

LEPTOSPIROSE HUMANA — INFECÇÃO EM HABITANTES DO VALE DO RIO ARICANDUVA, MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, 1984-5.

PARTE II — ASPECTOS SOROLÓGICOS*

Doralice de Souza**

SOUZA, D. de. Leptospirose humana: infecção em habitantes do vale do rio Aricanduva. Parte II — aspectos sorológicos. *Rev. Esc. Enf. USP*, São Paulo, 22(2):159-168, ago. 1988.

Foi investigado o nível de infecção por leptospiros em 61 coabitantes de casos de leptospirose humana ocorridos no vale do rio Aricanduva, a leste do município de São Paulo, em 1983. Em artigo anterior, foram apresentados os dados referentes ao grupo de pessoas e ao meio ambiente. No presente artigo, são relatados os aspectos sorológicos da investigação onde o nível de infecção encontrado foi de 9,8%. Os soros humanos investigados reagiram aos sorotipos: panama, copenhageni, javanica e patoc.

UNITERMOS: *Leptospirose. Saúde Pública. Sorotipagem.*

INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial^{4,23,31,32} sendo o homem apenas um hospedeiro transitório e ocasional de leptospiros^{7,17,31}.

Segundo FAINE²⁴, o gênero *Leptospira* compreende duas espécies bem estudadas: a *L. interrogans*, patogênica e a *L. biflexa*, saprófita. Haveria uma terceira espécie, a *L. illini*, fenotipicamente semelhante à *L. biflexa*, porém muito diferente de todas as outras leptospiros em relação às características sorológicas, algumas morfológicas e em sua composição de base de DNA. Quanto à *L. illini*, JOHNSON & FAINE³¹ relatam que a proposta de 1979, de Havind-Hougen, de incluí-la como um segundo gênero, o *Leptonema*, foi considerada insuficiente pelo "Sub committee on the Taxonomy of *Leptospira*" e esta foi mantida no gênero *Leptospira* como uma "species incertae sedis" — espécie de posição incerta — que precisa ser melhor investigada.

As propriedades morfológicas e culturais das diferentes leptospiros são uniformes enquanto que as características aglutinogênicas variam muito. Estas é que permitiram a revelação de cerca de 180 variedades sorológicas até o momento. Cada

* Parte da tese "Estudo da infecção de leptospirose humana em coabitantes de casos ocorridos no vale do rio Aricanduva, município de São Paulo, 1983", apresentada a Faculdade de Saúde Pública, USP, para obtenção do título de Doutor em Saúde Pública, 1986.

** Enfermeira. Doutor em Saúde Pública. Professor Assistente Doutor do Departamento de Enfermagem em Saúde Coletiva da Escola de Enfermagem da USP — disciplinas *Enfermagem Preventiva e Comunitária e Saúde da Comunidade*.

uma dessas variedades é descrita e nomeada como sorotipo, que é a unidade taxonômica básica^{24,31,48}. Para fins práticos os sorotipos são reunidos em sorogrupos com base nesses componentes aglutinogênicos afins^{24,31}.

Ainda segundo FAINE²⁴, são as características aglutinogênicas que servem de base para investigações variadas como diagnósticos sorológicos, identificação de cepas isoladas, estudos epidemiológicos e profilaxia vacinal.

Certos sorotipos são freqüentemente encontrados em associação com algum hospedeiro, em particular, como por exemplo o *icterohaemorrhagiae* com os ratos e o *gryppotyphosa*²⁴ com os camundongos do campo.

Em relação à leptospirose humana, pessoas de ambos os sexos e de todas as idades são susceptíveis à infecção podendo esta ocorrer em qualquer época do ano²⁴.

Na maioria das regiões a leptospirose é, ainda, e principalmente, uma doença ocupacional, que atinge os grupos de agricultores, trabalhadores em esgoto, em minas, em matadouros, veterinários, laboratoristas, pessoal militar e preparadores de peixes para indústria²⁴.

GONÇALVES e col.²⁸ afirmam que, no Brasil, a leptospirose humana resulta numa infecção endêmica em grandes centros urbanos. Acrescentamos que, além disso, surtos epidêmicos têm ocorrido em todo o país.

Enquanto doença profissional, ela se manifesta em casos isolados e esporádicos de trabalhadores expostos a fontes de infecção, sem representar risco importante para a comunidade em geral⁹. Convém lembrar, porém, que ela provoca índices de infecção sub-clínica muito altos, tendo sido encontrados 19,4%, 28,5 e 35,4%, respectivamente por COSTA¹⁹, MAGALDI³⁶ e CRUZ e col.²⁰, entre trabalhadores em redes de esgoto.

Com o objetivo de determinar o nível de infecção da leptospirose humana em coabitantes de casos confirmados, ocorridos durante o ano de 1983, residentes no vale do rio Aricanduva, município de São Paulo, realizamos um inquérito epidemiológico naquela área, no final de 1984 e início de 1985, conforme metodologia descrita em trabalho anterior⁵¹.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante as visitas domiciliares colhemos uma amostra de sangue de cada um dos 61 coabitantes estudados, seguindo técnica usual para colheita — venipunção.

Após a separação dos soros, conservamo-los em congelador a -20°C até a execução dos testes laboratoriais.

Para pesquisa de anticorpos anti-leptospiras, realizamos o teste de soroaglutinação microscópica com antígenos vivos, preconizado pela Organização Mundial de Saúde²⁴, nas amostras de soro colhidas, tendo sido considerado soro reagente aquele que apresentou um título mínimo igual ou superior a 1:100⁴².

Utilizamos 20 sorotipos de leptospiras, com as respectivas cepas de origem procedentes do Centro Panamericano de Zoonoses — CEPANZO — da Oficina Sanitária Panamericana, em Buenos Aires, Argentina.

Para diferenciarmos se a infecção encontrada era recente ou passada, investigamos, nesses soros, além de outros dados epidemiológicos, a presença de anticorpos da classe IgM, por meio da prova de hemaglutinação passiva, conforme técnica descrita por RIBEIRO e col.⁴⁵, considerando significativo o título igual ou maior que 1:128⁴⁴.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, das 61 amostras de soro pesquisadas, 11 aglutinaram leptospiras no teste de soroaglutinação microscópica. Dessas 11, em 5 a aglutinação ocorreu a um título de 1:50.

THIERMANN⁵² e CORDEIRO e col.¹³ consideraram positivos títulos de 1:50 e 1:40 respectivamente, porém em investigações sobre a população animal; DEMERS e col.²¹ atêm-se a um título igual ou maior que 1:24, desta vez com humanos. No presente trabalho, foram considerados como soro reagentes contra leptospiras aqueles que apresentaram um título igual ou superior a 1:100 segundo recomendação da Organização Mundial de Saúde^{24,42} provavelmente devido à possibilidade de que títulos menores possam ser confundidos com reações antigênicas inespecíficas.

Mesmo assim, convém lembrar que em um levantamento sobre essas aglutininas em grupos ocupacionais de risco, BLACKMORE e col.⁶ sugeriram que, em títulos de 1:24, detectáveis pelo teste de aglutinação microscópica, poderiam persistir no soro por até, no mínimo, 10 anos.

Entretanto, considerando-se o título mínimo como sendo 1:100, teremos 6 indivíduos soro reagentes (Quadro 1) com os sorotipos *panama*(2), *copenhageni*(1), *javanica*(2), e *patoc*(1).

QUADRO 1

RESULTADO DA SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA EM SOROS DE COABITANTES DE CASOS DE LEPTOSPIROSE HUMANA (TÍTULO = 1:100), MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, 1984-5.

Soro Código	Sorotipo
128 - 2	<i>panama</i>
139 - 3	<i>copenhageni</i>
265 - 5	<i>patoc</i>
265 - 7	<i>panama</i>
345 - 3	<i>javanica</i>
345 - 7	<i>javanica</i>

Quanto à interpretação qualitativa dos achados sorológicos, esses sorotipos poderiam ser ou não considerados os sorotipos responsáveis pela infecção detectada. ALEXANDER e col.³ encontraram co-aglutinação em 10% dos casos por eles estudados. Esses autores relataram que, em 93 casos, nos quais foi obtido o isolamento e posterior tipagem das leptospiras, 69% das reações sorológicas eram concordantes com as características antigênicas da leptospira isolada; em 20% dos casos havia títulos contra o sorotipo homólogo e outros membros do mesmo sorogrupo mas também apresentavam co-aglutinação contra cepas que, tanto quanto se sabia, não eram relacionadas antigenicamente com o sorotipo infectante; em 10,7% dos casos, a designação da cepa infectante, mesmo pelo sorogrupo, não foi possível ser realizada. Os autores afirmam que, em vista dos resultados dos testes sorológicos realizados, é razoável concluir-se que a designação do sorogrupo infectante foi exata em 90% dos casos. Lembra ainda que: a determinação do sorotipo se torna difícil, porquanto o agente causal pode não se encontrar entre os antígenos empregados nos testes; a aglutinação pode refletir uma reação cruzada contra leptospiras que

pertençam ou não à bateria empregada; em outras oportunidades pode haver um título não específico contra outras leptospiras não empregadas nos testes, que exceda o título contra o sorotipo homólogo; e títulos residuais ou infecções simultâneas com múltiplos sorotipos podem, posteriormente, tornar confusa e complexa a resposta sorológica.

No presente trabalho, das 61 amostras de soro pesquisadas, 6 (9,8%) foram soro reagentes contra leptospiras (Tabela 1) com o título limítrofe de 1:100, incluindo um soro reagente para *patoc*.

TABELA 1

RESULTADOS DOS TESTES DE SORO AGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA PARA LEPTOSPIROSE, EM COABITANTES DE CASOS DE LEPTOSPIROSE HUMANA, MUNICÍPIO DE SÃO PAULO, 1984-5.

Soro Reagentes	Coabitantes	
	Nº	%
sim	6	9,8
não	55	90,2
TOTAL	61	100,0

BABUDIERI⁵ já afirmara, anos atrás, que o objetivo do teste sorológico é revelar a presença de quaisquer anticorpos leptospíricos e que a descoberta de tais anticorpos prova que o indivíduo foi infectado com leptospira.

Segundo FEIGIN & ANDERSON²⁴ e TURNER³¹, em geral os sorotipos que pertencem ao mesmo sorogrupo têm reação cruzada a altos títulos. TURNER³³, citando Kmety, observou que as reações cruzadas paradoxais ocorrem mais freqüentemente entre o 6º e 11º dias após o início da doença e, segundo ele, usualmente o padrão de reações cruzadas torna-se mais restrito à medida que o tempo passa.

Consideramos que, no presente estudo, provavelmente não houve reação cruzada porque os seis soros positivos reagiram cada um para um único sorotipo e a um título baixo. Em vista disso, consideramos o *panama*, o *copenhageni* e o *javanica* da espécie *L. interrogans*³¹, patogênica, e o sorotipo *patoc* da espécie *L. biflexa*³¹, saprófita, como sendo os sorotipos infectantes da população estudada. Porém, este último, por pertencer à *L. biflexa*³¹, merece a nosso ver, discussão à parte.

As leptospiras dessa espécie são saprófitas, de vida livre, encontradas em água fresca de superfície e ocasionalmente na água do mar²⁴, sendo chamadas, por esse motivo, também de aquícolas. Entretanto, o fato de, no presente estudo, esse sorotipo ter sido aglutinado por um soro humano não é novo. Segundo ADDAMIANO & BABUDIERI¹, algumas cepas de *L. biflexa*, dentre elas a *Patoc I*, são aglutinadas por soros de indivíduos ou animais previamente infectados com cepas patogênicas; os autores relatam trabalhos realizados em várias partes do mundo, inclusive no Brasil, no período de 1928 a 1967, nos quais esse fenômeno foi identificado. Eles mesmos encontraram soros reagentes para *Patoc I* entre os soros humanos e de animais, negativos e positivos contra leptospiras patogênicas. CARROL & LECLAIR¹⁰ e MYERS³⁹, dentre outros pesquisadores, isolaram *L. biflexa* de animais.

Talvez por esses motivos, FAINE²⁴ nos pareça tão cauteloso ao se referir a essas leptospiras como estando raramente associadas com infecção no homem ou em outros animais e que são avirulentas para animais de laboratório. Para esse autor, a cepa Patoc I é dotada de tal capacidade antigênica que reage com a maioria das aglutininas das leptospiras patogênicas. Essa cepa funciona como antígeno polivalente ou antígeno de triagem em reações gênero-específicas da classe IgM²⁴. Muitos autores^{1,8,14,16,19,25,37,39,46,48} têm pesquisado a polivalência da Patoc I, utilizando essa característica em seus experimentos.

Portanto, o fato de um soro, no presente estudo, ter reagido com esse antígeno, pode ser indicativo de que o indivíduo foi infectado com leptospiras, provavelmente patogênicas, sem entretanto, termos qualquer indício sobre quais seriam. Existe também a possibilidade de estarmos diante de uma reação homóloga, que é o que acreditamos ter ocorrido no presente estudo, devido ao fato dos soros terem reagido com um único sorotipo cada um e a um título baixo.

Quanto ao estado de infecção dos coabitantes pesquisados, índice de 9,8% (Tabela 1), este foi difícil de ser avaliado, dada a variação muito grande dos níveis de infecção encontrados pelos autores em vários grupos populacionais, gerais e de risco, conforme apresentamos a seguir:

- de 0,9 a 5,4% em estudos realizados com agricultores^{15,22,29,49}
- de 0,4 a 35,4% em estudos realizados com trabalhadores em redes de esgoto^{19,20,22,27,28,36,40,47,49} e
- de 0,0 a 9,5% em estudos realizados com grupos de população geral^{11,14,18,19,22,26,30,34,35,38,41,43,47,50}

Ao considerarmos apenas os estudos realizados em São Paulo com população geral, veremos que:

- os 9,8% de soro reagentes de coabitantes de casos estão muito acima do nível de 1,6% de soros positivos encontrados por MEIRA & SANTA ROSA³⁸, entre 118 detentos que trabalhavam nos locais onde surgiram casos clínicos; e que
- estão também muito acima do índice de 1,0% de positividade encontrado por SANTA ROSA e col.⁵⁰ entre 364 soros de doadores de sangue do Banco de Sangue do Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo.

Nossos resultados assumem maior expressão quando verificamos que, em São Paulo, mesmo em grupos reconhecidamente de risco, que são os trabalhadores em redes de esgoto, foram encontrados somente 0,5% de positividade entre 172 amostras de soro pesquisadas⁴⁹.

Sobre a época de infecção, em estudo realizado na Nova Zelândia por BLACKMORE e sua equipe⁶, de 69 inspetores de carne que haviam apresentado títulos de aglutininas variando de 1:768 a 1:24, foram colhidas amostras de sangue periodicamente, até um período superior a 53 meses. Alguns indivíduos mantiveram títulos de 1:384 a 1:192 por, no mínimo, 30 meses e outros, com títulos iniciais de 1:48 e 1:24 mantiveram esses títulos por 53 meses. Seis dos 69 inspetores de carne, foram inicialmente soro negativos (menor que 1:24) e revelaram soroconversão durante o período de estudo. Também foi analisada a magnitude dos títulos em amostragem simples para cada uma das 162 pessoas com história prévia de leptospirose confirmada clini-

camente. Essa análise foi feita em relação ao tempo decorrido desde o diagnóstico inicial. Alguns indivíduos tiveram títulos de 1:192, sete anos após a infecção, enquanto outros tiveram títulos mais baixos após mais de 20 anos. Inversamente, 12% da população foi soro negativa 2 anos após a infecção.

Mesmo reconhecendo que a informação sorológica é um importante auxílio para o diagnóstico da leptospirose no homem e em animais, e fundamental para o estudo de sua epidemiologia, BLACKMORE e sua equipe⁶, após a análise desses dados, acabaram por concluir que não é possível, a partir de resultados de teste de aglutinação leptospírica, estimar-se, retrospectivamente, o tempo em que essa infecção ocorreu.

Embora reconheçamos a importância desse estudo, concordamos em parte com suas conclusões.

Adotamos, como critério de positividade, um título igual ou superior a 1:100⁴², que seria também indicativo de infecção passada³⁵. ADDAMIANO & BABUDIERI¹, entretanto, nos lembram que esse título pode também ser devido a uma infecção muito recente.

Realmente, segundo TURNER⁵³, os títulos variam com a passagem do tempo. No início da infecção eles estão negativos e começam a subir passando da infecção para altos títulos, quando se mantêm em um "plateau"; inicia, então, uma descida progressiva para títulos mais baixos até negativarem. Como a escala de tempo e a altura da curva sofrem variações dependendo de fatores inerentes à cepa infectante ou ao hospedeiro, a curva inteira pode ser completada no período de oito meses a dois anos ou até mesmo não ser completada.

FAINE³⁴ observa que todos os pacientes humanos produzem IgM, aglutinando antígenos após uma infecção, embora, por motivos ainda desconhecidos, nem todos produzem IgG; que os anticorpos IgM aparecem primeiro, às vezes semanas antes dos anticorpos IgG, e que o estágio da infecção em que eles são detectáveis é variável.

CHERNUKHA e col.¹² investigaram 1.047 amostras de soros de 293 pacientes e de 376 pessoas que haviam tido leptospirose em períodos variados, quais sejam: de 1 a 2 e de 2 a 9 meses; após 1 ano; de 5 a 10 e de 20 a 22 anos; nesse estudo, os autores observaram que, durante a primeira semana da doença, circulam no sangue principalmente anticorpos da classe IgM. Quanto aos anticorpos IgG, estavam presentes, nas primeiras quatro semanas da doença, em apenas 20% dos soros estudados; por outro lado, eles foram detectados a título variando de 1:100 a 1:1.000, após 20-22 anos.

Outros autores também^{24,25,45} relacionam a presença de anticorpos IgM com infecção recente.

O tempo máximo em que anticorpos IgM foram detectados, na literatura por nós consultada, foi de aproximadamente 10 meses^{2,53}.

É sabido que o sorotipo *patoc* reage preferencialmente com anticorpos IgM, estando, por isso, também relacionado com infecção recente. Entretanto, no presente estudo, as 61 amostras de soro foram submetidas à prova de hemaglutinação passiva, com resultados que variaram de < 1:8 a 1:32, sendo que as consideramos todas negativas para pesquisa de IgM, segundo os critérios que adotamos previamente.

Portanto, reatando a linha de raciocínio anterior, os soros positivos a 1:100, que reagiram, inclusive, com um único sorotipo por vez, e sem IgM detectável, são, provavelmente, referentes à infecção passada, inclusive o soro que reagiu com o sorotipo *patoc*.

Na primeira parte deste trabalho verificamos que:

- 18 pessoas, ou seja 29,6% dos coabitantes, eram de prendas domésticas; 18,2% eram menores e 6,6%, aposentadas; 6,6% eram operários não qualificados, ficando outras ocupações com 3,3% ou 1,6%, não se enquadrando, portanto, nas chamadas ocupações de risco;
- em relação ao meio ambiente, as unidades residenciais investigadas eram diferentes daquelas descritas na literatura, no tocante a casos de leptospirose humana. Estas apresentavam boas condições de infra-estrutura urbana, ou seja, 95,8% eram servidas por transporte coletivo nas proximidades, 79,2% por iluminação pública, 70,8% por rede de esgoto e 100% por rede pública de abastecimento de água; 75% moravam em rua pavimentada. Quanto ao tipo de construção, 100% era de alvenaria;
- sobre os fatores que poderiam favorecer a infecção humana por leptospiras verificamos que quase 90% das unidades residenciais estudadas estavam a menos de 100m de distância de terrenos baldios; 58,4% tinham ratos ou nas próprias dependências ou nas proximidades; e 79,1% estavam localizadas até a 200m de correntes fluviais;
- dos 61 coabitantes estudados, 42 (67,8%) estiveram uma ou mais vezes em contato com enchentes, a maioria das quais ocorreram nos meses de janeiro e fevereiro de 1983, época aproximada em que 127 (63,5%) dos 200 doentes desse ano também sofreram da mesma calamidade.

Aliando esses achados ao fato de que os resultados da prova de hemaglutinação passiva para pesquisa de IgM nas 61 amostras de soro foram todas negativas, acreditamos estar diante de indícios soro-epidemiológicos de que a infecção apresentada pelos coabitantes é passada e, provavelmente, decorrente do mesmo fator que determinou o aparecimento de muitos casos na região, que foi a enchente.

CONCLUSÕES

Pelos resultados que obtivemos, em função da metodologia por nós adotada, pudemos concluir que:

1. o nível de infecção da leptospirose humana em 61 coabitantes de casos confirmados, ocorridos durante o ano de 1983, residentes no vale do rio Aricanduva, foi de 9,8%;
2. os soros humanos que aqui investigamos foram reagentes aos sorotipos: *panama*, *copenhageni*, *javanica* e *patoc*;
3. o nível de infecção por nós encontrado aparentemente não decorreu de condições precárias de moradia, de falta de saneamento básico ou de urbanismo;
4. em decorrência da conclusão 3, os dados soro-epidemiológicos da nossa casuística sugerem participação apreciável do binômio enchente-população murina sobre esse nível de infecção;
5. pelos dados soro-epidemiológicos do presente trabalho, consideramos a infecção encontrada como tendo ocorrido no passado, presumivelmente relacionada à época de infecção do caso.

SOUZA, D. de. Human leptospirosis: infection in inhabitants of the Aricanduva River Valley, São Paulo city, Brazil, 1984-5. Part II — serology. *Rev. Esc. Enf. USP, São Paulo*, 22(2):159-168, Aug. 1988.

The article approaches the investigation on the level of leptospiral infection of inhabitants who dwelled together human cases of leptospirosis, occurred in the Aricanduva River Valley, on the east side of São Paulo city, Brazil, in 1983. In a past paper, it was presented the data on person of the studied group and their environment. In this paper, the serologic aspects were 9,8% (6 cases) of serum samples showed reagents for serovars panama (2), copenhageni (1), javanica (2) and patoc (1).

UNITERMS: *Leptospirosis. Public health. Serotyping.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADDAMIANO, L. & BABUDIERI, S. Water strains of *leptospira* in the serodiagnosis of human and animal leptospirosis. *Bull. WHO, Genève*, 39:925-34, 1968.
2. ADLER, B. & FAINE, S. The antibodies involved in the human immune response to leptospiral infection. *J. med. Microbiol., Edinburgh*, 11:387-400, 1978.
3. ALEXANDER, A.D.; EVANS, L.R.; TOUSSAINT, A.J.; MARCH-WICKI, R.H.; Mc CRUMB Jr., F.R. Leptospirosis in Malaya II: antigenic analysis of 110 leptospiral strains and other serologic studies. *Amer.J.trop.Med.Hyg., Lawrence*, 6:871-89, 1957.
4. ALSTON, J.M. & BROOM, J.C. *Leptospirosis in man and animals*. Edinburgh, Livingstone, 1958.
5. BABUDIERI, B. Laboratory diagnosis of leptospirosis. *Bull WHO, Genève*, 24(1):45-58, 1961.
6. BLACKMORE, D.K. & SCHOLLUM, L.M. The magnitude and duration of titres of leptospiral agglutinins in human sera. *N. Z. med. J., Dunedin*, 97(749):83-6, 1984.
7. BROOM, J.C. Leptospirosis in England and Wales. *Brit. med. J., London*, 2:689-97, 1951.
8. CALDAS, E.M.; SAMPAIO, M.B.; COSTA, E.; TISHCHENKO, L.M. Patoc 1 and Rufino strains of *Leptospira biflexa*, as screening antigens in the diagnosis of leptospirosis. *Int. J. Zoonoses, Taipei*, 5:91-6, 1978.
9. CAMARGO, M.C.C.; FIGUEIREDO, G.M.; VENEZIANI, P.; OKI, S. Leptospirese. *Rev. paul. med., São Paulo*, 101(2):74-6, 1983.
10. CARROL, R.E. & LE CLAIR, R.A. Isolation of leptospiral serotype patoc from cattle in Southern California. *Amer. J. vet. Res., Chicago*, 30:2231-2, 1969.
11. CASTRO, R.M. & CORRÊA, M.O.A. Inquérito sorológico sobre leptospiroses realizado no Vale do Cariri, Estado do Ceará. *Rev. med., São Paulo*, 47(1):190-2, 1963.
12. CHERNUKHA, Y.G., SHISHKINA, Z.S.; BARYSHEV, P.M.; KOKOVIN, I.L. The dynamics of IgM and IgG antibodies in leptospiral infection in man. *Zbl. Bakt. I. Abt.Orig., Stuttgart*, 36:336-43, 1976.
13. CORDEIRO, F.; SULZER, C.R.; ALMEIDA RAMOS, A. de *Leptospira interrogans* in several wildlife species in Southeast Brazil. *Pesq. vet. bras., Rio de Janeiro*, 1(1):19-29, 1981.
14. CORRÊA, M.O.A. Panorama atual das leptospiroses humanas no Brasil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo*, 33:55-72, 1973.
15. CORRÊA, M.O.A.; AMATO NETO, V.; VERONESI, R.; BRANDÃO, C.H. Inquérito sorológico para o diagnóstico de leptospiroses entre lavradores de arrozais do Vale do Paraíba. *Rev.Inst.Adolfo Lutz, São Paulo*, 14(1):33-7, 1954.
16. CORRÊA, M.O.A.; NATALE, V.; SADATSUNE, J.; FLEURY, G.C. Valor prático do uso da *Leptospira semaranga* Patoc I no diagnóstico das leptospiroses humanas. *Rev.Inst. Med.trop., São Paulo*, 12(4):284-7, 1970.
17. CORRÊA, M.O.A.; VERONESI, R.; BRITO, T. de; HYAKUTAKE, S.; SANTA ROSA, C.A.; EDELWEISS, E.L. Leptospiroses. In: VERONESI, R. *Doenças infecciosas e parasitárias*. 6.ed. São Paulo, Guanabara-Koogan, 1976. p.787-803.
18. COSTA, C.A.; REZENDE, M.; LINS, Z. Leptospiroses no Estado do Pará e Território Federal do Amapá. *Rev. Inst. Adolfo Lutz, São Paulo*, 29/30:1-4, 1969/70.
19. COSTA, E.A. Considerações epidemiológicas sobre leptospiroses. *Gaz.med.Bahia, Salvador*, 70(2):75-104, 1970.
20. CRUZ, J.; TREVISAN, S.; MUNIZ, J.C.; LITIERI, P.; CÂMARA, R.U.F. Leptospiroses em trabalhadores da rede de esgotos da cidade de São Paulo. *Rev.DAE, São Paulo*, 29(74):77-80, 1969.

21. DEMERS, R.Y.; THIERMANN, A.; DEMERS, P.; FRANK, R. Exposure to *Leptospira icterohaemorrhagiae* in Inner City and suburban children: a serologic comparison. *J. Fam. Pract.*, New York, 17(6):1007-11, 1983.
22. EDELWEISS, E.L. Leptospiroses humanas: contribuição ao seu estudo. Porto Alegre, 1962. (Tese de livre-docência — Faculdade de Medicina da URGs).
23. ENRIETTI, M.A. Contribuição ao conhecimento da incidência de leptospiroses em murideos, caninos e suínos no Paraná. *Arq.Biol.Tecnol.*, Curitiba, 9(3):21-73, 1954.
24. FAINE, S. *Guidelines for the control of leptospirosis*. Geneva, World Health Organization, 1982. (WHO — Offset Publ., 67).
25. FEIGIN, R.D. & ANDERSON, D.C. Human leptospirosis. *CRC crit.Rev. Diagn.Imaging*, Cleveland, 5:413-67, 1975.
26. FOCACCIA, R.; BAZONE, J.R.C.; HYAKUTAKE, S.; MAZZA, C.C.; FELDMAN, C.; VERONESI, R. Leptospirose: estudo sorológico entre habitantes de ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, São Paulo, 39(1):17-23, 1979.
27. GOMES, M.C.O.; HYAKUTAKE, S.; CORRÊA, M.O.A. Investigação sobre a ocorrência de leptospiroses em trabalhadores de diversas profissões no distrito sede do município de Sorocaba. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, São Paulo, 28:19-26, 1968.
28. GONÇALVES, A.J.R.; FAÇANHA, M.C.; SANTOS, J.R.P. dos; SANTOS, J.W.; LIMA, J.M. de C.; ANDRADE, J. Leptospirose: formas graves — uma emergência em doenças infecciosas. *Arq.bras.Méd.*, Rio de Janeiro, 58(5):320-3, 1984.
29. HYAKUTAKE, S.; CORRÊA, M.O.A.; NATALE, V.; COUTO, M. da COSTA; MAZZARI, R.; PACHECO, A. Inquérito sorológico para o diagnóstico de leptospirose entre cortadores de cana-de-açúcar de alguns municípios do Estado de São Paulo. *Rev.Inst. Adolfo Lutz*. São Paulo, 25/27:111-14, 1965/67.
30. HYAKUTAKE, S.; SANT'ANNA, I.F.A.B.; LIMA, D.P.C. Investigação sorológica sobre leptospiroses em um grupo populacional do Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev.Inst.Adolfo Lutz*, São Paulo, 38(1):3-8, 1978.
31. JOHNSON, R.C. & FAINE, S. Family II: leptospiraceae Havind-Hougen, 1979, 1979, 245^{Al}. In: KRIEG, N.R. & HOLT, J.G. *Bergey's manual of sistematic bacteriology*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984. v.1. p.62-7.
32. LARSSON, C.E. Estudo epidemiológico da leptospirose felina. São Paulo, 1981 (Tese de doutorado — Faculdade de Saúde Pública da USP)
33. LESSA, I.; ALMEIDA, F.A.A.; ALVES, J.F.A.; SOUZA, M.E.B; JESUS, M.F.S.; CARICCHIO, R. Prevalência de doenças crônicas em um bairro de Salvador, Bahia, Brasil. *Bol.Ofic.sanit. panamer.*, Washington, 93(4):376-87, 1982.
34. LIMA, D.P.C. & SANTA ROSA, C.A. Inquérito sorológico para leptospirose no Rio Grande do Norte. *Rev.Inst.Med.trop*, São Paulo, 16(5):259-64, 1974.
35. LINS, Z.C. & SANTA ROSA, C.A. Investigações epidemiológicas preliminares sobre leptospiroses em Humboldt, Aripuanã, Mato Grosso. *Acta amazon.*, Manaus, 6(4 Supl):49-53, 1976.
36. MAGALDI, C. Contribuição à epidemiologia das leptospiroses. São Paulo, 1962. 114p. (Tese de doutorado — Faculdade de Medicina da USP).
37. MAILLOUX, M. Utilité de l'antigène *Leptospira biflexa* Patoc dans les sérodiagnostics de leptospires. *Ann.Inst.Pasteur*, Paris, 112(4301):121-5, 1967.
38. MEIRA, D.A. & SANTA ROSA, C.A. Estudo epidemiológico e clínico da leptospirose em detentos de São Paulo. *Rev.Hosp.Clin.Fac.Med.*, São Paulo, 19:163-72, 1964.
39. MYERS, D.M. Serological studies and isolations of serotype *hardjo* and *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. *J.clin.Microbiol.*, Washington, 3(6):548-55, 1976.
40. NOHMI, N. Contribuição à epidemiologia das leptospiroses: investigação em trabalhadores da rede de águas e esgotos, restaurantes e feiras livres da cidade de Belo Horizonte, M.G. *Hospital*, Rio de Janeiro, 65(3):617-29, 1964.
41. NOHMI, N.; SAMPAIO, C.E.; ROQUETE, J.C.V.; FLORA, V.; BARBOSA, M.; CORRÊA, M.O.A. Leptospiroses: considerações sobre inquéritos sorológicos realizados em Minas Gerais — Brasil. *Rev.Ass.med.Minas Gerais*, Belo Horizonte. 32(1/4):35-7, 1981.
42. ORGANIZATION MONDIALE DE LA SANTÉ. Groupe d'étude sur le diagnostic de la leptospirose et typage des leptospires, Genève, 1955. *Rapport*. Genève, 1956. (Ser. Rapp. techn., 113).
43. RATNAM, S.; MADANAGOPALAN, N.; JAYANTHI, V. Humoral and cell-mediated immune responses to leptospires in different human cases. *Trans.roy.Soc.trop.Med.Hyg.*, London,

78(4):539-42, 1984.

44. RIBEIRO, M.A.; CAVALCANTE, Z.M. de O.; LOPES, D.M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; VIANA, T.H.S. Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana em diversos estágios evolutivos da doença. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, **45**(1/2):37-42, 1985.
45. RIBEIRO, M.A.; KAWARABAYASHI, M.; TAKEDA, A.K. Imunodiagnóstico da leptospirose humana: I — antígeno polissacarídico para a prova de hemaglutinação passiva. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, **41**(2):127-33, 1981.
46. RIBEIRO, M.A.; YAMADA, L.K.; TAKEDA, A.K.; CORRÊA, M.O.A. Imunodiagnóstico da leptospirose humana: 2 — estudo comparativo das reações de soroaglutinação microscópica, hemaglutinação passiva e imunofluorescência indireta. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, **41**(2):135-43, 1981.
47. ROMANHOLI, J.A. apud FOCACCIA, R.; BAZONE, J.R.C.; HYAKUTAKE, S.; MAZZA, C.G.; FELDMAN, C.; VERONESI, R. Leptospirese: estudo sorológico entre habitantes de ilhas do litoral sul do Estado de São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, São Paulo, **39**(1):17-23, 1979.
48. SANTA ROSA, C.A. Estudo comparativo de algumas estirpes de leptospiros apatogênicas para o diagnóstico de leptospirose animal. São Paulo, 1977. (Tese de livre-docência — Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP).
49. SANTA ROSA, C.A.; COSCINA, A.L.; CASTRO, A.F.P.; SILVA, A.S.; QUEIRÓZ, J.C. Pesquisa de aglutininas anti-leptospirose em soros de trabalhadores de diversas profissões. *Rev. Microbiol.*, São Paulo, **1**:19-24, 1970.
50. SANTA ROSA, C.A.; KIPNIS, J.; OSELKA, G.W.; TCHERNIACOVSKI, I.; AMATO NETO, V. Verificação de reações de soroaglutinação para o diagnóstico de leptospirose positiva entre doadores do banco de sangue de São Paulo. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, Rio de Janeiro, **3**(1):31, 1969.
51. SOUZA, D. de Leptospirose humana — infecção em habitantes no vale do rio Aricanduva, município de São Paulo, 1984-5. Parte I — Aspectos relativos ao grupo estudado e ao meio ambiente. *Rev. Esc. Enf. USP*, São Paulo, **22**(1):103-21, abr. 1988.
52. THIERMANN, A.B. Incidence of leptospirosis in the Detroit rat, population. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, Lawrence, **26**(5):970-4, 1977.
53. TURNER, L.H. Leptospirosis — II: serology. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, London, **62**(6):880-99, 1968.

Recebido para publicação em 21/01/87

Aprovado para publicação em 7/06/88