většinou neprobíhá, výjimkou je sérovar *L. canicola*, u kterého je přenos infekce mezi psy běžný. K nakažení psů stačí pouze několik mikroorganismů, což je velmi malé množství s ohledem na koncentraci leptospir v moči, jež se řádově dosahuje množství $10^5/1\text{ml}$ (Svoboda et al., 2001).

4 Patogeneze

Infekce bakteriemi leptospir se nejčastěji projevuje žloutenkou. Ta vzniká na základě napadení jater, které je doprovázeno selháváním ledvin a postižením celého organismu zvířete. Takto postupující infekce většinou končí úmrtím jedince (Sedlák et Tomšíčková, 2006).

Uvádí se, že inkubační doba leptospir může dosahovat 3 – 30 dnů, avšak nejvíce zveřejňovaná délka inkubace se pohybuje v rozsahu 7 – 12 dnů. První dny, kdy se leptospiry začínou objevovat v krvi nakaženého zvířete, jsou mezi 4. – 12. dnem po infekci. V tomto období nemusí způsobit lokální infekci v místě, kudy leptospiry pronikají do organismu (Svoboda et al., 2001).

Po 2 – 8 dní trvající leptospirémii pronikají tyto bakterie do ledvin a jater, kde mohou napáchat velké škody v rámci multisystémového poškození organismu (Svoboda et al., 1996). Organismus je schopen obrany tvorbou specifických protilátek, kterých je potřeba pro přežití nebo úplné vyléčení velké množství. Jedná se především o IgM a IgG protilátky (Biancifiori et Cardaras, 1983). Je potřeba, aby se protilátky proti sérovarům napadající organismus zvířete vytvořily do 7 – 8 dne po infekci a to v dostatečném množství. Tyto obranné látky se následně podílí zejména na obraně ledvin a jater. Čím méně protilátek organismus vytvoří, tím menší je pravděpodobnost přežití organismu. Na to poukazují hodnoty protilátek u psů s letálním průběhem choroby, kteří mají často nízké titry protilátek, naopak psi s lehkou formou onemocnění tvoří obvykle vysoké množství protilátek. O tom jak závažný průběh choroby vznikne, rozhoduje také virulence a infekční dávka etiologického agens (Svoboda et al., 2001).

Jedním z faktorů patogenity leptospir jsou toxiny. Ty často způsobují nekrózu tkání, pomocí diseminované intravaskulární koagulace, která nekrózu tkání způsobuje nedostatkem jejich okysličení (Knight et al., 1973).

Dalšími faktory patogenity jsou hemolyziny a lipázy. Při migraci leptospir z krevního řečiště do jater nebo ledvin, poškozují stěny kapilár. Poškozování stěn kapilár společně s dalšími faktory také napomáhá rozvoji DIC (Svoboda et al, 2001).

4.1 Ledviny

Ledviny jsou leptospirami napadány často i u zvířat s inaparentní infekcí. Téměř všechny sérovary této zoonozy jsou známé svou afinitou k ledvinám. K pomnožování leptospir v tomto orgánu nejčastěji probíhá v epitelu tubulů (Svoboda et al., 1996).

4.1.1 Akutní renální selhání - ARF

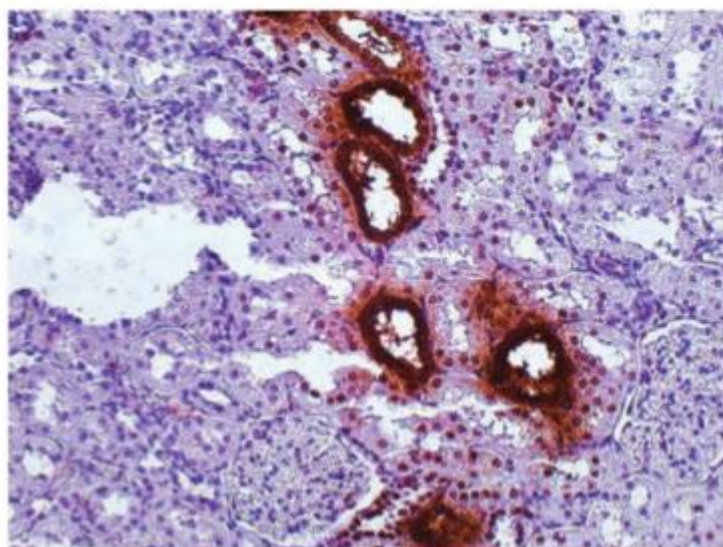
Následkem poškození ledvin vzniká zánět a akutní renální selhání (ARF). Po uplynutí doby 7 – 8 dnů po infekci, se leptospiry objevují v moči. Místy, kde mohou bakterie uniknout eliminaci imunitním systémem hostitele, jsou například buňky renálních tubulů, ale také centrální nervová soustava a oči. Rezervoárová a nakažená zvířata pak mohou leptospiry intermitentně vylučovat močí po dobu až 4 let. Pouze malá část případů chronické intersticiální nefridity, příp. tzv. end stage kidney, je následkem infekce bakteriemi leptospir, a to hlavně sérovarem *Leptospira canicola* (Svoboda et al., 1996).

ARF může být doprovázeno renální infarktizací, za předpokladu vzniku ARF koagulopatií (např. diseminovaná intravaskulární koagulace při septických stavech – akutní pankreatitida a leptospiróza) nebo také při bakteriální endokarditidě.

Při echogenitě infarktů hraje významnou roli jejich stáří. Na počátku bývají hypoechogenní. K fibróze a zvýšení echogenity dochází po jednom týdnu (Kučera et al., 2007).

4.1.2 Chronické renální selhání – CRF

Mýty o leptospiróze často říkají, že tato infekce způsobuje CRF. Pokud se potvrdí, že je leptospiróza původcem CRF, jedná se o vzácný úkaz. Nejvíce se vyskytující abnormality u ledvin při leptospiróze jsou renomegalie, pyelektázie, hyperechogenní kůra ledvin, perinefrická efuze a hyperechogenní pruh v dřeni ledvin. Hyperechogenní pruh bývá představitelem specifického sonografického příznaku leptospirózy. Sonogram ledvin je u některých psů často bez nálezu (Kučera et al., 2007).



Obrázek 5. Chronicky infikované tkáně ledvin leptospirami (Schuller et al., 2015).

4.1.3 Difúzní abnormality parenchymu

Mezi difúzní abnormality parenchymu řadíme echogenitu ledvin. Pokud se tento nález prokáže, je posuzován subjektivními metodami, při kterých porovnáváme parenchym jater, sleziny a kůry ledvin. Echogenita ledvin se dělí na sníženou echogenitu kůry a sníženou echogenitu kůry. Dalším nálezem může být medulární lem – echogenní prstenec okraje dřene (Kučera et al., 2007).

4.1.3.1 Zvýšená echogenita

Leptospiroza je jedním z onemocnění, které může způsobit uniformně zvýšenou echogenitu kůry. V tomto případě dochází ke zvýraznění kortikomedulárního rozhraní. U koček bývá tento nález běžný a to i v případě, že zvířata nejsou nemocná. Důvodem těchto nálezů u zdravých koček je ukládání vakuol v proximálních stočených kanálcích uložených v kůře ledvin. Zvýšená echogenita kůry u koček bývá zjišťována především u starších kastrováných kocourů a u koček v březosti. V tomto případě je možné mluvit buď o normálním nálezů, nebo o nálezů patologickém (Kučera et al., 2007).

4.1.3.2 Medulární lem

Ultrasonograficky je občas nalézán medulární lem v oblasti mezi kůrou a dřením ledvin. Tento nález můžeme nalézt u zdravých psů a koček, tak i u různých onemocnění, mezi která spadá i leptospiróza (Kučera et al., 2007).

4.2 Játra

Jak již bylo dříve zmíněno, leptospiry nepostihují pouze ledviny. Dalším orgánem, který je při tomto onemocnění kolonizován leptospirami, jsou játra. Zde leptospiry vyvolávají akutní hepatitidu s intrahepatální cholestází, nekrózou hepatocytů a také může dojít k akutnímu selhání jater. I když v klinickém obraze dominuje výrazný ikterus, není podmínkou, aby postižení jater bylo limitujícím faktorem pro přežití napadeného zvířete. U psa se homolýza podílí na vzniku ikteru jen z velmi malé části. V chronickou aktivní hepatitidu může vyústit sérovar *L. grippotyphosa*. Důsledkem poškození jater leptospirovou nákazou může vzniknout fibróza jater (Svoboda et al., 2001).

4.3 Ostatní orgány

Mezi další orgány, nebo části orgánů, které mohou leptospiry napadnout a poškodit jsou například CNS, mozkové pleny, oko, plíce, srdce, slezinu, gastrointestinální systém, pohlavní soustavu a mnoho dalších orgánů (Weese et Fulford, 2011). K rozvoji plicního edému může dojít při vaskulitidě plicních cév. Významnou roli má například abnormální imunitní reakce a to zejména při pozdních změnách.

Leptospira icterohaemorrhagiae dosahuje 30 – 90% úmrtnosti při akutních infekcích (Svoboda, 1996).

5 Symptomy

Nejčastějším průběhem infekce u psů je průběh inaparentní. Někdy je také vyzdvihován průběh chronický. Závažnost klinických příznaků může být různá, rozdíly jsou kladeny na oblasti, kde se infekce vyskytuje, ale také na věk daného jedince a jeho zdraví (Svoboda et al., 2001).

Formy projevů u leptospirózy mohou být perakutní, akutní, subakutní a chronické (Weese et Fulford, 2011).

Perakutní forma této infekce se vyskytuje velmi málo, avšak její průběh je velmi krátký, protože vede k exitu ještě před rozvojem selhání ledvin a jater (Svoboda et al., 2001). Úmrtí jedince v tak rychlém průběhu je důsledkem masivní leptospirémie (Greene, c2012), šoku a poruch koagulačního systému (DIC). Projevem toho je vznik četných hemoragií, epistaxí a krvácení do GIT. Ikterus se v tomto případě nestačí rozvinout.

Chronická forma onemocnění je hůře zjištělná. Může se projevit horečkou, jejíž původ je nám neznámí. Horečkou se projevuje i *uveitid anterior*, chronická aktivní hepatitida nebo chronická nefritida. Mezi těmito formami existují plynulé přechody (Svoboda et al., 1996).

Mezi projevy akutní formy infekce patří horečka, svalový třes a bolest svalstva, dále pak zvracení, dehydratace, kolaps cév (Lagston et Heuter, 2003). Občasným příznakem může být i intususcepcce střeva, která je příčinou zánětu v GIT (Schweighauser et al., 2009; Schulz et al. 2010).

V tomto případě o výsledku nemoci rozhoduje věk jedince a schopnost imunitního systému odpovídat na patogeny dostatečně velkou imunitní reakcí. Podstatnou roli hraje i virulence (Levett, 2001). Velmi často vede ke smrti jedince a to dříve než dojde k poškození ledvin a jater (Lagston et Heuter, 2003).

V současné době je v České republice onemocnění leptospirami zjišťováno pouze sporadicky. *Leptospira icterohaemorrhagiae* je u nás stále nejčastějším původcem klinické leptospirózy u psů. U nejčastěji diagnostikované akutní formy tohoto sérovaru, bývá nejčastějším příznakem ikterus. Mezi projevy ikteru patří například náhlý nástup výrazné apatie, anorexie a zvracení. Stadium leptospirémie je doprovázeno horečkou, avšak toto stádium většinou vůbec nezachytíme (Svoboda et al., 2001).



Obrázek 6. Ikterická spojivka (Svoboda et al., 1996).

Nespecifické počáteční příznaky zahrnují také tonzilitidu, překrvení sliznic, episklerální tiple, třes a někdy rovněž průjem. K dehydrataci a elektrolytové disbalanci organismu pacienta vedou renální selhání společně s nejčastějšími gastrointestinální příznaky. Eroze, ulcerace stupňující se až k nekrotickým v dutině ústní a to zejména bukální sliznici a špičce jazyka, jakož i halitóza, patří k příznakům urémie. Občas je součástí zvratků a feces

i krev. Součástí uremického syndromu je také hemoragická gastroenteritida nebo se na krvácení do GIT podíl i DIC. Zbarvení trusu může být i světlé, to znamená, že k defekaci delší dobu nedochází (Svoboda et al., 1996). Leptospiroza u psů se může projevit i krváceninami jako například hemoptýzou, epistaxí, hematemézou, hematochezií, melenou, hematurii a petechií (Kohn et al., 2010; Mastroilli et al. 2007).

Studie prokázala, že u 298 psů ve výzkumu s akutní leptospirozou se u většiny z nich 99,7% projevil komplikace u ledvin. Nižší procentuální zastoupení 35,4% bylo prokázáno poškození jater v rámci nadměrných hodnot bilirubinu. Druhým nejvyšším výsledkem 68,8% bylo prokázáno napadení plic. DIC bylo nalezeno u 18,4%. U většiny psů 43,6% se prokázaly současně dva z těchto faktorů. Zapojení pouze jednoho příznaku bylo u 24,5%. Zajímavé je, že zapojení tří orgánových systémů se projevilo u 23,2%, zatímco čtyři orgánové soustavy byly prokázány pouze u 8,7% psů (Major et al., 2014).

Biochemickým vyšetřením lze prokázat poškození jater, vyznačující se velkými změnami, které svědčí o intrahepatální cholestázi nad známkami hepatocelulárního poškození. Nakažený jedinec má tmavší zbarvení moči, což způsobuje zvýšený obsah bilirubinu. Hladina bilirubinu je často příliš vysoká a přesahuje hodnoty 200 – 300 $\mu\text{mol/l}$, přičemž převládá bilirubin konjugovaný. Čím je hladina bilirubinu vyšší, tím se projevují i závažnější poškození orgánů. Co se týká jaterních enzymů, nejvíce se zvyšují hodnoty u ALP, a naopak aktivita ALT se zvyšuje pouze umírněně. ALT většinou nebývá vyšší než 5 $\mu\text{kat/l}$, výjimečně 10 $\mu\text{kat/l}$. Následně může stoupat aktivita AST, LD, amylázy a při poškození svalstva také CK. Zvýšení koncentrace gamaglobulinů a snížení stavu albuminu poukazuje na hepatitidu. V tomto případě se množství fibrinogenu zvyšuje, ale při DIC klesá (Svoboda et al., 2001).

Dalším symptomem je například ikterus na sklérách, sliznicích a nepigmentované kůži. Zhoršení pohybových vlastností zvířete, jako je třeba neochota k pohybu, toporná chůze a hyperstene bývá často důsledkem celkové slabosti organismu, ale také se na tom může podílet myalgie nebo meningitida, která může probíhat i subklinicky (Svoboda et al., 1996).

Palpační vyšetření břicha je často bolestivé, nejvíce však v oblasti orgánů, které bývají leptospirami nejvíce kolonizovány, a to je oblast jater a ledvin, slinivka. Příčinou může být i zánět orgánů (Greene, c2012). Oligurie doprovází selhání ledvin. Byla pozorována u 30 % psů s akutní formou (Major et al., 2014). Mohou se projevit i respirační jako například tachypnoe, dušnost nebo také edém plic (Kohn et al., 2010). Chropy při postižení plic a vzácně i srdeční šelest při endokarditidě můžeme zjistit auskultací. Urémií, meningitidou nebo jaterní encefalopatií mohou být také vyvolány nervové příznaky. Po následném překonání akutního stádia nemoci se v některých případech objevuje polyurie.

Popisovány jsou i další nálezy, jako je ascites, fotofobie nebo vzácná *hyphaem* (Svoboda et al., 2001).

Leptosiróza psů může způsobit i poruchy plodnosti. U Fen jsou popisovány potraty a sterilita způsobená sérovarem *Leptospira bratislava* (Ellis, 1986). Byl prokázán vliv leptospirózy na předčasný porod zapříčiněný sérologickou skupinou Djasiman v Buenos Aires (Rossetti et al., 2005).

Hypotermii můžeme u pacienta zjistit v terminálním stádiu (Svoboda, 2001). Občasnou komplikací při nakažení touto zoonózou bývá intususcepce střeva (Schweighauser et al., 2009; Schulz et al., 2010). Přestože je tato komplikace méně častá, její následky jsou letální, neboť operaci nebývá možnost provést. Pokud si organizmus projde tímto onemocněním, může se u něj následně projevit retinitida a uveitida, popřípadě postižení kůže nebo nervového systému na základě odolnosti imunitního systému (Svoboda et al., 1996).

Aboritivní průběh nemoci je významný slabostí organismu, mírnými poruchami všeobecného stavu a zvýšenou teplotou. Někdy se však příznaky neprojeví a jediným symptomem je tonzilitida. Nejčastějšími nálezy při mírném průběhu zoonózy je ikterus, nevýrazná azotemie a dále může dojít ke zvracení pacienta (Svoboda et al, 2001).

Hematologickým vyšetřením můžeme zjistit leukocytózu s neutrofilii. Na počátku infekčního onemocnění leptospirami lze indikovat leukopénii ve fázi leptospirémie. Ta ovšem nebývá registrována. Lymfocytózu lze zjistit v pozdních stádiích infekce. Další nálezy mohou poukazovat na mírnou anémii, monocytózu, trombocytopénii, dále také změny koagulačních parametrů, které jsou charakteristické pro DIC.

Azotémie poukazuje na selhání ledvin a to výrazným vzestupem hladiny močoviny a hlavně kreatininu a také hyperfosfatémií. Rovněž může dojít k metabolické acidóze, hypoglykémii, hyponatrémii, hypokalémii a hypochlorémii. V terminálním stádiu se většinou vyskytuje hyperkalémie a hyperglykémie (Svoboda et al., 1996).

Vyšetřením moči psů s leptospirózou můžeme zjistit izostenurii, někdy také hypostenurii (Mastrorilli et al., 2007). Dalšími nálezy při vyšetření moči mohou být pyurie a hematurie (Kohn et al., 2010). U většiny psů se pravidelně vyskytuje proteinurie (Zaragoza et al., 2003). Po sedimentaci moči většinou nalezneme granulované nebo leukocytární válce, leukocyty a erytrocyty (Svoboda et al., 2001).

6 Diagnostika

Vychází z anamnézy, což může představovat nedostatečnou vakcinaci, možnost kontaktu s močí hlodavců a s nimi samými. Dalším kritériem je klinické vyšetření, kdy se projevuje náhlý nástup příznaků nebo různé projevy zhoršení stavu zvířete. Nejdůležitější je však laboratorní vyšetření, které nám může prokázat leukocytózu, současné akutní renální selhání a poškození jater. Je těžké diagnostikovat počáteční stádia a lehké formy bez ikteru s nespecifickými příznaky jako např. *tonsilitis* a gastrointestinální příznaky.

Specifické prokázání leptospirózy je nesnadné vzhledem k obtížnému rozpoznání původců v tekutinách a tkáních a vysokým nárokům na kultivaci. S ohledem na pomalu rostoucí bakterie leptospir a jejich možné kontaminování jinými organismy, by měl být jejich odběr pro následnou kultivaci co nejšetrnější. Zmrazení kultivačního materiálu je nepřípustné (Svoboda et al., 2001).

Pro zvolení správné diagnostické metody si nejprve musíme ujasnit cíle, kterých chceme při testu dosáhnout. ELISA je velmi jednoduchá sérologická metoda a její předností je i cenová dostupnost oproti jiným metodám. Nevýhodou bakteriologických kultur však zůstává poměrně dlouhé období testu a pozdní získání výsledků. Další používanou metodou je (FAT) test fluorescenční protilátky. Nejvhodnější diagnostickou metodou je metoda PCR, která se používá především pro testování moči u skotu a lidí (Wagenaar, 1994)

Pro zjištění leptospirózy u psů se standardně používá mikroskopický aglutinační test – MAT (Langston et Heuter, 2003). Pokud potřebujeme diagnózu určit dříve, použijeme vyšetření ELISA, ta je především pro zjištění akutní formy onemocnění. Součástí tohoto testu je porovnání protilátek IgM a IgG, kdy se vysoké hodnoty IgM projeví hned na počátku onemocnění. Titry protilátek IgG se naopak zvyšují později, ale o to déle v organismu přetrvávají (Hartman et al., 1986).

Leptospiróza: možnosti předčasné laboratorní a klinické diagnózy

Nejčastěji používanou metodou pro diagnostiku leptospirózy je mikroskopický aglutinační test (MAT). Použít můžeme i test ELISA. Tyto dvě diagnostické metody by měly být použity pouze pro potvrzení leptospirózy, která byla primárně diagnostikována metodou PCR. Metoda PCR má všobecně spolehlivější výsledky než MAT nebo ELISA. PCR nám může prokázat i meningitidu u dětí způsobenou leptospirózou.

Ve výzkumu, kde bylo testováno 103 pacientů, byla meningitida prokázána metodou PCR u 39,8%, zatímco u metody MAT pouze 8,7% a ELISA 3,9%.

V roce 2002 – 2010 probíhal výzkumu v České republice, při kterém bylo vyšetřováno 4,813 pacientů. U všech pacientů bylo přijetí do nemocnice zapříčiněno horečkou neznámého původu. Následně se projevíly symptomy vedoucí vědecký tým k podezření na leptospirózu. U pacientů byla použita metoda PCR nebo MAT. U některých pacientů se použily obě metody.

Z celkového počtu vyšetřovaných pacientů byla leptospiróza prokázána sérologickým vyšetřením u 89 jedinců. U 855 pacientů byly použity metody MAT a PCR, kdy se leptospiróza prokázala u 39 osob. Výsledky 36 osob byly rozděleny podle použitých metod. PCR negativní a MAT pozitivní výsledky byly u 21 pacientů a PCR pozitivní bylo 15 osob. U 15 osob, na kterých byly použity obě metody, leptospirózu prokázaly u 14 z nich. Pouze u jednoho pacienta bylo vyšetření PCR pozitivní a MAT negativní (Cermakova et al., 2013).

Dříve než použijeme antibiotika ve fázi leptospirémie, je možné se pokusit o hemokultivaci, pro kterou je vhodné použití antikoagulancia a to především heparin nebo oxalát sodný. Je zjištěna nevhodnost citrátu, jelikož zastavuje růst leptospir. Pro kultivaci lze použít bakterie odebrané z mozkomíšního moku. Z moče zvířat lze kultivovat déle než z krve. Vyšetření moče provádíme opakovaně cystocentézou , jelikož vylučování leptospir může být intermitentní (Svoboda et al., 2001).

Kultivovat lze i z čerstvých orgánů a to zejména z ledvin a jater, které získáme po smrti jedince (Langston et Heuter, 2003). Pro kultivaci je vhodné leptospiry izolovat na modifikované Korthofově půdě. Minimální doba, pro zjištění výsledky kultivace jsou 2 týdny, avšak optimální jsou 3 – 4 týdny. Nejvhodnějšími druhy zvířat k biologickým pokusům jsou mláďata hlodavců a to především křečků, morčat nebo králíků (Svoboda et al., 1996).

Moč masožravců, která je obvykle kyselá, způsobuje rychlý úhyn a následný rozpad těchto bakterií (Svoboda et al., 1996). Mikroskopii v zástinu nebo pomocí fázového kontrastu jsou tedy těžko zjistitelné. Vzhledem k tomuto faktu je nutné vyšetření moči provést ihned po odebrání vzorku (Schuller et al., 2015) a popřípadě ji alkalizovat. Toto vyšetření je pro nás pouze orientační. V závislosti na nálezech připomínajících leptospiry, musíme jejich přítomnost prokázat dalšími metodami.

Fluorescenční protilátky nám umožní prokázat leptospiry v moči, a také v orgánech, jako jsou játra, ledviny atd. K prokázání leptospir je možné použít metody roztěru, otiskových preparátů a řezů, kde tyto bakterie barvíme podle Giemsy nebo je můžeme impregnovat solemi stříbra (Svoboda et al., 2001).

6.1 MAT – mikroskopický aglutinační test

V rámci diagnostiky má velmi významnou roli mikroskopický aglutinační test MAT, který je nejčastěji používán pro zjištění akutní leptospirózy. Jeho využití má význam i při prokázání *Leptospira spp.* u psů kteří byli infikováni dříve, ale infekce se u nich neprojevila, díky jejich dobré imunitní ochraně (Arent et al., 2013).

Diagnózu nemůžeme postavit na jednorázovém stanovení titru specifických protilátek, jelikož zdravý pes může mít protilátky po dříve prodělaných subklinických infekcích, kdy jejich titry mohou dosahovat hodnot 12.800 a více (Svoboda et al., 2001).

V porovnání mezi prodělaným onemocněním a postvakcinací titrů, bylo zjištěno, že titry vakcinované nedosahují takové výše a rychleji klesají. Týká se to především

vakcinačních sérovarů *Leptospira icterohaemorrhagiae* a *Leptospira canicola*. Výše titru specifických protilátek nekoresponduje s protekcí po vakcinaci. Jestliže je pes nebo chronický nosič v počátečním stádiu ošetřen antibiotiky, objevují se u něho nízké hladiny protilátek (Svoboda et al., 1996).

Metoda MAT se používá k rozpoznání protilátek proti leptospiróze (Faine, c1994). Vyšetření MAT se provádí na základě sériových ředění séra pacienta, kde se následně aglutinované živé sérovary přežívají *in vitro* podmínkách (Levett, 2001). Procento aglutinovaných protilátek je pak určeno pod mikroskopem v zástinu. Jedná se především o protilátky IgM a IgG. Na počátku infekce jsou titry vyšší, proto by se tento test měl provést co nejdříve.(Fairbrother, 1985).

Měli bychom zohlednit fenomén koaglutinace a to při interpretaci sérologických vyšetřeních. To znamená, že může docházet ke shlukování například mezi leptospirami sérologické skupiny *Pomona* se séry s vyššími titry protilátek proti *L. grippotyphosa*, dále pak sérum s protilátkami proti *Leptospira icterohaemorrhagiae* a *L. copenhageni* reaguje s leptospirami skupiny *Javanica* a *Canicola* atd. Může dojít k omylu při prokázání infekce *L. pomona* a *L. canicola* u předem zmíněných nálezů. Za vyvolání konglutinace často mohou parciální antigeny, ty mají význam hlavně při nižším ředění séra. Jev zvaný spoluaglutinace znamená nakažení organismu současně dvěma nebo více sérovary. Jestliže v počátečním stádiu nákazy sérum podané pacientovi nereaguje se specifickým antigenem, ale reaguje s antigenem nespecifickým, mluvíme tedy o Fühnerově fenoménu paradoxní aglutinace. Následně se vyskytne stoupající specifický titr, přičemž nespecifický klesá (Svoboda et al., 2001).

6.2 ELISA – Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

Pokud najdeme u nevakcinovaných psů bez klinických příznaků leptospirózy pozitivní titry specifických protilátek, to nám poukazuje na předchozí kontakt s infekčním agens. Tyto nálezy nemůžeme hodnotit jako abortivní nebo chronickou formu leptospirózy. Při výskytu nespecifických příznaků je důležité vyšetření opakovat. Postvakcinační titry, zkřížené reakce a titry po dřívějších subklinických infekcích lze odlišit opakovaným vyšetřením po 2 měsících, jelikož titry protilátek zůstávají vyšší, než je tomu u sérovaru, který způsobil

recentní klinickou infekci (Svoboda, 1996). Vyšetření ELISA je mnohem citlivější a objektivnější než metoda MAT (Mendoza et Prescott, 1992).

Za tímto účelem je vhodné použít metodu ELISA, která nám pomůže stanovit kombinaci IgG a IgM. Imunoglobulin M přetrvává v organismu nakaženého jedince pouze 2 týdny, má však dřívější funkci než imunoglobulin G a projevuje se inhibicí růstu leptospir. Po vakcinaci pacienta můžeme z vyšetření zjistit velmi nízkou hladinu IgM a zvýšení hladiny IgG. Imunoglobulin G se v organismu začne vyskytovat až několik dní po IgM. Tento imunoglobulin způsobuje lýzu bakterií leptospir a v organismu se může vyskytovat až několik měsíců po předem podaném vakcinačním séru. Po infekci přirozené se však může objevovat mnohem delší dobu (Svoboda et al, 2001).

6.3 PCR – polymerázová řetězová reakce

Metoda PCR je založena na zjištění DNA. Při leptospirose jsou tedy vyhledávány DNA leptospir. V tomto případě mluvíme o metodě přímé identifikace a můžeme jí vyšetřovat krev, moč, ale také tkáňové vzorky (Schuller et al., 2015). Její velkou výhodou je citlivé zjištění mikroorganismů pomocí primerů (Gerritsen et al., 1994), za krátkou dobu (Gravekamp et al., 1990).

V krvi bývají leptospiry nalézány během prvních 10 dnů od infikování jedince, po té se začínají objevovat i v moči (Greenlee et al., 2005). O tomto faktu rozhoduje především imunitní systém infikovaného zvířete a patogena. V rámci výzkumu byli psi infikováni sérovarem canicola. Z testované krve pomocí PCR metody byla leptospirose zjištěna 4. den a později negativní, zatímco vyšetření moči bylo 4. den negativní a pozitivní až v den 8., 19. a 26. Je proto doporučováno dělat vyšetření krve i moči. Po smrti jedince je možné prokázat leptospirosu touto metodou ze vzorků tkáně ledvin (Branger et al., 2005).

7 Terapie

Všechny bakterie leptospir jsou citlivé k antibiotikům, z tohoto důvodu jsou používána k jejich likvidaci antibiotika beta – laktamová. Při akutních a těžkých formách nákazy je pro přežití pacienta rozhodující míra zvládnutí akutního renálního selhání, DIC a případného selhání jater. Podáním antibiotik aminoglukosidů, můžeme zabránit dlouhodobému nosičství této zoonózy, avšak pouze v případech s příznivým vývojem. Nutná je denní kontrola klinického stavu, jejíž součástí je palpce břicha, která má vyloučit komplikace v podobě intususce střeva, ale také zachycení diurézy a stavu vnitřního prostředí (Svoboda et al., 1996).

V rámci zabránění rozšíření leptospirémie by měla být u všech nakažených zvířat započata terapie antimikrobiálními látkami. 24 – 48 hodin po započnutí terapie by mělo být vylučování leptospir zastaveno (Greene, c2012).

Na počátku onemocnění je možné podat pacientovi hyperimunitní sérum neboli imunoglobuliny. Pro tyto účely nyní existují polyvalentní přípravky zvané Stagloban P a Bodycan G (Svoboda et al., 2001).

Účinná antibiotika způsobují lýzu leptospir po velmi krátké době. Ve vysokých dávkách můžeme podávat antibiotikum penicilin G 2x denně intramuskulárně v dávce 25 000 – 40 000 j./kg (Kučera et al., 2007) nebo subkutánně po dobu 14 dnů. Pro urychlení nástupu účinku na počátku terapie je vhodné použít krystalické soli penicilinu G v dávce 20 – 40 tis. m.j./kg ž.h. 4x denně intravenózně. Aminopenicileny se používají v humánní medicíně, u psů však tyto látky nejsou dostatečně prozkoumány, a proto se nepoužívají (Svoboda et al., 2001).

Pokud je pacient alergický na penicilin, mohou se místo něj použít tetracykliny, ty jsou ale méně účinné a s výjimkou doxycyklinu i kontraindikované při renálním selhání. Doporučená dávka tetracyklinu je 22 mg/kg ž.h. 3x denně p.o. po dobu až 10 týdnů, a to i namísto streptomycinu při sanaci nosičů. Nevýhodou je však dlouhá doba podávání tetracyklinu a záleží na úsudku lékaře, zda je opravdu zapotřebí. Na začátku léčby je možno podávat tetracyklin intravenózně v dávce 10 mg/kg ž.h. 2x denně (Svoboda et al., 1996). V případě aplikace doxycyklinu je doporučená dávka 5 mg/ kg ž.h. 2x denně p.o. po dobu 2 týdnů (Kučera et al., 2007). Aplikace doxycyklinu je vhodná především u psů na počátku onemocnění nebo u zvířat, u kterých se projevilo narušení funkce ledvin. Jestliže je u psa včas

a správně započatá léčba, jeho naděje na přežití se pohybují v rozmezí 78 – 88% (Langston et Heuter, 2003).

Při testování účinnosti antibiotik v in vitro podmínkách mají výborné výsledky erytromycin, cefotaxim a moxalaktam, ty se mohou také použít při alergii na peniciliny. Výrazně nižší nedostatečnou účinnost mají cefalosporiny jako je cefalotin. Erytromycin má na leptospiry mnohem vyšší účinek než Tylosin. Podání antibiotik v podobě běžného dávkování je často nedostačující, proto je důležité aplikovat léčivo v maximálních netoxických dávkách. Ani jedno předem zmíněných ATB nepatří k lékům volby, protože u psa nakaženého leptospirózou nebyla prozatím dostatečně ověřena účinnost těchto léčiv (Svoboda et al., 2001).

Pokud se pomocí antibiotik podaří zvládnout akutní renální selhání, k aplikovanému penicilinu přidáme streptomycin v dávce 15 mg/kg ž.h. 2x denně intramuskulárně po dobu 14 dnů, nebo jednorázově, ale pouze pokud není riziko azotemie (Kučera et al., 2007). Cílem této léčby je zabránit usídlení leptospir v renálních tubulech a zamezit jejich dlouhodobému vylučování. Léčba formou monoterapie pomocí streptomycinu by neměla přesáhnout 6 dnů. Vhodná je jeho aplikace společně s penicilinem. Použití streptomycinu společně s penicilinem se však nedoporučuje na počátku infekce, jelikož streptomycin je znám svou nefrotoxicitou. Při volbě dávkování antibiotik je důležité brát v potaz i stupeň azotemie, a proto bychom měli správně snížit množství ATB nebo prodloužit dobu jejich podávání. Kumulace a neurotoxicita často hrozí v případě podání draselné soli penicilinu. Podle příznaků zmírňujeme zvracení pomocí antiemetik, gastritidu cimetidinem. V rámci poškození jater bychom se měli vyhnout léčbě Chlorpromazinem (Svoboda et al., 2001).

7.1 Terapie ARF

Akutní renální selhání vyskytující se při leptospiróze může mít i vratný proces. Pokud bude organismu poskytnut dostatek času k regeneraci zasažených ledvin, je pravděpodobné zlepšení stavu ledvin pacienta. Potřebný čas pro regeneraci ledvin je obvykle 2 – 3 týdny (Svoboda et al., 1996). V případě klinického průběhu leptospirózy s následným akutním renálním selháním, možnost uzdravení jedince se pohybuje okolo 50 – 80% (Kučera et al., 2007).

Jelikož je hemodialýza těžko dostupná a peritoneální dialýza problematická, nejběžněji používanou léčbou je terapie infúzní, i když většinou její účinek není dostatečně velký. Využíváme tedy zásad rehydratační terapie. V důsledku současného poškození jater není doporučováno používat roztoky, které obsahují laktát. Z tohoto důvodu upřednostňujeme izotonický roztok NaCl nebo roztok Ringerův. Pokud doplníme chybějící tekutiny, je možné k roztokům přidat glukózu o koncentraci do 5%. Podle aktuálního stavu diurézy volíme množství podávaného roztoku pacientovi, obvykle se dávky pohybují mezi 30 – 80 ml/kg ž.h./24 hod. Pro oligurii platí hodnoty nižší a pro polyurii hodnoty vyšší. V případě projevení se oligurie je mnohem vyšší riziko předávkování, dále se může vyskytnout edém na plicích. Jestliže nakažený jedinec nezvrací, není postižen jaterní encefalopatií a azotemické hodnoty se kladně upravují, je možné dávky infúzních roztoků pomalu snižovat na ½ po 24 hodinách. Neznáme-li obsah K⁺ v krvi pacienta, nedoporučuje se přidávat k infuzním roztokům KCl, v rámci přítomnosti hyperkalémii. Tu můžeme zmírnit pomocí bikarbonátu, dále pak glukózy, která se kombinuje s inzulínem, nebo v mezním případě můžeme použít Ca – glukonát. Pokud klesne hodnota pH pod 7,2 aplikujeme bikarbonát, který nám pomáhá regulovat metabolickou acidózu (Svoboda et al., 1996).

Diuretika

Diuretika využíváme pouze při léčbě oligurie. Jejich účinek můžeme subjektivními metodami vyzorovat na množství vyprodukované moče, pozorováním močení nebo pomocí palpce močového měchýře. Metodou objektivní je katetrizace, která se vzhledem k vysoké pravděpodobnosti zanesení infekce do močových cest nepoužívá. Pokud je množství moče nižší než 1 ml/kg ž.h./hod, tento stav považujeme za oligurii. K léčbě oligurie diuretika používáme manitou, jestliže jeho účinky nejsou postačující nebo nezabírá vůbec, je možné aplikovat dopamin. Pokud ani dopamin nezabírá, použijeme furosemid, který můžeme použít pouze jako poslední možnost. Občas se podaří zvládnout akutní renální selhání s plazmatickou hladinou kreatininu převyšující 1.000 μmol/l (Svoboda et al., 2001).

7.2 Terapie DIC

Jedná se o velmi vážnou komplikaci leptospirózy často způsobující úmrtí nemocného jedince. Nález krvácenin nebo dalších symptomů hemoragické diatéze, také zjištění trombopenie nám poukazuje na DIC. Určování diagnózy pomocí jiných diagnostických metod je velmi finančně náročné (Svoboda et al., 1996).

Doporučená léčba se provádí pomocí transfuze plazmy (Ralph et Brainard, 2012). Nejlepší účinky prokázala transfúze čerstvé krve. Krev, která již byla uchována v chladničce, je často ochuzena o trombocyty a potřebné koagulační faktory, které se při chlazení ničí. K transfuzi je doporučováno přidávat heparin 30 minut před aplikací v dávce 5.000 m.j. do 0,5 litru krve. Následná heparinizace pacienta by měla být sledována. pokud tomu tak nelze učinit, je možné aplikovat heparin v dávce 10 m.j./kg ž.h. intravenózně a 50 m.j./kg ž.h. subkutánně 3x denně (Svoboda et al, 1996).

7.3 Terapie postižení jater

Poškození jater léčíme pomocí infúzní terapie, která není jedinou formou léčby. Vhodné je také podávání vitamínu C v dávkách 25mg/kg ž.h. Další možností je aplikace vitamínů skupiny B a K₁, kdy tento vitamín musí být aplikován subkutánně, ne intramuskulárně a intravenózně. Je vhodné použít také vitamín A a D. Podáním glukózy ve formě 20% roztoku, můžeme u pacienta, u kterého se projevila hypoglykémie, rychle zmírnit její rozsah a to dávkou v rozmezí 0,2 – 0,5 g/kg ž. h. intravenózní aplikací. Pokud se u nemocného jedince zjistí jaterní encefalopatie, která není tak snadno odlišitelná od nervových příznaků, které mají jiný původ, je nutné ji rozlišit. Pokud se jaterní encefalopatie prokáže, není vhodné podávat pacientovi krmivo ani vodu (Svoboda et al., 2001).

Jako léčivo můžeme použít Doxycyklin (Schuller et al., 20015). Problém dehydratace a živinových potřeb organismu řešíme aplikací laktulózy, ta je aplikována formou retenčního klyzmatu ředěného vodou v poměru 1 : 2 v dávce 50 -200 ml směsi. Laktulóza se může podávat i perorálně v dávce 0,5 ml/kg ž.h. 3x až 4x za den, ale tato forma aplikace při leptospiróze není vhodná v rámci častého zvracení pacientů. Pokud nakažený jedinec trpí křečemi, je vhodné podat fenobarbital. Pokud se u pacienta neprokáže jaterní encefalopatie, není potřeba mu bránit v pití vody, avšak doporučuje se pít spíše elektrolytové nápoje. U většiny psů nakažených touto zoonózu byla prokázána anorexie. Anorektický pes většinou zvrací i po malém množství přijatého krmiva nebo tekutin. Při těchto obtížích nejpozději do 5 dnů od počátku léčby elektrolytickými roztoky, začínáme léčbou parenterální výživy, která obsahuje potřebné množství aminokyselin, lipidů a glukózy. Tyto látky jsou obsaženy v léčebných přípravcích Duphalyte a Nutralipid (Svoboda et al., 2001).

Pokud onemocnění leptospirami nemá těžký průběh s velkými komplikacemi, které již byly zmíněny, lze tuto zoonózu zvládnout pomocí antibiotik, symptomatické léčby, kam patří např. antiemetika, ale také můžeme použít krátkodobou infuzní terapii. Velmi důležitým opatřením je dodržování správné diety, při které by měl být snížený přísun tuků a bílkovin (Svoboda et al., 1996).

8 Prevence

Jak jsem již zmínila na začátku práce, mezi rezervoárová zvířata této zoonózy patří potkani. Z tohoto důvodu by jako hlavním preventivním opatřením měla být důkladně prováděná deratizace v lidských obydlích a jejich okolí. Tento úkon by měl snížit přímý kontakt psů s rezervoárovými zvířaty, což je dalším preventivním opatřením proti roznesení nákazy mezi psy, jiná zvířata, ale i lidi (Svoboda et al., 2001).

O tom, zda se daný jedinec nakazí leptospirózou nebo ne rozhoduje převážně jeho imunitní systém, který je třeba chránit a podporovat. K imunitní ochraně se využívají bakteriny *L. icterohaemorrhagiae* a *L. canicola*. V současnosti bývá psí populace infikována sérovary *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippotyphosa* a *L. sejroae*. Tyto tři sérovary jsou součástí vakcíny Canvac L, která slouží k ochraně psů před infikováním leptospirózou. Protilátky obsažené ve vakcínách proti jednotlivým sérovarům neúčinkují na sérovary jiné, pokud se nejedná o sérologickou skupinu, kdy se nějaké účinky projevit mohou (Svoboda et al., 1996).

Vakcinace prováděná jako preventivní opatření proti leptospiróze je účinné, nevýhodou však zůstává, že vyrobené vakcíny mají protilátky pouze pro určité sérovary. Tudíž se organismus může nakazit sérovarem, který vakcína neobsahovala, a který se může v dané oblasti vyskytovat (Prescott, 2008).

Preventivní vakcinace proti leptospiróze se u psů provádějí velmi brzy po narození jedince. Aplikace první vakcíny se doporučuje již v 9. týdnu života, vhodnější je však počkat do 12. týdne, z důvodu narušení obranyschopnosti zvířete, které bylo dobře imunizováno mlezivem matky. Velmi důležité je zvolit optimální vakcinační vzorec k vytvoření potřebné imunity proti leptospiróze. Pokud zvíře nebylo nikdy vakcinováno, je zapotřebí primovakcinaci provést alespoň 2x v odstupu 2 – 4 týdnů (Svoboda et al., 2001). Následné přeočkování se provádí 1 ročně (Klaasen et al., 2003). V oblastech, kde se nedaří toto infekční onemocnění potlačit, je vhodné při primovakcinaci provést 3x a následná přeočkování se provádějí 2 - krát za rok. Ne všechny vakcinace jsou schopny zabránit skryté infekci nebo vylučování leptospir močí. Byly prokázány případy nakažení člověka leptospirami

obsažených v moči psa, který byl vakcinován a následně infikován leptospirózou (Svoboda et al., 2001).

Nové očkovací látky většinou obsahují tři (*icterohaemorrhagiae*, *canicola* a *grippotyphosa*), popřípadě čtyři sérovary, kde je k předchozím třem sérovům přidán sérovar *bratislava* (Klaasen et al., 2013). Pro zvýšení ochrany evropských psů je doporučováno vakcinovat těmito čtyřvalentními vakcínami než bivalentními (Schuller, 2015). Jelikož leptospiróza byla potvrzena i u psů bez přístupu k rezervoárovým živočichům nebo jejich moči, je zapotřebí, aby byli očkováni všichni psi bez ohledu na jejich životní styl (Klaasen et al., 2003).

Pokud se u psů či jiných zvířat prokáže leptospiróza, je nutné pacienta izolovat, informovat majitele o nemoci a riziku nakažení. Při manipulaci a ošetřování infikovaných zvířat se musíme chránit primárně rukavicemi a důkladnými hygienickými opatřeními (Langston et Heuter, 2003). Použité nástroje nebo předměty, které byly použity k ošetřování, můžeme sterilizovat nebo zničit aby nedošlo k rozšíření nákazy těmito předměty. K hygienickým opatření, jako je například důkladné mytí rukou, se doporučuje použít bázi jódu (povidon jodid), ale také mýdlo nebo jiné dezinfekční prostředky (Svoboda et al., 2001).

9 Prognóza

Na to, že je zvíře infikováno leptospirózou, obvykle přijdeme až po objevení ikteru. V tomto stádiu nemoci jsou s velkou pravděpodobností výrazně zasažena játra a nastalo selhávání ledvin. Úmrtnost v rámci této zoonózy je rok od roku rozdílná. Byly pozorovány roky, kdy se mortalita pohybovala na vysokém stupni a to kolem 90% a naopak roky, kdy leptospiróza měla pouze mírný průběh a mortalita byla mnohem nižší. Nevítaným, ale obvyklým nálezem bývá například vyšší hladina kreatininu v plazmě vyšší než 500 – 600 $\mu\text{mol/l}$ nebo nález DIC, ale i hypotermie (Svoboda et al., 2001).

Co se týče lidské populace nakažené leptospirovým onemocněním se mortalita pohybuje okolo 10%. Důvodem takto nízké mortality a vysoké přežitelnosti je správně zvolená léčba, která zahrnuje hemodialýzu, hlídání, monitorování a komplexní léčebné procesy DIC.

Velmi důležitým prvkem prognózy je včasné odhalení infekce, správné zvolení a rychlé započnutí léčby. Weilova choroba velmi často způsobuje chronické renální selhání společně s polyurií, dále pak chronickou aktivní hepatitidu a jiné problémy, které mohou vzniknout v rámci nízké imunity jedince (Svoboda et al., 1996).

10 Závěr

Jak je již známo, leptospiróza je rozšířena po celém světě. Pravděpodobnost nákazy touto zoonózou se liší v závislosti na daném prostředí. Nyní víme, že vyšší nakažový stupeň se týká zemí tropických, nesmíme však zapomínat na výskyt leptospirózy i v zemích chladnějšího pásma. V chladnějších oblastech je menší abundance jednotlivých sérovarů, oproti tomu země tropického pásma mají druhovou rozmanitost sérovarů mnohem vyšší. Výskyt leptospirózy je běžný i České republice, bohužel lidé o tomto onemocnění často nemají ani potuchy.

Pokud se zvíře nebo člověk leptospirózou nakazí, je nutné infekci co nejdříve rozpoznat a začít správnou léčbu pomocí antibiotik. V rámci výzkumu bylo zjištěno, že nejspolehlivější je metoda PCR, oproti vyšetřením ELISA nebo MAT, které se také běžně používají.

Leptospiróza patří mezi velmi závažné zoonotické infekce, které často mají fatální následky. Proto bych chtěla upozornit na možnosti prevence, kdy můžeme sebe, ale i své domácí mazlíčky před touto chorobou uchránit. Základní preventivním opatřením by měly být běžné hygienické návyky, jako je například mytí rukou po styku se zvířaty a cizím prostředím. Prevence psů by se měla týkat především vakcinace, kdy můžeme tímto zákrokem snížit pravděpodobnost nákazy. Existují vakcinační séra proti sérovarům, které se vyskytují v dané lokalitě. Mohou obsahovat dva, tři nebo čtyři sérovary. Doporučováno je vakcinovat séry čtyřvalentními. Aplikace vakcín proti leptospiróze se provádí opakovaně jednou ročně.

Tímto bych ráda požádala všechny majitele psů, aby pravidelně nechávali očkovat své psy, a snížily tím pravděpodobnost nákazy ve svém okolí.

11 Použitá literatura

- 1 Agunloye, C. A., Nash, A. S. 1996. Investigation of possible leptospiral infection in cats in Scotland. *Journal of small animal practice*. 37(3). pg. 126-129.
- 2 Arbour, J., Blais, M. C., Carioto, L., Sylvestre, D. 2012. Clinical leptospirosis in three cats (2001–2009). *Journal of the American Animal Hospital Association*. 48(4). pg. 256-260.
- 3 Arent, Z. J., Andrews, S., Adamama-Moraitou, K., Gilmore, C., Pardali, D., Ellis, W. A. 2013. Emergence of novel *Leptospira* serovars: a need for adjusting vaccination policies for dogs?. *Epidemiology and infection*. 141(06). pg. 1148-1153.
- 4 Biancifiori, F., Cardaras, P. 1983. Enzyme-linked immunoassay in the diagnosis of leptospirosis in domestic animals using peroxidase-conjugated protein-A. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 6(1). pg. 57-65.
- 5 Birchard, A., Hougen, K., Borgpete, C. 1973. Electron – microscopy of *Leptospira*. 1. *Leptospira strain pomona*. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*, section – B Microbiology. (6). pg. 665-676.
- 6 Branger, C., Blanchard, B., Fillonneau, C., Suard, I., Aviat, F., Chevallier, B., André-Fontaine, G. 2005. Polymerase chain reaction assay specific for pathogenic *Leptospira* based on the gene *hap1* encoding the hemolysis-associated protein-1. *FEMS microbiology letters*. 243(2). pg. 437-445.
- 7 Bukovjan, K. 2008. *Zooantroponózy a podobné nemoci lidí a zvířat*. Ministerstvo zemědělství. Praha. 24 s. ISBN: 9788070847480.
- 8 Bryson, D. G., Ellis, W. A. 1976. Leptospirosis in a British domestic cat. *Journal of Small Animal Practice*. 17(7). pg. 459-465.

- 9 Cermakova, Z., Kucerova, P., Valenta, Z., Pliskova, L., Bolehovska, R., Prasil, P., Voxova, B. 2013. Leptospirosis: possibilities of early laboratory and clinical diagnosis. *Central European Journal of Medicine*. 8(1). pg. 84-89.
- 10 Dickeson, D., Love, D. N. 1993. A serological survey of dogs, cats and horses in south-eastern Australia for leptospiral antibodies. *Australian Veterinary Journal*. 70. pg. 389-390.
- 11 Ellis, W. A. 1986. Leptospirosis. *Journal of Small Animal Practice*. 27. pg. 683-692.
- 12 Faine, S., Adler, B., Bolin, C., et al. (1999) *Leptospira and Leptospirosis*. 2nd edn. Melbourne: MediSci.
- 13 Faine, S. c1994. *Leptospira and leptospirosis*. CRC Press. Boca Raton. 353 p. ISBN: 0849369940.
- 14 Fairbrother, J. M. 1985. Antibody response to genus-and serovar-specific leptospiral antigens in *Leptospira*-infected cows. *American journal of veterinary research*. 46(7). pg. 1422-1426.
- 15 Fenimore, A., Carter, K., Lunn, K. 2012. Detection of leptospirosis in shelter cats in Colorado. *Proceedings of the 30th annual congress of the American College of Veterinary Internal Medicine*. New Orleans, LO, USA. pg. 78.
- 16 Fessler, J. F., Morter, R. L. 1964. Experimental feline leptospirosis. *The Cornell Veterinarian*. 54. pg. 176-190.
- 17 Gerritsen, M. J., Koopmans, M. J., Peterse, D., Olyhoek, T. 1994. Sheep as maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar hardjo subtype hardjobovis. *American Journal of Veterinary Research*. 55(9). pg. 1232-1237.

- 18 Gravekamp, C., H. van de Kemp, D. Carrington, G. J. J. M. van Eys, C. O. R. Everard, W. J. Terpstra. 1990. Detection of leptospira DNA by PCR in serum from patients with copenhageni-infections. Proceedings of Leptospirosis Research Conference 1990. pg. 151 – 164. Tokyo, University of Tokyo Press.
- 19 Greene, C. E. c2012. Infectious diseases of the dog and cat. 4th ed. Elsevier/Saunders. St. Louis, Mo. xxii, 1354 p. ISBN: 1416061304.
- 20 Greenlee, J. J., Bolin, C. A., Alt, D. P., Cheville, N. F., Andreasen, C. B. 2004. Clinical and pathologic comparison of acute leptospirosis in dogs caused by two strains of *Leptospira kirschneri* serovar grippotyphosa. American journal of veterinary research. 65(8). pg. 1100-1107.
- 21 Hampson, D., Stanton, T. c1997. Intestinal spirochaetes in domestic animals and humans. Cab International. New York. ix, 382 p. ISBN: 0851991408.
- 22 Hartman, E. G. 1984. Epidemiological aspects of canine leptospirosis in the Netherlands. Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology. 258(2). pg. 350-359.
- 23 Hartman, E. G., Van Den Ingh, T. S. G. A. M., Rothuizen, J. 1986. Clinical, pathological and serological features of spontaneous canine leptospirosis. An evaluation of the IgM-and IgG-specific ELISA. Veterinary immunology and immunopathology. 13(3). pg. 261-271.
- 24 Hemsley, L. A. 1956. *Leptospira canicola* and chronic nephritis in cats. Veterinary Record. 68, 300-301.
- 25 Iwamoto, E., Wada, Y., Fujisaki, Y., Umeki, S., Jones, M. Y., Mizuno, T., Okuda, M. 2009. Nationwide survey of *Leptospira* antibodies in dogs in Japan: results from microscopic agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay. Journal of Veterinary Medical Science. 71(9). pg. 1191-1199.

- 26 Johnson, R.C., Faine, S. 1984. Genus I. *Leptospira noguchi* 1917. Bergeys manual of systematic bacteriology. William set Wilkins Co. Baltimore, USA. pg. 62 – 67.
- 27 Klaasen, H. L. B. M., Molkenboer, M. J. C. H., Vrijenhoek, M. P., Kaashoek, M. J. 2003. Duration of immunity in dogs vaccinated against leptospirosis with a bivalent inactivated vaccine. *Veterinary microbiology*. 95(1). pg. 121-132.
- 28 Klaasen, H. L. B. M., Van der Veen, M., Molkenboer, M. J. C. H., Sutton, D. 2012. A novel tetravalent *Leptospira* bacterin protects against infection and shedding following challenge in dogs. *Veterinary Record*. vetrec-2012.
- 29 Knight, L. L., Miller, N. G., White, R. J. 1973. Cytotoxic factor in the blood and plasma of animals during leptospirosis. *Infection and immunity*. 8(3). pg. 401-405.
- 30 Kohn, B., Steinicke, K., Arndt, G., Gruber, A. D., Guerra, B., Jansen, A., Nöckler, K. 2010. Pulmonary abnormalities in dogs with leptospirosis. *Journal of veterinary internal medicine*. 24(6). pg. 1277-1282.
- 31 Kučera, J., Vlašín, M., Kohout, P. 2007. *Nefrologie a urologie psa a kočky*. 2. vyd. Noviko. Brno. 337 s. ISBN: 9788086542171.
- 32 Langston, C. E., Heuter, K. J. 2003. Leptospirosis: A re-emerging zoonotic disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 33(4). pg. 791-807.
- 33 Levett, P. N. 2001. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 14. pg. 296-326.
- 34 Levett, P. N., Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A. 2006. *Leptospira*. *Manual of clinical microbiology: Volume 1*. pg. 963-970.
- 35 Macpherson, C., Meslin, F. -X., Wandeler, A. I. c2000. *Dogs, zoonoses, and public health*. CABI Pub. New York. Xii. pg. 382.

- 36 Maissen-Villiger, C. A., Schweighauser, A., van Dorland, H. A., Morel, C., Bruckmaier, R. M., Zurbriggen, A., Francey, T. 2016. Expression Profile of Cytokines and Enzymes mRNA in Blood Leukocytes of Dogs with Leptospirosis and Its Associated Pulmonary Hemorrhage Syndrome. *PloS one*. 11(1).
- 37 Major, A., Schweighauser, A., Francey, T. 2014. Increasing incidence of canine leptospirosis in Switzerland. *International journal of environmental research and public health*. 11(7). pg. 7242-7260.
- 38 Mastrorilli, C., Dondi, F., Agnoli, C., Turba, M. E., Vezzali, E., Gentilini, F. 2007. Clinicopathologic features and outcome predictors of *Leptospira interrogans Australis* serogroup infection in dogs: a retrospective study of 20 cases (2001–2004). *Journal of veterinary internal medicine*. 21(1). pg. 3-10.
- 39 Mendoza, L., Prescott, J. F. 1992. Serodiagnosis of leptospirosis in pigs using an axial filament enzyme-linked immunosorbent assay. *Veterinary microbiology*. 31(1). pg. 55-70.
- 40 Millán, J., Candela, M. G., López-Bao, J. V., Pereira, M., Jiménez, M. Á., León-Vizcaíno, L. 2009. Leptospirosis in wild and domestic carnivores in natural areas in Andalusia, Spain. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 9(5). pg. 549-554.
- 41 Mylonakis, M. E., Bourtzi-Hatzopoulou, E., Koutinas, A. F., Petridou, E., Saridomichelakis, M. N., Leontides, L., Siochu, A. 2005. Leptospiral seroepidemiology in a feline hospital population in Greece. *Veterinary rekord*. 156(19). pg. 615-616.
- 42 Prescott, J. 2008. Canine leptospirosis in Canada: a veterinarian's perspective. *Canadian Medical Association Journal*. 178(4). pg. 397-398.
- 43 Ralph, A. G., Brainard, B. M. 2012. Update on disseminated intravascular coagulation: when to consider it, when to expect it, when to treat it. *Topics in companion animal medicine*. 27(2). pg. 65-72.

- 44 Rees, H. G. 1964. Leptospirosis in a cat. *New Zealand Veterinary Journal*. pg. 64.
- 45 Robinson, R. A., Metcalfe, R. V. 1976. Zoonotic infections in veterinarians. *New Zealand veterinary journal*. 24(9). pg. 201-210.
- 46 Rodriguez, J., Blais, M. C., Lapointe, C., Arsenault, J., Carioto, L., & Harel, J. 2014. Serologic and urinary PCR survey of leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 28(2). pg. 284-293.
- 47 Rossetti, C. A., Liem, M., Samartino, L. E., Hartskeerl, R. A. 2005. Buenos Aires, a new *Leptospira* serovar of serogroup Djasiman, isolated from an aborted dog fetus in Argentina. *Veterinary microbiology*. 107(3). pg. 241-248.
- 48 Sedláček, I. 2007. *Taxonomie prokaryot*. 1. vyd. Masarykova univerzita. Brno. 270 s. ISBN: 9788021042070.
- 49 Sedlák, K., Tomšíčková, M. 2006. *Nebezpečné infekce zvířat a člověka*. 1. vyd. Scientia. Praha. 167 s., xliv s. převážně barev. obr. příl. *Biologie pro všední den*. ISBN: 8086960072.
- 50 Schuller, S., Francey, T., Hartmann, K., Hugonnard, M., Kohn, B., Nally, J. E., Sykes, J. et al. 2015. European consensus statement on leptospirosis in dog and cats. *Journal of Small Animal Practice*. 56. pg. 159–179.
- 51 Schulz, B. S., Seybold, N., Adamik, K. N., Ludwig, E., Hartmann, K. 2010. Ileocolic intestinal intussusception in a dog with leptospirosis. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*. 38(6). pg. 403-405.
- 52 Schweighauser, A., Burgener, I. A., Gaschen, F., Luckschander, N., Hasler, A., Lang, J., Francey, T. 2009. Small intestinal intussusception in five dogs with acute renal failure and suspected leptospirosis (*L. australis*). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 19(4). pg. 363-368.

- 53 Svoboda, M., Pospíšil, Z. (eds.). 1996. Infekční nemoci psa a kočky. /1.vyd./ Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat. Brno. 504 s., [12] s. obr. příl.
- 54 Svoboda, M., Senior, D. F., Doubek, J., Klimeš, J. (eds.). 2001. Nemoci psa a kočky. Noviko. Brno. S. 1019 – 2038. ISBN: 80-902595-3-7.
- 55 Van den Ingh, T. S. G. A. M., Hartman, E. G. 1986. Pathology of acute *Leptospira interrogans* serotype icterohaemorrhagiae infection in the Syrian hamster. *Veterinary microbiology*. 12(4). pg. 367-376.
- 56 Ullmann, L. S., Hoffmann, J. L., de Moraes, W., Cubas, Z. S., Santos, L. C. D., da Silva, R. C., Biondo, A. W. 2012. Serologic survey for *Leptospira* spp. in captive neotropical felids in Foz do Iguaçu, Parana, Brazil. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 43(2). pg. 223-228.
- 57 Wagenaar, J. A. 1994. *Leptospirosis: diagnosis and pathogenesis = Leptospirose : diagnose en pathogenese*. Universiteit Utrecht. pg. 132. ISBN: 9039307458.
- 58 Weese, J., Fulford, M. B. 2011. *Companion animal zoonoses*. Wiley-Blackwell. Ames, Iowa. ix, 319 pg. ISBN: 0813819644.
- 59 Weese, J. S., Peregrine, A. S., Armstrong, J. 2002. Occupational health and safety in small animal veterinary practice: Part I-Nonparasitic zoonotic diseases. *Canadian veterinary journal*. 43(8). pg. 631-636.
- 60 Zaragoza, C., Barrera, R., Centeno, F., Tapia, J. A., Mane, M. C. 2003. Characterization of Renal Damage in Canine Leptospirosis by Sodium Dodecyl Sulphate–Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS–PAGE) and Western Blotting of the Urinary Proteins. *Journal of comparative pathology*. 129(2). pg. 169-178.