

LEPTOSPIROSE HUMANA

Breves considerações a propósito de uma casuística

ANTÓNIO VIEIRA, M.^a S. JOSÉ BARROS, CRISTINA VALENTE, LUÍS TRINDADE,
M.^a JOÃO FARIA, FILOMENA FREITAS

Serviço de Doenças Infecciosas. Centro Hospitalar de Coimbra. Coimbra.

RESUMO

A leptospirose, zoonose de distribuição mundial, pode apresentar um polimorfismo que dificulta o diagnóstico, especialmente em áreas de clima temperado, onde outras entidades clínicas podem mascarar os aspectos principais. Os autores descrevem 42 casos de doentes com leptospirose que foram internados no Serviço de Doenças Infecciosas do Hospital Geral do Centro Hospitalar de Coimbra desde 1990. Foram analisados os aspectos epidemiológicos, manifestações clínicas, achados laboratoriais, tratamento e evolução. Do total dos doentes, 23 eram do sexo masculino (54.8%) e 19 do sexo feminino (45.2%), com idades variando de 17 a 82 anos. A maior parte dos casos ocorreu em situações de risco profissional, especialmente naquelas em que houve contacto com animais ou água estagnada. Todos os casos foram confirmados serologicamente (por MAT ou ELISA). As formas anictéricas representaram 42.9% do total de doentes, o que implicou que em muitos casos o diagnóstico não fosse imediatamente evidente. Os sintomas principais, para além da febre (97.6%) e da icterícia (57.1%), foram mialgias (71.4%), cefaleias (42.8%) e náuseas (33.3%). O atingimento renal foi comum (52%), mas ocorreram formas mais severas, que implicaram hemodiálise em três doentes; para além disso, em 9.5% ocorreu CID, em 4.7% meningite e verificou-se atingimento pulmonar em 2.3% dos casos. Os serotipos mais frequentes foram *L. icterohaemorrhagiae* (28.5%), *L. australis* (14.3%), *L. grippothyphosa* (11.9%) e *L. canicola* (9.5%). Os doentes foram tratados com penicilina G (83.3%) ou doxiciclina (9.5%). Dois faleceram (4.7%) e os restantes tiveram uma boa evolução. O diagnóstico de leptospirose pode ser retardado quando não se inclui esta infecção no diagnóstico diferencial inicial. Os autores sublinham a importância de uma exaustiva história epidemiológica, para equacionar o diagnóstico face a manifestações clínicas pouco específicas.

SUMMARY

Human Leptospirosis - A short review of 42 cases

Leptospirosis, a zoonosis with worldwide distribution, may have a broad spectrum of clinical manifestations that can delay the diagnosis, especially in wet climates where other conditions may dissimulate the main aspects. The authors describe 42 cases of patients with leptospirosis admitted to the Infectious Diseases Unit of a general hospital since 1990. The goal was to analyse epidemiological features, clinical manifestations, laboratory findings, treatment and evolution. There were 23 males (54.7%) and 19 females (45.2%), with ages ranging from 17 to 82 years. Most cases occurred in occupational settings, especially in those in contact with animals or stagnant water. All the cases had serological confirmation (by MAT or ELISA methods). Anicteric forms represented 42.9% of the total, which implies that in many cases a diagnosis is not immediately evident. The main symptoms, other than fever (97.6%) and jaundice (57.1%), were myalgia (71.4%), headache (42.8%) and nausea (33.3%). Renal involvement was common (52%), but the most severe forms occurred in 3 patients who required hemodialysis; followed by D.I.C. in 9.5%; meningitis in 4.7% and pulmonary involvement in 2.3% of the cases. The serovars most commonly identified were *L. icterohaemorrhagiae* (28.5%), *L. australis* (14.3%), *L. grippothyphosa* (11.9%) and *L. canicola* (9.5%). The patients were treated with penicillin G (83.3%) or doxycycline (9.5%). Two of them deceased (4.7%) and the remainder had a good evolution. The diagnosis of leptospirosis may be delayed if physicians fail to include this infection in the initial differential diagnosis. In view of this, the authors emphasize that when non-specific clinical manifestations occur, a good epidemiological history is useful in proposing this diagnosis.

INTRODUÇÃO

Doença de polimorfismo conhecido, que pode variar desde uma infecção inaparente até ao bem conhecido Síndrome de Weil, a leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial.

Infecção por contacto, directo ou indirecto, habitualmente da pele e/ou mucosas com espiroquetas patogénicas, a leptospirose é – no nosso meio – uma doença predominantemente ligada ao meio rural.

E a realidade da ruralidade de hoje em Portugal, com o envelhecimento das populações e o ainda relativo atraso na modernização de meios e métodos laborais, mas também sanitários, ao negligenciar barreiras protectoras, permite o perpetuar de cadeias de transmissão e cria condições de doença com gravidade acrescida.

Doença de declaração obrigatória, verifica-se nas estatísticas um diminuto número de notificações nos últimos anos, apesar das condições ecológicas que, particularmente nalgumas áreas geográficas, o não fariam supor.

Se por um lado este facto poderá corresponder a dificuldades no seu diagnóstico, por outro lado, há a noção de que a subnotificação desta doença – como aliás da generalidade das doenças de declaração obrigatória –, é a regra.

A propósito da casuística de um Serviço de Doenças Infecciosas, faz-se a sua abordagem teórica de revisão, referindo-se também algumas situações particulares, como sejam as relações desta infecção com a gravidez, a infância, ou o doente infectado pelo VIH.

EPIDEMIOLOGIA

Até à data todos os conhecimentos referentes à epidemiologia, levam-nos a concluir que existe uma difusão da leptospirose no mundo animal.

Hospedadas em numerosos animais, sobretudo roedores, embora não exclusivamente (cães, porcos e bovinos), as leptospirosas sobrevivem particularmente em águas alcalinas e climas quentes e húmidos.

O homem é contagiado em meio hídrico, sobretudo com pH alcalino, quer pela ingestão de água conspurcada com urina, quer nas práticas aquáticas de lazer ou tarefas que impliquem contacto íntimo com águas estagnadas ou terrenos húmidos^{1,2}.

O modo de transmissão pode ser directo, por mordedura de animal contaminado (mais raramente) ou indirectamente através do contacto de pele e mucosas (conjuntiva) ou por via inalatória. Nesta última, o contágio ocorre durante actividades de lazer (banhistas, campistas, caçadores, pescadores) ou em certas profissões (trabalho em minas, túneis, esgotos, valas, matadouros, jardinagem, manutenção de piscinas, entre outros), sendo a

escoriação cutânea a porta de entrada principal^{1,3-6}.

As condições meteorológicas condicionam a transmissão: assim, no que diz respeito à repartição sazonal, no nosso país, o máximo de casos é observado entre Agosto e Janeiro.

O Decreto-Lei nº 434/73 considera como passíveis de serem doenças profissionais, todas as formas clínicas de leptospirose, definindo as tarefas susceptíveis de provocarem a doença. São razões de ordem profissional que explicam a maior incidência no sexo masculino^{2,3}.

É bom recordar que a leptospirose é uma doença de declaração obrigatória desde 1986 (Portaria nº 766/86 de 26 de Dezembro de 1986) e segundo dados fornecidos pela Direcção Geral de Saúde, no primeiro trimestre de 1988, foram declarados 23 casos no país.

Retrospectivamente, Ricardo Jorge em 1926, fez o diagnóstico de um surto epidémico de 1914, como sendo de *Leptospirose icterohemorrágica*^{3,7}. Muitos trabalhos se publicaram de seguida, visando quase exclusivamente o serotipo *icterohaemorrhagiae* como agente causal. Mais recentemente é chamada a atenção para a existência de muitos outros serotipos e diferentes manifestações clínicas⁸⁻¹⁰. Entre nós (zona centro) e em várias zonas do país, bem como em várias espécies animais, foram identificados, para além daquele serotipo, outros, tais como os serotipos *canicola*, *pomona*, *ballum*, *tarasovi*, *grippotyphosa*, *sejroe* e *australis*^{7,11,12}.

O género *Leptospira* tem só uma espécie: *L. interrogans*, que está dividida em dois grupos ou complexos: o complexo *interrogans*, que engloba as estirpes patogénicas e o complexo *biflexa* que engloba as estirpes saprófitas^{4-6,13}. O complexo *interrogans* actualmente abrange 240 serotipos, distribuídos por 23 serogrupos⁴.

A correlação entre os síndromes clínicas e a infecção pelos diferentes serotipos leva à conclusão de que um único serotipo pode ser responsável por várias manifestações clínicas e inversamente um síndrome determinado, por exemplo uma meningite asséptica pode ser causada por múltiplos serotipos, sendo a *L. grippotyphosa* e *canicola* as mais vezes responsáveis. Pelo que foi dito anteriormente, está a optar-se pelo termo genérico de Leptospirose, em vez de *sinónimos*, tais como doença de Weil e febre canícola⁴.

As formas descritas como mais frequentemente ictéricas e muito graves estão normalmente associadas à *L. icterohaemorrhagiae*, as formas menos frequentemente ictéricas são da responsabilidade da *L. andaman*, *L. australis A*, *L. australis B*, *L. batavie*, *L. autumnalis* e a *L. ballum*, *L. canicola*, *L. grippotyphosa*, *L. hebdomadis*, *L. hyos*, *L. pomona* e *L. sejroe* originam formas habitualmente anictéricas e benignas¹⁴.

PATOGENIA E FISIOPATOLOGIA

As manifestações da leptospirose variam desde uma doença benigna anictérica autolimitada¹¹ a formas graves, por vezes fulminantes, com hemorragias e lesões renais^{15,16}. As formas anictéricas representam cerca de 80-90% do total e devem ser incluídas, em regra, no diagnóstico diferencial dos síndromes febris agudos e meníngeos.

Nas leptospiroses há um múltiplo atingimento visceral, penetrando as leptospirosas em todos os tecidos (incluindo o SNC e o Olho)¹⁷ e agredindo-os por um mecanismo ainda não bem esclarecido, provavelmente tóxico, dependendo esta virulência da eventual produção de toxinas (endotoxina) com um tropismo vascular e tecidual^{1,15,18}. É esta acção directa bem como a presença de anticorpos antiplaquetários, que pode justificar o aparecimento de uma trombocitopenia^{1,19}. A icterícia tem várias causas: por um lado ocorre uma necrose focal dos hepatócitos^{4,14,15}, que aliás pode não ser proporcional ao grau de icterícia, esta agravada pela insuficiência renal que dificulta a eliminação de bilirrubina pela urina; por outro lado resultante das hemorragias cutâneo-mucosas, musculares e da hemólise intravascular^{6,14}.

Raramente foram encontrados microrganismos em material hepático, o que leva a supor que as lesões não sejam devidas à acção directa do agente, mas sim a toxinas por ele elaboradas. As alterações microscópicas no fígado, não são diagnósticas e correlacionam-se mal com o grau de comprometimento funcional⁴: incluem tumefacção das células parenquimatosas, ruptura de sinusoides, aumento das células de Kupffer e colestase intrahepática^{4,13}.

Em doentes que morreram com atingimento hepatorenal, as alterações macroscópicas observadas de forma mais significativa, incluíam hemorragias e impregnações biliares dos tecidos. As hemorragias que variam de petéquias a equimoses são disseminadas, sendo mais proeminentes nos músculos esqueléticos, nos rins, nas suprarrenais, no fígado, no estômago, no baço e pulmões^{4,13}. Uma vasculite extensa será a responsável por estas manifestações hemorrágicas^{4,13,20}.

A anemia deve-se não só aos factores descritos, como também a processos hemolíticos induzidos por estirpes produtoras de hemolisinas.

Para além da acção directa sobre o nefrónio distal, existe também um rim de hemólise, devido à acumulação nos tubos renais de pigmentos, como a bilirrubina, a mioglobina e a hemoglobina. O mecanismo principal na falência renal é provavelmente a isquemia, com consequente hipóxia tecidual e necrose tubular aguda^{5,14,15,17,21}.

A meningite asséptica, uma das formas de apresentação da leptospirose, não resulta da invasão do SNC pelo agente, mas parece ser causada por processos do tipo *reação Ag-Ac* ou por complexos imunes circulantes^{13,20}.

A pneumonite e os sinais respiratórios, que alguns doentes apresentam, podem ser devidos a hemorragias no tecido pulmonar, verificadas em estudos necrópsicos^{13,15,22}.

Pensa-se que a libertação de citocinas (IL-6, IL-8, TNF) no decurso da fagocitose rápida das leptospirosas, em resposta aos anticorpos ou à terapêutica antibiótica, esteja implicada na sintomatologia apresentada, particularmente na segunda fase da doença⁴.

ASPECTOS CLÍNICOS

A forma como a infecção vai evoluir depende quer da susceptibilidade do hospedeiro, quer do número e virulência dos microrganismos infectantes^{6,18}, podendo aquela variar de formas subclínicas até formas fatais, ocorrendo as primeiras mais frequentemente em pessoas expostas regularmente a animais infectados⁵; pelo contrário as formas graves, podem depender quer da intensidade de uma ou mais manifestações, quer da ocorrência de alguma complicação; estas surgem habitualmente em indivíduos idosos ou em terrenos fragilizados¹.

Esta infecção revela-se tipicamente por uma evolução bifásica:

a) Após um período de incubação variável de 2 a 26 dias (média dez dias), inicia-se uma primeira fase, abrupta, chamada **septicémica** ou **leptospirémica**, encontrando-se as leptospirosas quer no sangue, quer no LCR^{5,18} e manifestando-se com cefaleias, geralmente frontais, sem evidência de sinais meníngeos, febre alta, arrepios e algias difusas^{1,15,18}, em que as dores musculares atingem particularmente os músculos da coxa e os da região lombar, agravadas à palpação, verificando-se hiperestesia cutânea concomitante⁴.

Ocorrem também frequentemente náuseas, vômitos, prostração e por volta do terceiro/quarto dia, surge a sufusão conjuntival (achado mais característico), associado por vezes a fotofobia^{4,14,15,18}. Na maioria dos casos que cursam com icterícia, esta instala-se entre o 4º e o 7º dia^{6,18}.

São sinais menos comuns o eritema cutâneo^{4,14}, que vai desde formas maculares, maculopapulares ou urticariformes, em geral localizadas ao tronco^{3,4,6,13}, a diarreia, as dores abdominais³, epistaxis e petéquias^{1,6,8,14,22,23}, a faringite^{1,3}, o herpes nasolabial^{1,8}. As manifestações pulmonares, verificadas em 25-86% dos casos, são a tosse seca, dor torácica^{4,14,24}, sendo raras a hemoptise, a insu-

ficiência respiratória aguda ou a hemorragia pulmonar grave²². Mais raramente pode haver esplênomegalia, hepatomegalia e linfadenopatia^{3,4}, atingimento do miocárdio^{1,4,13,17,18,22}, taquicardia, alterações do ritmo e hipotensão^{3,13}.

Esta fase persiste em geral cerca de uma semana e traduz o período de invasão visceral das leptospiros, particularmente a nível renal e do hepatócito³. Neste período predominam os calafrios recidivantes com picos de temperatura elevados, mialgias e cefaleias contínuas⁶.

Se predomina o atingimento de um só órgão, o quadro clínico pode levar-nos a pensar em hepatite, nefrite, pneumonia atípica ou gastroenterite⁴. Raramente há evoluções fatais nesta primeira fase^{5,25}.

Logo se verifica uma remissão da sintomatologia, coincidindo esta com o desaparecimento das leptospiros no sangue e no LCR^{1,5,21}, podendo no entanto aquelas persistir no rim e no humor vítreo^{4,5}.

b) A persistência da astenia e da insuficiência renal prenunciam a recorrência febril (por volta do 15º dia)^{1,14,25}; esta segunda fase, **imune, tóxica ou leptospirúrica**, com duração de 4 a 30 dias⁵, é caracterizada pelo aparecimento dos anticorpos circulantes^{1,4,5,14,15}, que tendem a autolimitar a infecção por neutralização do Ag invasor; esta fase caracteriza-se pela maior variabilidade de manifestações clínicas e é concomitante com o desaparecimento de leptospiros da corrente sanguínea e do LCR, podendo estas ser isoladas na urina durante este período¹⁵. Podem ocorrer manifestações meníngeas, oculares e formas graves com atingimento hepatorenal^{5,25}.

Um síndrome meníngeo pode estar presente^{1,14}, sendo esta a principal manifestação da fase imune (alguns autores atribuem à leptospira, 10% da responsabilidade das meningites assépticas, particularmente em meio rural)^{2,20}. Mesmo sem sinais ou sintomas de irritação meníngea, o exame de rotina do LCR, após o sétimo dia, tem revelado pleocitose linfocítica em 50-90% dos doentes⁴. Outras alterações neurológicas que podem ocorrer são alterações sensitivas ou motoras, encefalite, hemiparesia, mielite e neuropatia periférica^{20,22} e mesmo hemorragias cerebrais resultantes de fenómenos de vasculite. Raramente, os doentes apresentam estados confusionais, com convulsões, delírio ou mesmo psicose¹⁸.

A forma mais grave de apresentação, classicamente denominada **Síndrome de Weil**, caracteriza-se por lesões renais e hepáticas, que predominam, bem como diátese hemorrágica, colapso vascular e alterações da consciência. O atingimento renal varia desde uma ligeira perturbação funcional até uma insuficiência renal aguda, que por vezes carece de terapêutica dialítica; a pro-

teinúria, a leucocitúria e a hematuria são achados frequentes⁶. Observam-se também hipoprotrombinemia e trombocitopenia⁴. A insuficiência hepática raramente constitui causa de morte^{6,17}.

São menos comuns as manifestações oftalmológicas, tais como conjuntivites agudas, paralisias dos oculomotores, habitualmente precoces³, iridociclite e nevrite óptica^{1,4,16,24}. Pensa-se que seja devido a esta reacção imunitária que ocorrem as uveítes de evolução arrastada, recorrentes^{3,17,18}, uni ou bilaterais, largamente descritas, particularmente nos jovens e de evolução benigna⁶; alguns autores referem-na em cerca de 10% dos casos, em fase de convalescência¹³.

As complicações cardíacas, excepcionais na fase aguda²¹, são traduzidas por hipotensão, que parece dever-se a um colapso vascular e ocorrem sobretudo em doentes com formas ictéricas¹⁷; ocorrem também alterações electrocardiográficas, na forma de perturbações da condução, da repolarização ou do ritmo^{4,6,15,17,22}. A pericardite também tem sido descrita em algumas ocasiões⁴ e a falência cardíaca é rara¹⁷.

A pancreatite e a colecistite aguda têm também sido referidas^{5,19}.

Por volta do 20º dia a febre cede completamente, havendo um período lento de convalescência, marcado por uma profunda astenia, após o que se alcança uma cura completa, habitualmente sem sequelas¹⁴.

PROGNÓSTICO

A infecção leptospírica pode ser facilitada por doenças debilitantes²⁶ e a perpetuação da doença, descrita por alguns, pode ocorrer em indivíduos imunodeprimidos¹⁸.

O alcoolismo agrava o prognóstico, podendo haver formas mais graves com icterícia precoce e intensa, acompanhada de hepatoesplênomegalia e aparecimento dentro de poucos dias de um síndrome meníngeo, renal e hemorrágico, ocorrendo a morte por colapso vascular ou insuficiência renal¹⁴.

A oligúria e as alterações electrocardiográficas, tais como aumento do intervalo PR, alterações da repolarização e fibrilação auricular parecem ser critérios que ensombram o prognóstico²². Outros factores, tais como dispneia, leucocitose e a existência de infiltrados alveolares parecem constituir factores predictivos da evolução da doença, podendo ser utilizados para uma maior vigilância²².

Apesar da terapêutica, a mortalidade é estimada em 5-10% das formas diagnosticadas¹, sendo a falência renal, o colapso cardiovascular, as complicações hemorrágicas e pulmonares, as causas mais frequentes de morte^{2,13,20}.

LEPTOSPIROSE E GRAVIDEZ

Apesar da taxa de transmissão materno-fetal não ser conhecida com exactidão²⁷, a leptospirose associa-se a um aumento do risco de perda fetal e ou a parto prematuro^{6,13,28}, parecendo que o aborto possa acontecer mais provavelmente se a infecção ocorrer nos primeiros meses de gravidez²⁸; este agente atravessa a placenta e pode assim infectar o feto. Apesar das infecções congénitas serem raras, tudo leva a crer, no número de casos descritos de abortos espontâneos, que estes são secundários à doença materna e não ao atingimento fetal propriamente dito²⁸. Apesar do descrito anteriormente, esta infecção na grávida, não constitui indicação para interrupção da gravidez²⁸. As leptospiras podem ser eliminadas através do leite materno, sendo a fase septicémica extremamente infectante para o lactente^{6,13}.

LEPTOSPIROSE NA CRIANÇA

Por razões não bem conhecidas, a leptospirose não é comum nesta faixa etária, no entanto diversas manifestações que são raramente observadas em adultos, ocorrem em crianças, sobretudo hipertensão arterial, colecistite acalculosa e pancreatite^{4,13}.

LEPTOSPIROSE NO VIAJANTE

O aumento progressivo de casos de leptospirose em viajantes para países tropicais, deve levar-nos a pensar nesta entidade nosológica em viajantes com febre, especialmente se provenientes de áreas, tais como Sudeste asiático ou Costa do Marfim, nas quais tenha havido contacto com águas estagnadas²⁹.

A leptospirose pode estar na origem de uma febre hemorrágica inexplicada, particularmente em doentes provenientes de África³⁰, podendo o diagnóstico diferencial com outras febres hemorrágicas ser muito difícil; enquanto a trombocitopenia se observa frequentemente na leptospirose, naquelas doenças, não há habitualmente qualquer alteração nos tempos de coagulação nas fases iniciais³⁰.

Devido à semelhança epidemiológica de alguns locais do globo, recomenda-se que em todo o caso suspeito de leptospirose, se exclua a infecção por *Hantavirus*^{4,30}. Cabe referir que, em estudo realizado por investigadores do INSA (Águas de Moura), foi encontrado um número significativo de ratos infectados por este agente, na zona de centro de Portugal.

LEPTOSPIROSE E INFECCÃO PELO VIH

Após pesquisa bibliográfica, encontrou-se um caso de leptospirose num doente infectado pelo VIH, cuja associação põe problemas pela grave imunodepressão subja-

cente. Uma resposta imunitária por mediação celular havia já sido descrita no decurso da leptospirose. Na infecção pelo VIH salienta-se a necessidade da pesquisa etiológica exaustiva perante um choque séptico, que neste caso descrito se apresentou como uma forma severa, com atingimento miocárdico (parcialmente relacionado com a imunodepressão) e pancreatite que não é comum neste contexto³¹.

DIAGNÓSTICO

Sendo os dados clínicos e epidemiológicos fundamentais para o estabelecimento do diagnóstico da leptospirose, a sua confirmação é sempre laboratorial^{5,13}, porém, estes testes raramente confirmam o diagnóstico a tempo de influenciar o tratamento¹⁸.

Do ponto de vista hematológico a taxa de leucócitos periféricos é variável (de 3000 a 26000/ml), com desvio para a esquerda, podendo atingir valores de 70000 no *Síndrome de Weil*^{4,32}. Enquanto a trombocitopenia ligeira ocorre em mais de 50% dos doentes, associada à insuficiência renal³², nos casos mais severos pode ocorrer anemia e coagulação intravascular disseminada; o tempo de protrombina pode estar alongado³². Verifica-se também elevação da V.S. (habitualmente < 50mm/h, ocasionalmente superior a 100)^{4,32}.

Do ponto de vista bioquímico, nas formas ictericas, encontra-se elevação da bilirrubina (habitualmente até 65 mg/dl) com predomínio da bilirrubina conjugada, das aminotransferases (por vezes > a 200 U/L), da F.A., da CPK (em mais de 50% dos doentes na primeira semana da doença, com valores médios de cinco vezes o normal) e da γ -GT⁴. Verificam-se alterações discretas no sedimento urinário (hematúria microscópica com proteinúria discreta) nos casos anictéricos, enquanto a insuficiência renal aguda (degenerescência e infiltração tubular com retenção azotada progressiva) é comum nos casos graves^{4,32}.

Quando ocorre uma reacção meníngea, o LCR apresenta-se cristalino ou citrino (xantocrómico na presença de icterícia), com pressão normal ou aumentada, com normo ou hipoglicorraquia e elevação das proteínas; inicialmente verifica-se elevação dos leucócitos PMN (com variação celular entre 10-1000/ml) e posteriormente predomínio dos mononucleares^{4,32}.

Na leptospirose severa as alterações no RX do tórax são mais comuns do que seria de esperar com base no exame físico. Estas alterações ocorrem mais frequentemente três a nove dias após o início da doença e os achados radiológicos mais comuns são um padrão alveolar algodonoal, afectando mais frequentemente a periferia dos lobos inferiores³².

Na ausência de antibióticos, as leptospiros podem ser isoladas no sangue e/ou no L.C.R. nos primeiros dez dias da doença e na urina por várias semanas após a primeira semana da doença^{5,32}. A partir da terceira semana, aquelas persistem somente na urina e no humor aquoso^{4,32}. Biópsias de alguns tecidos podem também ser usadas, com posterior identificação por técnicas de impregnação com prata⁵. Podem ser observadas directamente em microscópio de fundo escuro onde aparecem com a sua característica forma espiralar, movendo-se rapidamente, requerendo muita experiência para as diferenciar de filamentos de fibrina e outro material⁵. O número de leptospiros no sangue é pequeno, sendo a sua presença intermitente, devendo por isso ser feitas várias hemoculturas. O sangue deve ser colhido para um tubo com anticoagulante, não devendo ser usado citrato porque este é tóxico para as leptospiros⁵. As colheitas podem ser enviados a um laboratório de referência para cultura, já que permanecem viáveis em sangue anticoagulado até 11 dias^{5,32}.

O L.C.R. pode ser examinado em exame directo em microscopia de fundo escuro. A urina recolhida em condições estéreis é inoculada no meio em diluições seriadas, após ter sido eventualmente alcalinizada se for muito ácida.

As leptospiros são microrganismos muito sensíveis, exigindo meios de cultura especiais: meio de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), meio de Fletcher ou o meio de Korthoff, sendo as culturas de desenvolvimento lento (10 a 15 dias)^{5,32}. A identificação do género *Leptospira* assenta na observação com fundo escuro (a partir do sexto dia e depois semanalmente nas semanas seguintes), ou após coloração com prata e Fontana-Tribondeau. Os serotipos são identificados pela reacção de aglutinação-lise com ajuda de múltiplos imunossoros monoespecíficos. A identificação do serotipo é importante para saber qual o mais frequente numa dada região e também para detectar relações epidemiológicas⁵.

As dificuldades de ordem técnica, os erros de diagnóstico e a demora inerentes aos métodos microbiológicos descritos, tornam hoje aconselhável o recurso às provas serológicas^{5,32}.

O teste de aglutinação macroscópica em lâmina com antigénios (Ags) mortos é útil para o rastreio, mas carece de especificidade e de sensibilidade^{4,13}. Os soros positivos devem ser controlados pelo método de referência (aglutinação-lise).

O teste de fixação do complemento detecta infecções recentes, mas apresenta ocasionalmente reacções positivas não específicas (*Treponema*, *Mycoplasma*, HVA e

CMV). Todos os testes positivos requerem confirmação com outro teste¹⁸.

A reacção de aglutinação microscópica (MAT) é uma reacção de aglutinação-lise que necessita de testar a actividade aglutinante e lítica dos soros, em presença de uma bateria de leptospiros patogénicas vivas; segura, reprodutível, específica e sensível; torna-se positiva entre o sexto e nono dias^{4,18,32}. A identificação definitiva do serotipo infectante pode demorar várias semanas devido a reacções cruzadas entre serogrupos¹⁸. Podem ocorrer falsos negativos devido a serotipo não testado na gama usada ou a tratamento precoce com antibióticos e/ou corticoides. É importante testar dois soros com 15 dias de intervalo⁵.

As aglutininas aparecem entre o 6º-12º dia da doença e o título máximo ocorre na terceira-quarta semana^{2,5}; títulos baixos podem persistir por vários anos após a doença aguda⁵.

Titulam-se os soros positivos na mesma amostra (em diluições seriadas: 1/100, 1/200, 1/400, ...) contra mais que um serogrupo e aceita-se como responsável pela infecção aquele que, dos Ags aglutinantes, evidenciou um título mais elevado, pelo menos em duas diluições consecutivas.

O diagnóstico definitivo da leptospirose baseia-se no isolamento do microrganismo, na seroconversão ou em uma elevação (quatro vezes ou mais)^{4,5,13} do título de anticorpos (Acs) na reacção de aglutinação microscópica (MAT). Um diagnóstico presumptivo baseia-se num título de Acs $\geq 1:100$ na MAT ou positividade na reacção de aglutinação macroscópica em lâmina, na presença de clínica compatível^{4,13,32}.

A MAT e o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), que usa Ags amplamente reactivos, são os procedimentos serológicos padronizados. Estes testes geralmente estão disponíveis apenas em laboratórios especializados e são usados na determinação do título de Acs e na tentativa de identificação do serotipo envolvido (dá a importância de usar Ags representativos do serotipo prevalente na área geográfica envolvida)¹³. Como ocorrem frequentemente reacções cruzadas, nem sempre é possível identificar o serotipo infectante³².

Para além da MAT e do ELISA, vários outros testes com valor diagnóstico têm sido desenvolvidos. O ELISA-IgM é um teste de rastreio, que está disponível comercialmente, para o diagnóstico da infecção aguda, com sensibilidade de 100% e especificidade de 98% (ou 93%, com falsos positivos para: *Brucella*, EBV, CMV, *Mycoplasma*, *Coxiella burnetii*, *Toxoplasma*, HAV, *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*). É suficientemente sensível para uso como rastreio inicial da leptos-

pirose, com subsequente confirmação dos resultados positivos por MAT³³. Acs IgM antileptospira podem ser detectadas por ELISA ao quinto-sexto dia da doença; alguns dias mais tarde, os níveis de IgG sobem e atingem um pico à terceira semana, mas o tratamento precoce com antibióticos pode suprimir a resposta dos Acs^{18,32}. Baixos níveis de Acs podem persistir até dez anos¹⁸.

A reacção de aglutinação com microcápsulas (MCAT), cuja sensibilidade e especificidade, em comparação com o MAT, é de 84.7% e 87.0% respectivamente, parece ter uma maior sensibilidade que o MAT durante as fases iniciais da doença (75% vs 58.3%), embora a especificidade seja menor que a do MAT (83.3% vs 100%); a sua sensibilidade decai para 61% três a quatro semanas após o início da doença³⁴.

O método PCR (polimerase chain reaction) é rápido e simples^{18,35}.

O teste de hemaglutinação indirecta (IHA) é um método simples, que está disponível comercialmente e tem uma sensibilidade, para a detecção da leptospirose de 100%, uma especificidade de 94%, um valor predictivo positivo de 95% e um valor predictivo negativo de 100%. Permite detectar Acs das classes IgM e IgG em soros humanos³⁶.

TRATAMENTO

Sendo a leptospirose geralmente uma doença benigna e autolimitada (em 90% dos casos), é difícil a avaliação rigorosa de qualquer esquema terapêutico e a determinação da data ideal de início para o mesmo, pelo que se mantem alguma controvérsia relativamente a este assunto^{5,19}.

Estudos mais antigos sugerem que a antibioterapia pode encurtar a duração da febre, diminuir a incidência das complicações renais, hepáticas, meníngeas e hemorrágicas, prevenir a leptospiúria e reduzir o número de dias de internamento, mas apenas quando instituída precocemente, antes do quarto dia de doença. No entanto, estudos recentes indicam que a terapêutica antimicrobiana pode ser eficaz, mesmo quando instituída tardiamente³².

Actualmente, em casos severos, recomenda-se administração endovenosa de penicilina G, amoxicilina, ampicilina ou eritromicina. Nos casos menos graves, podemos optar por tratamento oral com doxicilina, ampicilina ou amoxicilina (Quadro I)³².

Em casos raros, pode ocorrer a reacção de Jarisch-Herxheimer, desencadeada algumas horas após o início da terapêutica antimicrobiana, sendo então necessário associar terapêutica sintomática³².

Quadro I – Tratamento e Quimioprofilaxia da Leptospirose

1 - Terapêutica das formas leves:

Doxiciclina 100 mg, per os, 12/12h x 7 dias
Ampicilina 500-750 mg, per os, 6/6h x 7 dias
Amoxicilina 500 mg, per os, 6/6h x 7 dias

2 - Terapêutica das formas moderadas / severas:

Penicilina G 1.5 milhões de unidades, IV, 6/6 x 7 dias
Ampicilina 1 g, IV, 6/6h x 7 dias
Amoxicilina 1 g, IV, 6/6h x 7 dias
Eritromicina 500 mg, IV, 6/6h x 7 dias

3 - Quimioprofilaxia:

Doxiciclina 200 mg, per os, uma vez por semana

(adaptado de Speelman³²)

O tratamento sintomático é muitas vezes necessário e é específico para cada complicação: a insuficiência renal pode requerer hemodiálise, a insuficiência cardíaca, a insuficiência respiratória, as hemorragias, nomeadamente digestiva, podem justificar a transferência para uma Unidade de Cuidados Intensivos. A trombocitopenia pode ser corrigida com a transfusão de plaquetas; alguns autores referem ainda a importância dos corticoides em associação com a antibioterapia nos casos que cursam com trombocitopenia grave e hemorragias⁶.

PREVENÇÃO

A prevenção da leptospirose humana é muito difícil, devido à impossibilidade de eliminar o vasto reservatório animal da infecção⁵.

Medidas para controlar a doença incluem: evitar a exposição a urina, outros fluidos e tecidos de animais infectados, vacinação dos animais domésticos e controlo dos roedores^{5,13,32}.

A vacinação humana contra um serotipo específico prevalente numa determinada área geográfica, foi efectuada em alguns países europeus e asiáticos e provou ser eficaz³².

A quimioprofilaxia com Doxiciclina (200 mg uma vez por semana, per os), revelou-se eficaz, mas está apenas indicada se o período de exposição for curto^{5,13}.

A informação, quer profissional quer pública, é outro importante meio de prevenção¹³.

CASUÍSTICA DE UM SERVIÇO DE DOENÇAS INFECCIOSAS

Doentes, material e métodos

Efectuou-se o estudo retrospectivo dos processos clínicos de doentes internados no Serviço de Doenças Infecciosas do Centro Hospitalar de Coimbra, no período

do entre Janeiro de 1990 e Julho de 1998, com o diagnóstico final de leptospirose.

Foram considerados casos confirmados de leptospirose todos aqueles que obedeciam aos critérios definidos pelo *Center for Diseases Control and Prevention*:

- isolamento do microrganismo nos líquidos biológicos;
- seroconversão, ou aumento de pelo menos para o quádruplo, dos títulos em reacção de aglutinação-lise, nos doentes com clínica compatível.

Considerou-se o serotipo responsável aquele que apresentava títulos mais elevados.

Foram objecto de análise os aspectos epidemiológicos, as características clínicas, os achados laboratoriais, a terapêutica instituída e a evolução clínica nos 42 doentes.

Resultados

Quanto à distribuição por sexos, verificou-se que 23 doentes eram do sexo masculino (54.7%) e 19 do sexo feminino (45.2%).

A média de idades foi de 52.7 anos, com valores extremos de 17 e 82 anos (figura 1).

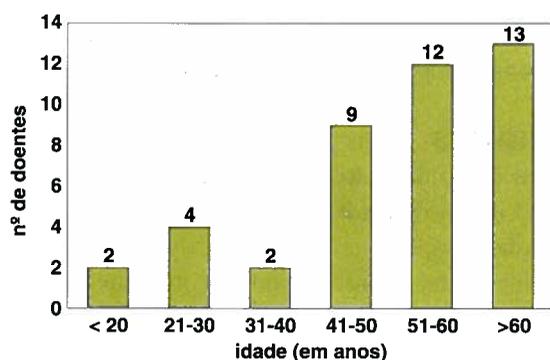


Fig. 1 – Distribuição por grupo etário

Relativamente à distribuição sazonal, (figura 2) houve um maior número de diagnósticos de Novembro a Maio (76.1%), com um pico máximo em Janeiro (21.4% de todos os casos registados).

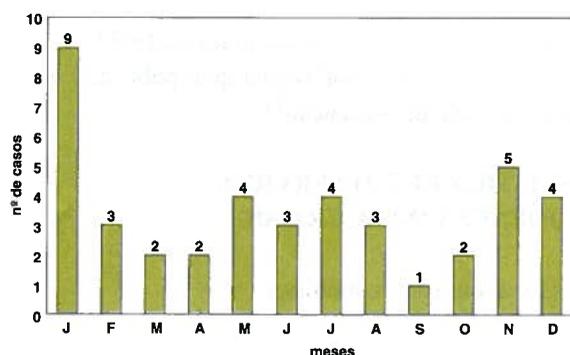


Fig. 2 – Distribuição sazonal

O inquérito dos antecedentes epidemiológicos passíveis de se relacionarem com a fonte de contágio, mostrou em 19 doentes (45.2%) exposição dos tegumentos ao solo e/ou água eventualmente contaminada e 14 doentes (33.3%) admitiam contacto com animais domésticos e/ou ratos (figura 3). Em nove casos (21.4%) não foi possível identificar a fonte de contágio por falta de dados.

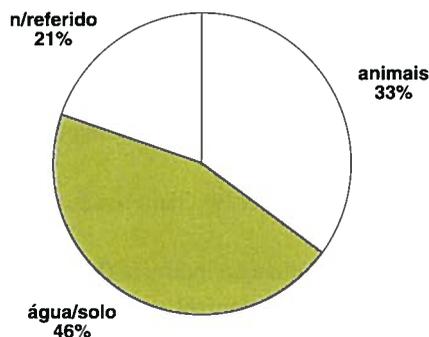


Fig. 3 – Vias de contágio

No entanto, é de salientar que a maioria da população estudada provem de áreas rurais e que se dedicam a actividades relacionadas com a agricultura e pecuária.

O quadro II mostra as manifestações clínicas mais frequentes dos 42 doentes estudados. Dos sinais e sintomas referidos, a febre foi o achado mais constante (97.6%), seguido das mialgias (71.4%), icterícia (57.1%) e náuseas em 33.3% dos casos. Menos frequentes foram os vômitos (26.5%), a dor abdominal (23.8%) e o exantema (14.2%). A tosse e a diarreia foram referidas por 11.9% dos doentes. Em quatro doentes foi objectivado hepatomegalia. Em dois doentes verificou-se atingimento meníngeo (4.7%).

Quadro II – Manifestações clínicas

Manifestações Clínicas	Doentes	%
Febre	41	97.6
Mialgias	30	71.4
Icterícia	24	57.1
Cefaleias	18	42.8
Náuseas	14	33.3
Vômitos	11	26.5
Dor abdominal	10	23.8
Conjuntivite	9	21.4
Exantema	6	14.2
Tosse	5	11.9
Diarreia	5	11.9
Hepatomegalia	4	7.1
Sinais meníngeos	2	4.7

Quanto aos aspectos laboratoriais (Quadro III), verificou-se o atingimento hepático na maioria dos doentes, traduzido pela alteração das provas da função hepática, com elevação da TGP (> 60 U/L) em 88.0%, da TGO (> 40 U/L) em 80.9%, da bilirrubina sérica (> 1.5 mg/dl) em 61.9% e da fosfatase alcalina (> 120 UI) em 40.4% dos casos.

Quadro III – Alterações laboratoriais

Laboratório	Doentes	%
Hgb < 11g/dl	10	23.8
Leucócitos > 10.000/ mm ³	8	19.0
Plaquetas < 100.000 / mm ³	31	73.8
BUN > 50 mg/dl	22	52.0
Creatinina > 1.5 mg/dl	21	50.0
Bil. total > 1.5 mg/dl	26	61.9
Fosfatase alcalina > 120 UI	17	40.4
ALT > 60 U/L	37	88.0
AST > 40 U/L	34	80.9
LDH > 500 UI	17	40.4
CPK > 269 UI	11	26.1
TP/TTP > ± 3 controlo	7	16.6
Hematúria / Proteinúria	15	35.7

A evidência do comprometimento da função renal foi manifestada em mais de metade dos doentes, pela elevação do azoto ureico (> 50 mg/dl) em 52% e da creatinina (> 1.5 mg/dl) em 50%.

A trombocitopenia verificou-se em 73.8% do total de doentes e a anemia foi menos frequente, com valores de hemoglobina < 11 g/dl em 23.8% dos doentes.

A elevação da CPK (> 269 UI) foi evidenciada em 26.1% dos casos. A proteinúria e as alterações do sedimento urinário ocorreram em 35.7%.

Os serotipos encontrados foram: *icterohaemorrhagiae* (12 casos), *canicola* (4), *pomona* (3), *australis* (6), *sejroe* (4), *grippityphosa* (5), não identificado (8).

Relativamente à terapêutica instituída, 41 doentes (97.6%) efectuaram antibioterapia com Penicilina em 83.3% dos casos e Doxiciclina em 9.5%. Um dos doentes não efectuou qualquer antibioterapia.

A taxa de mortalidade global foi de 4.7%. Um dos doentes faleceu por coagulação intravascular disseminada e o outro na sequência de descompensação de um quadro de insuficiência cardíaca.

DISCUSSÃO

A leptospirose está geralmente relacionada com profissões ou hábitos que facilitam o contacto, directo ou indirecto, com ratos, embora nesta série isto se tenha verificado em apenas 33.3% dos casos. Em 21.4% dos doentes não foi possível identificar a fonte de contágio. Cabe salientar que outros animais existentes entre nós, tais

como o cão, o gato, o porco, caprinos, ovinos, bovinos e mesmo equinos podem ser possíveis hospedeiros da leptospira^{8,17,37}, o que pode não ser tomado em conta no momento do inquérito epidemiológico.

Relativamente a outros aspectos, verificou-se um ligeiro predomínio do sexo masculino (54.7%), inferior aos 80% apontados na literatura⁴⁻⁶.

A maioria dos doentes situou-se na faixa etária entre os 40-80 anos, o que está de acordo com algumas séries publicadas na zona centro do país e que correlaciona o facto com o envelhecimento da população rural desta região^{11,16}.

Da grande diversidade das manifestações clínicas apresentadas por estes doentes, salientam-se formas mais severas com icterícia, na sua maioria acompanhadas de insuficiência renal (57.1%). No entanto as formas anictéricas, também assumiram uma percentagem significativa (42.9%), obrigando a um diagnóstico diferencial com outros síndromas agudos, podendo facilmente passar despercebidas^{8,11,16,37}. A hepatite viral é uma entidade que se pode apresentar de forma semelhante, embora o valor de CPK não esteja tão elevado. Ao contrário, do que seria de esperar, nesta casuística, a elevação da CPK ocorreu apenas em 26.1% dos casos. O atingimento hepático foi evidenciado, na grande maioria dos doentes, com valores elevados de ALT em 88% e de AST em 80.9%.

A trombocitopenia ocorreu em cerca de 3/4 dos doentes e em todos aqueles que se apresentaram com insuficiência renal. O atingimento renal variou desde formas menos significativas, a formas mais severas que exigiram terapêutica dialítica (três casos).

Tem importância também referir a ocorrência de pancreatite aguda em sete doentes (16.6%), na sua maioria de pouca gravidade, com valores de amilase, que variaram de 300 a 1192 U/L. A coagulação intravascular disseminada verificou-se em quatro doentes (9.5%). Houve comprometimento pulmonar, sob a forma de pneumonia atípica, em um caso (2.3%) e em dois doentes (4.7%) ocorreu uma meningite asséptica. Nestes últimos havia um estado confusional com sinais meníngeos e valores bioquímicos do LCR revelando uma pleocitose linfocítica de 29 e 79 células/mm³, ambos com valores de glicorraquia e proteinorraquia próximos dos valores normais. Nestes dois casos os serotipos identificados foram a *L. icterohaemorrhagiae* e *grippityphosa*.

A leptospira deve ser considerada como um possível agente etiológico, perante um quadro clínico-laboratorial de uma meningite linfocitária^{2,4,6,8,20}, particularmente num contexto epidemiológico sugestivo.

A identificação do serotipo foi possível em 34 doentes (80.7%), enquanto nos restantes apenas foi possível fazer o doseamento dos títulos de aglutininas anti-leptospira. O serotipo mais frequentemente encontrado foi a *L. icterohaemorrhagiae* em 12 casos (28.5%).

A taxa de mortalidade global foi 4.7%, o que assume valores intermédios aos apontados na literatura (2.5 - 16.4%)⁴, sendo esta superior nos idosos e no *Síndrome de Weil*^{2,4}. Por outro lado, tal como o descrito em outras casuísticas^{8,14}, nesta série não foi encontrada uma correlação entre o serotipo e a gravidade da doença.

Todos os doentes que tiveram alta foram reavaliados posteriormente, não se verificando qualquer sequelas.

Pelo seu polimorfismo, a leptospirose pode ser confundida com outras situações clínicas. Assim, esta entidade deve ser incluída no diagnóstico diferencial dos síndromes febris agudos isolados, icterícias febris, síndromes meníngeas e pneumonias atípicas.

BIBLIOGRAFIA

- BRICAIRE A: Leptospiroses et borrélioses - La Monographie. La Revue du Praticien, 1989; 15: 1285-1312.
- LECOUR H, MIRANDA M, MAGRO C, ROCHA A, GONÇALVES V: Human Leptospirosis - a Review of 50 cases. Infection 1989; 17(1): 8-12
- LECOUR H, MAGRO FC, PEREIRA JR: Leptospirose Ictero-hemorrágica. Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas 1977; 1 (1): 45-60.
- SANFORD JP: Leptospirosis-Medicina Interna, in Harrison, 13ª ed, McGraw-Hill Interamericano 1995: 775-9.
- FARRAR ME: Leptospira Species (Leptospirosis), in Mandell, Douglas and Bennett, Principles and Practice of Infectious Diseases, 3th ed. Churchill, Livingstone 1990: 1813-6.
- BROUQUI P, BARANYON G, RAOULT D: Les Leptospiroses - EMC; Maladies Infectieuses 1990; 8030 Q10: 1-10.
- FRAGA DE AZEVEDO J, PALMEIRO JM: A Endemicidade da Doença de Weil em Lisboa. An Inst Hig Med Trop 1974; 1 (1-4): 339-48.
- BOTAS J, CRESPO CJ, FERREIRA ML: Leptospirose - análise de 28 casos. Revista Portuguesa de Doenças Infecciosas 1987; 10 (4): 211-6.
- MIRANDA AM, LECOUR H: Leptospirose Humana. Livro de resumos das comunicações, 4ª Jornadas de Doenças Infecciosas 1985; 66.
- LECOUR H, OLIVEIRA M, SARMENTO J, MAGALHÃES A, GOMES MH, ROCHA MA: Leptospirose Humana por *L. canicola*, *L. sejroe* e por *L. ballum*. II Congresso de Doenças Infecciosas dos Países de Expressão Portuguesa. Lisboa 1984.
- COLLARES-PEREIRA M, SARAIVA DA CUNHA JG, CORTE-REAL R, MELIÇO SILVESTRE A, CARRINGTON DA COSTA R: Leptospirose humana anictérica na região centro de Portugal. Inquérito preliminar. Coimbra Médica 1987; 6: 415-21.
- FRAGA DE AZEVEDO J, PALMEIRO JM: O diagnóstico laboratorial das leptospiroses em Portugal. Esc Nac Saúde Públ Med Trop. 1972; 6 (1-4) : 89-94.
- KELLEY PW: Leptospirosis. in Gorbach, Bartlett and Blacklow - Infectious Diseases, 2th ed., W. B. Saunders, 1998: 1580 - 7.
- PORTO A, BARRETO A, CAETANO S: Um caso de Doença de Weil. Coimbra Médica 1973; 20: 261-70.
- SANTOS RM, CARVALHO AS, VELEZ J, MOURA J, SEVERO F, PORTO A: Mais um caso de Leptospirose diagnosticado no Centro de Portugal. Coimbra Médica, 1984; 5(1): 31-5.
- SARAIVA DA CUNHA JG, COELHO F, MALCATA L, POMBO V, PEREIRA A, CORTE-REAL R, COLLARES-PEREIRA M, MELIÇO-SILVESTRE A, CARRINGTON DA COSTA R: Leptospirose Humana na zona centro do País. Coimbra Médica, 1987; 4; 277-84.
- FARR RW: Leptospirosis. Clinical Infectious Diseases 1995; 21:11-8.
- FERGUSON IR: Microorganisms at large - A European Perspective on Leptospirosis. Microbiology Europe 1994; 2 (1): 8-11.
- RODRIGUES AC, CORREIA JB, FONSECA I, VERÍSSIMO MT, FERREIRA R: Leptospirose Humana - Revisão teórica e de casuística de um Serviço de Medicina Interna. Rev Port Doenças Infecciosas 1995; 18 (2):119-28.
- RAMOS I et al: Leptospirose Humana - Atualização e revisão casuística das manifestações neurológicas. O Médico, 1991; 125 (2036): 65-72.
- COLLARES-PEREIRA, M; ROCHA, MA: Leptospirose Humana em Portugal. Revisão serológica dos casos analisados (1981-85). O Médico 1986; 114: 236-46.
- DUPONT H et al: Leptospirosis - Prognostic Factors associated with mortality. Clinical Infectious Diseases 1997; 25:720-4.
- CORREIA C, PEREIRA E, FERREIRA AF: Leptospirose - revisão de seis casos clínicos. Rev Port Doenças Infecciosas 1996; 19 (1/2): 93-6.
- TAVARES FM, FERNANDES AM, MIRALDO M, FERNANDES V, BARROS MSJ, VIEIRA AA: Leptospirose - a propósito de 3 casos clínicos. Jornal do Médico, 1991: 125 (2277):156-9.
- VERONESI R, CORREA MOA, EDELWEISS EL: Leptospiroses. in Veronesi - Doenças Infecciosas e Parasitárias, 7ª Ed. Editora Guanabara. Rio de Janeiro, Brasil, 1987; 787-800.
- DAVID DE MORAIS JA, COLLARES-PEREIRA M: *Leptospira interrogans* sorogruppo *australis* - A propósito de um caso anictérico. Rev Port Doenças Infecciosas 1988; 11 (3):179-84.
- CARLES G, MONTOYA E, JOLY F, PENEAU C: Leptospirosis and pregnancy. Eleven cases in French Guyana. J Gynec, Obstet et Biologie de la Reproduction, 1995; 24 (4):418-21.
- SHAKED Y, SHPILBERG O, SMARA Y: Leptospirosis in Pregnancy and its effect on the fetus: Case report and review. Clin Infect Diseases 1993; 17 (2):241-3.
- CREVEL R, SPEELMAN P, GRAVEKAMP C, TERPSTRA WJ: Leptospirosis in Travelers. Clin Infect Diseases 1994; 19:132-4.
- MOUSUEZ JJ, KIDOUCHE R, GUENO B, POSTIC D: Leptospirosis presenting as haemorrhagic fever in visitor to Africa. Lancet, 1997; 349:254-5.
- ZYLBERBERG H et al: Leptospirose grave chez un patient infecté par le virus de l' immunodéficience humaine. Ann Med Int (letter) 1995; 146 (7):522.
- SPEELMAN P: Leptospirosis. in Harrison's - Principles of Internal Medicine, 14th edition, ed. Mc Graw - Hill, 1998, 1036-38.
- WINSLOW WE et al: Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M in diagnosis of human leptospiral infection. J Clin Microbiology 1997; 35 (8):1938-44.
- SEGHAL SC et al: Evaluation of leptospira micro capsule agglutination test (MCAT) for serodiagnosis of leptospirosis. Indian J Med Research; 1997, 106:504-7.
- WOO TH et al: Identification of pathogenic Leptospira genospecies by continuous monitoring of fluorogenic hybridization probes during rapid-cycle PCR. J Clin Microbiology 1997; 35 (12):3140-6.
- LEVETT PN et al: Evaluation of the indirect hemagglutination assay for diagnosis of acute leptospirosis. J Clin Microbiology 1998, 36 (1):11-4.
- COLLARES-PEREIRA M et al: Leptospirose humana - identificação em Portugal de novos serogrupos de *Leptospira interrogans*. Coimbra Médica 1989; 10:107-15.