

DISTRES RESPIRATORIO DEBIDO A HEMORRAGIA PULMONAR POR LEPTOSPIROSIS

ALFREDO SEIJO¹, HECTOR COTO², JORGE SAN JUAN¹, JUAN VIDELA¹, BETTINA DEODATO¹, BEATRIZ CERNIGOI¹, OSCAR GARCIA MESSINA³, OSCAR COLLIA³, DIANA DE BASSADONI⁴, RICARDO SCHTIRBU¹, ALEJANDRO OLENCHUK A⁵, GLEYRE DORTA DE MAZZONELLI⁶, ALBERTO PARMA⁷

¹ Hospital FJ Muñiz, GCBA; ² Fundación Mundo Sano; ³ Hospital P. Piñeiro, GCBA; ⁴ Centro de Salud N° 18, GCBA; ⁵ Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de La Plata; ⁶ Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria (SENASA); ⁷ Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil

Resumen Dos pacientes fallecidas con diagnóstico de leptospirosis, en el área metropolitana de Buenos Aires en julio de 2000 y marzo de 2001, presentaron una neumonía grave, hemorrágica, antecedida por una fase prodrómica febril inespecífica, que llevó al distrés respiratorio en ausencia de manifestaciones consideradas típicas en leptospirosis graves: ictericia, nefropatía, trombocitopenia o hemorragias en otros órganos. Los estudios realizados en roedores del domicilio y peridomicilio de una de las pacientes permitieron aislar tres cepas clasificadas como serogrupo *Icterohaemorrhagiae*. El patrón de patogenicidad que mostraron en cobayos inoculados y sacrificados ante los primeros síntomas respiratorios, fue de agresión primaria al pulmón en ausencia de ictericia y daño renal. La histopatología del pulmón de una de las pacientes fue similar a la observada en los cobayos, y se corroboró la ausencia de lesiones hepatorenales en los mismos. El hemopericardio observado en los cobayos podría tener importancia como una posible causa de colapso cardiovascular. Esta forma clínica de leptospirosis no ha sido comunicada previamente en el área metropolitana de Buenos Aires, donde además existen condiciones propicias para la aparición de la enfermedad humana.

Palabras clave: leptospirosis, hemorragia pulmonar, distrés respiratorio

Abstract *Respiratory distress due to pulmonary hemorrhage in leptospirosis.* Two patients who lived in Buenos Aires suburbs died from leptospirosis in July 2000 and March 2001. They developed a nonspecific febrile illness followed by hemorrhagic pneumonia and respiratory distress in absence of typical manifestations such as jaundice, nephropathy, thrombocytopenia or hemorrhages in other organs. In the house and surroundings of one patient rodents were captured and three strains of leptospira, serogroup *Icterohaemorrhagiae* were isolated. Laboratory guinea pigs were inoculated and they were sacrificed as soon as respiratory symptoms appeared. Necropsy showed primary lung injury, which was similar to the histopathological lesions found in one of the patients. Neither jaundice, nor renal damage was found. Pericardic hemorrhages were considered as a possible cause of cardiopulmonary collapse. This clinical form has not been reported previously in this region, where conditions are indeed suitable for the human illness to appear.

Key words: leptospirosis, pulmonary hemorrhage, respiratory distress

Los síntomas y signos clínicos de leptospirosis en el área metropolitana de Buenos Aires (ciudad de Buenos Aires y conurbano bonaerense) han sido clásicamente reconocidos como: fiebre inespecífica símil influenza o bien el denominado síndrome de Weil con ictericia, nefropatía, meningitis aséptica, neumonía atípica, hemorragias cutáneas y mucosas, con frecuencias y combinación variables, y baja letalidad, inferior al 1%^{1,2}. Con menor ocurrencia se observan cuadros con falla renal

grave por necrosis tubular, hemorragias cutáneas y viscerales, siempre con ictericia. Las manifestaciones respiratorias corresponden habitualmente a infiltrados pulmonares uni o bilaterales³ con escasa repercusión en la función respiratoria⁴. En otras regiones de la Argentina se han comunicado neumonías de carácter grave^{5,6}. En el área metropolitana se diagnostican entre 40 y 100 casos anuales⁷. En algunos años se han verificado brotes epidémicos^{7,8,9} caracterizados por formas clínicas benignas. Se consideran a roedores y perros como las especies más importantes en el mantenimiento de esta zoonosis en la región. Los roedores de mayor distribución, y predominancia son *Rattus norvegicus* (78%) y *Rattus rattus* (22%)¹⁰ con tasas de infección de 16 a 45%, medidas por cultivo renal^{7,11}. La estimación de abun-

Recibido: 4-X-2001

Aceptado: 23-I-2002

Dirección postal: Dr. Alfredo Seijo, Uspallata 2272, 1282 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4304-2386 e-mail: ceijo@intramed.net.ar

dancia de roedores en algunas áreas de Buenos Aires fue establecida por el índice de Hayne en 0.414 a 0.465¹⁰. Estas áreas se corresponden además con los núcleos urbanos con mayores índices de pobreza. El índice de Hayne (1949) es un valor numérico (roedores/m²); en áreas urbanas no representa el número real de individuos. Debe tomarse como un valor relativo de abundancia.

Las tasas de seroprevalencia en perros, en Buenos Aires, pueden llegar a 60%^{12, 13}. Se jerarquiza como variable de riesgo para la infección canina la presencia de zanjas y hábitos callejeros¹³.

Como factores ambientales de riesgo pueden señalarse las condiciones de urbanización, y las inundaciones. La urbanización de la región es heterogénea: aun dentro de los límites de la ciudad de Buenos Aires existen asentamientos humanos en zonas con viviendas precarias e inundables. En el denominado conurbano bonaerense la población en situación de riesgo es mayor por las condiciones ya señaladas y la existencia de dos cuencas hídricas que en los meses de mayores lluvias, verano y comienzos de otoño, producen inundaciones¹⁴. Las fuentes de infección más importantes para el área son las actividades recreativas (31.4%), actividades laborales poco calificadas (26.1%) y las inundaciones (16.1%)¹⁵.

Se analizan los hallazgos y estudios realizados como consecuencia de dos pacientes que padecieron leptospirosis con distrés respiratorio por hemorragia pulmonar.

Materiales y métodos

El diagnóstico de leptospirosis en los pacientes incluyó estudios serológicos: técnica de aglutinación microscópica (MAT)¹ con 10 serovares: *castellonis*, *canicola*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *pyrogenes*, *tarassovi*, *wolffi*, aglutinación macroscópica con antígeno termorresistente (TR)¹⁷ y ELISA IgM¹⁸, y cultivos: hemocultivos y urocultivos en medio albúmina bovina - Tween 80 de Ellinghausen, McCullough, Johnson, Harris (EMJH)^{1, 16, 19}. Se realizaron cultivos de rutina para bacteriología general. Se obtuvieron muestras por lavado broncoalveolar (BAL) para examen directo y cultivos, incluyendo micológico y bacilo de Koch. La serología por ELISA de captura de IgM para hantavirus (serotipo Andes), fue realizada en el Instituto Malbrán del Ministerio de Salud de la Nación.

En una de las pacientes se realizó estudio histopatológico de pulmón por punción transtorácica.

Se capturaron roedores del peridomicilio de una de las enfermas utilizando trampas tipo jaula, con posterior necropsia y cultivo de macerado renal en medio EMJH semisólido. La patogenicidad de las leptospirosis aisladas se comprobó por inoculación por vía peritoneal (inóculo: 0.5 ml conteniendo 10⁵ bacterias/ml) a cobayos de 180 g de peso, prueba de 8 azaguanina^{16, 19} y a reacción en cadena de la polimerasa utilizando doble juego de primers (G1/G2 y B64-I/B64-II)²⁰. La tipificación de serogrupo fue realizada con sueros hiperinmunes de conejo²⁰. Riñones, hígado, pulmones, corazón y cerebro de los cobayos necropsiados fueron seccionados, triturados e in-

culados en EMJH líquido. Al cabo de 2 horas 0.25 ml del sobrenadante fueron sembrados en 10 ml de EMJH semisólido a partir del cual se subcultivaron dos diluciones seriadas. La observación de los cultivos se realizó en microscopía de fondo oscuro con 160 X.

Posteriormente cada cepa fue inoculada a 6 cobayos con igual metodología. En tres se realizó necropsia post-mortem y los otros tres fueron sacrificados cuando presentaban dificultad respiratoria. Fueron seccionados riñones, pulmones, cerebro e hígado para cultivo e histopatología. Se colorearon preparados con hematoxilina y eosina e impregnación argéntica según técnica de Warthin-Starry.

Resultados

1) Las dos pacientes de sexo femenino, 28 y 34 años de edad, vivían en asentamientos humanos precarios, con abundante presencia de roedores en el domicilio y peridomicilio. Una paciente enfermó en julio de 2000 y la otra en marzo de 2001. Luego de una fase prodrómica inespecífica de 7 y 10 días de duración caracterizada por hipertermia, cefalea, mialgias, tos seca, taquipnea y en una de ellas dolor abdominal con vómitos y diarrea, desarrollaron neumonía bilateral grave (Figs. 1 y 2), seguida de distress respiratorio. En ambos casos se aspiraron abundantes secreciones hemorrágicas. No presentaron ictericia ni insuficiencia renal. El aumento de la urea y la creatinina observado en una de las pacientes fue mínimo y transitorio, atribuible a hipovolemia por deshidratación. No se constataron hemorragias en otros parénquimas. Los electrocardiogramas de ingreso fueron normales.

El tratamiento empírico utilizado fue ceftriaxona 4 g/día más claritromicina 1 g/d en un caso y ciprofloxacina 800 mg/d en el otro. Ambas pacientes recibieron asistencia respiratoria mecánica (ARM), con buena adaptación al respirador, estabilidad hemodinámica y gasométrica en las primeras 48 horas. La fibrobroncoscopia, demostró ausencia de lesiones endoluminales y abun-



Fig. 1.- Rx de ingreso, paciente de 28 años con infiltrados alvéolo-intersticiales bilaterales debidos a hemorragia pulmonar por leptospirosis.

dantes secreciones hemáticas. Entre las 48 y 72 horas se produjo deterioro progresivo con inestabilidad circulatoria, hipoxia, acidosis metabólica, hipotensión seguida de asistolia que en ambos casos fue refractaria a inotrópicos y a las medidas de reanimación. El óbito se produjo el día 10 y el día 11 de iniciado el cuadro febril. Los resultados de laboratorio se consignan en la Tabla 1.

El diagnóstico de leptospirosis se realizó por serología. Fueron positivos MAT, TR e IgM ELISA. Los hemocultivos, urocultivos, cultivos del BAL y la serología para hantavirus fueron negativos en ambas pacientes.

La histopatología de una de las pacientes reveló severa hemorragia pulmonar intraalveolar, con escasos linfocitos intersticiales y en algunos tabiques mínimo

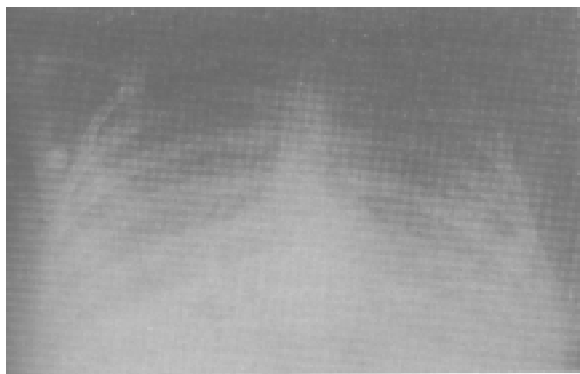


Fig. 2.— Rx con imágenes similares correspondiente a la paciente de 34 años.

TABLA 1.— Resultados de laboratorio al ingreso a la unidad de cuidados intensivos de dos pacientes con hemorragia pulmonar por leptospirosis

	Enferma 1	Enferma 2
Leucocitos/ml	20300	18200
Fórmula leucocitaria (%)	0/90/0/8/2	2/96/0/2/0
Hematocrito (%)	27.2	21
Plaquetas/ml	418 000	320 000
Bilirrubina total/ conjugada (mg%)	1.7/0.8	1.2/0.6
ASAT/ALAT (UI/l)	27/23	34/28
KPTT (segundos)	40	32
Uremia (mg%)	52	71
Creatininemia (g/l)	0.6	1.5
Natremia (mEq/l)	137	137
Kalemia (mEq/l)	3.9	3
pO ₂ (mm Hg)	56.8	55
pCO ₂ (mm Hg)	20.4	35
pH	7.48	7.32
CO ₃ H ⁻ (mmol/l)	22.6	19

engrosamiento parieto-alveolar (Fig. 3). La coloración con técnica de Warthin-Starry fue negativa para leptospirosis.

2) Se capturaron 24 ejemplares de *Rattus norvegicus*: 16 hembras, 8 machos con pesos entre 140 y 400 gramos. En tres (12.5%) se aislaron leptospirosis clasificadas como *Leptospira interrogans* por las pruebas de 8 azaguanina, PCR y patogenicidad en cobayo. Fueron clasificadas dentro del serogrupo Icterohaemorrhagiae.

3) Patogenicidad en animales de laboratorio: Los cobayos murieron entre los 8 y 10 días de la inoculación con lesiones hemorrágicas diseminadas. La ictericia era visible en piel y al abrir los planos superficiales se observó ictericia y hemorragias tegumentarias. Las vísceras abdominales presentaron focos hemorrágicos. En los pulmones se observaron hemorragias subpleurales e intraparenquimatosas. Se comprobó hemopericardio. Fueron recuperadas leptospirosis de riñón e hígado.

4) Inoculación al grupo de 6 cobayos: 3 murieron entre el día 9 y 12 de inoculación. Presentaron ictericia en piel y tegumento, hemorragias generalizadas tegumentarias y viscerales, incluyendo hemorragia pulmonar bilateral. Se recuperaron leptospirosis de riñón e hígado, y fueron negativos los cultivos de cerebro y pulmón. En la histopatología se observó:

a) Pulmones: Intensa hemorragia intraalveolar con discreto aumento de la celularidad intersticial por hiperplasia e infiltrado leve de linfocitos mononucleados (Fig. 4).

b) Hígado: Leve disociación trabecular, sin evidencias de necrosis hepatocelular ni signos de colostasis, discreto infiltrado portal de linfocitos mononucleados con conservación de la placa limitante.

c) Riñones: No se observaron lesiones glomerulares, tubulares ni infiltrado intersticial. Algunos túbulos proximales presentaban cilindros de aspecto denso pro-

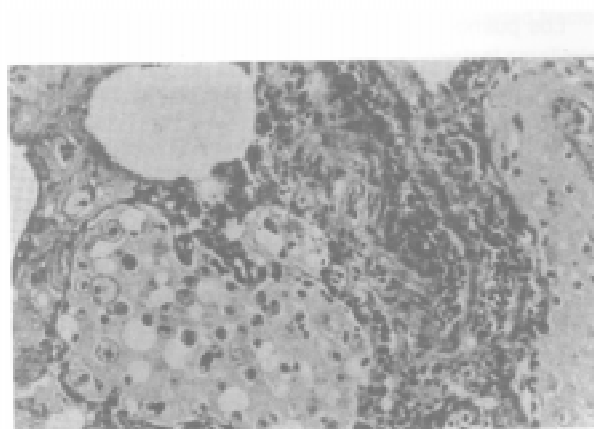


Fig. 3.— Se observa área de tejido pulmonar con alvéolos engrosados por vasocongestión con edema y hemorragia intraalveolar, con escasos infiltrados linfocitarios intersticiales. (Punción transtorácica realizada a una de las pacientes. Coloración hematoxilina y eosina, aumento x 250).

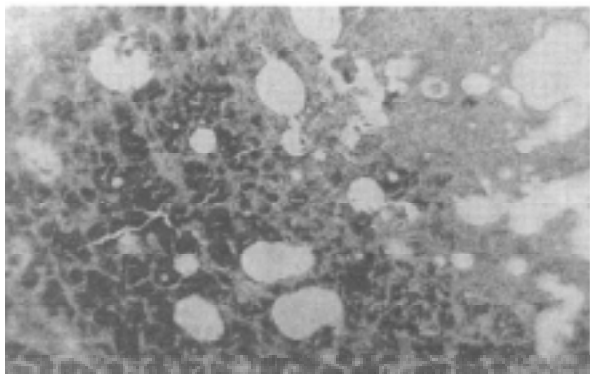


Fig. 4.- Fragmento de tejido pulmonar correspondiente a un cobayo inoculado con leptospiras 10 días previos a la muerte. Se observan extensas áreas de hemorragia intralveolar con mínimo infiltrado intersticial mononucleado (hematoxilina y eosina, aumento x 60).

bablemente de origen proteico con aplanamiento del epitelio.

d) Cerebro: Pequeños focos hemorrágicos e infiltrados mononucleares aislados.

e) Corazón: Pequeños focos hemorrágicos intersticiales con escaso infiltrado de linfocitos mononucleados. No se observan signos de miocarditis, pericarditis o endocarditis.

Los otros tres cobayos fueron sacrificados entre los días 7 y 10 de la inoculación, cuando se observó respiración dificultosa de tipo abdominal y reflejos disminuidos frente a distintos estímulos. A diferencia de los anteriores no presentaron ictericia ni lesiones hemorrágicas tegumentarias o de vísceras abdominales. En cambio era llamativo el aspecto de los pulmones con focos hemorrágicos ampliamente distribuidos. Se aislaron leptospiras de riñón, pulmón y cerebro.

Los pulmones, los riñones y el miocardio mostraron similares lesiones histopatológicas a las descritas en el grupo anterior. En hígado y cerebro no se observaron alteraciones.

Discusión

La afección respiratoria que aparece en el curso de la leptospirosis puede clasificarse en tres modalidades clínicas básicas:

1) Formas leves a moderadas: Se presentan entre el 20% y el 70% de los pacientes en distintas series^{4, 21, 22, 23, 24}. Las imágenes radiológicas pueden ser uni o bilaterales del tipo neumonía atípica con tos poco productiva y hemoptisis frecuente de carácter leve. En general se asocian con ictericia y función renal normal o escasamente alterada.

2) Formas graves, caracterizadas por hemoptisis y epistaxis importantes, conformando cuadros clínicos caracterizados por ictericia, nefropatía, en general severa y hemorragias (síndrome de Weil grave). En estos casos el óbito se atribuye a la falla renal, miocarditis grave o hemorragias masivas gastrointestinales con colapso cardiovascular^{25, 26, 27}.

3) En las últimas dos décadas se conocieron en distintas regiones del mundo, y especialmente en el sudeste asiático, casos de SDRA causados por hemorragia pulmonar en ausencia de ictericia y daño renal^{21, 22, 28, 29, 30, 31}. En Brasil³⁰ y Nicaragua^{31, 32} esta forma clínica caracterizó el brote epidémico.

Los dos casos relatados en este trabajo se incluyen dentro del último grupo. La histopatología de una de las pacientes, coincide con otras observaciones^{21, 31, 33, 34}. La hemorragia intraalveolar en ausencia de infiltrado inflamatorio, formación de membrana hialina o signos de alveolitis podría indicar un mecanismo modulado por sustancias vasoactivas inducidas por una toxina glicoproteica de la leptospira^{35, 36}, con alteraciones de las células endoteliales y disrupción de las uniones intercelulares visibles en microscopia electrónica^{35, 37}. Asimismo las cepas aisladas de los roedores mostraron un patrón patogénico de agresión primaria a los pulmones cuando aún no presentaban ictericia ni hemorragias (cobayos sacrificados), sólo visibles en los cobayos muertos por evolución natural. La histopatología del pulmón de los dos grupos de cobayos fue similar a la descrita en la paciente y coincide con otros autores^{21, 22, 34}. Es interesante señalar, que en ninguno de los dos grupos de cobayos se observó nefritis intersticial o daño tubular. La agresión renal ha sido señalada como la causa más importante de evolución grave y óbito tanto en humanos^{35, 38, 39, 40}, como experimentalmente^{16, 41, 42}. En una revisión reciente sobre 1016 pacientes en Brasil⁴³ se informó que la letalidad se asoció en un 76.2% a falla renal mientras que en un 3.5% a hemorragia pulmonar. En la epidemia de Nicaragua de 1995 fue la causa de óbito de 40 pacientes³¹. La insuficiencia renal aguda y la hemorragia pulmonar deben ser consideradas las causas más importantes de letalidad en la leptospirosis.

Si experimentalmente se recuperaron leptospiras de los riñones de los cobayos, puede especularse que los mismos actuarían sólo como órgano de portación, o bien que la rapidez de los eventos pulmonares, no daría lugar a la instauración de la nefropatía. En este sentido se observaron evidencias de alteraciones discretas e inespecíficas.

La ictericia ha sido utilizada para clasificar en dos grupos clínicos a la leptospirosis: no ictericia e ictericia (Weil) asociando esta última modalidad a las formas graves^{23, 26, 38}. En algunas series comporta entre el 50 y 93% de los casos^{38, 43, 44}. Sin embargo no estuvo presente en las

dos pacientes y la instalación de la hemorragia pulmonar fue previa a la ictericia en los cobayos. Ha sido señalado que existiría una mayor proporción de hemorragia pulmonar en pacientes anictéricos que en aquellos con ictericia⁴⁵, pero esta asociación no parece constante²¹, debido probablemente a que se comparan pacientes con distintas manifestaciones respiratorias.

La trombocitopenia es el tercer elemento discordante entre las formas graves clásicas y la hemorragia pulmonar. Asociada claramente a la falla renal y a la letalidad^{46, 47}, es inconstante en pacientes con SDRA^{6, 21, 22, 43}. En estas dos pacientes el número de plaquetas fue normal.

El apoyo respiratorio y las medidas de soporte que se implementaron en las unidades de cuidados intensivos se realizaron en las primeras horas del comienzo de la disnea, pese a lo cual se produjo el deceso. La mala respuesta a las drogas inotrópicas y la hipotensión irreversible indicaron en ambas pacientes un severo colapso cardiocirculatorio, señalado por varios autores en pacientes con evidencias electrocardiográficas o histológicas de miocarditis^{34, 35, 38, 48, 49}. Arteritis coronaria aguda⁴⁹, endocarditis³³ y pericarditis³⁵ han sido también reconocidas en leptospirosis graves. Sin embargo, en ambas pacientes no existieron evidencias electrocardiográficas de miocarditis y el compromiso hemodinámico fue de instalación brusca previo al óbito.

En la histopatología de los cobayos no se hallaron signos de miocarditis, endocarditis o pericarditis, pero es de señalar que el hemopericardio observado podría suponer una consecuencia muy grave como es la asistolia. Fue llamativa además la ausencia de signos inflamatorios en presencia de hemopericardio, algo similar a lo observado en la hemorragia alveolar.

La baja sensibilidad de las técnicas de impregnación argéntica para revelar leptospirosis, tanto en preparados de autopsias de pulmón y riñón humano como de distintos órganos de animales inoculados, contrasta con el aislamiento del microorganismo de esos mismos órganos, hecho señalado por otros autores^{33, 34}, y que comprobamos en esta experiencia. Sin embargo la marcación histoquímica y la impregnación argéntica fueron muy útiles para el diagnóstico en el brote de Nicaragua³¹. Es posible que el número de leptospirosis presentes en los tejidos condicione la distinta sensibilidad de los métodos. La negatividad de los hemocultivos y urocultivos realizados a las pacientes puede atribuirse a la interferencia producida por la administración de antibióticos.

El SDRA debido a hemorragia pulmonar por leptospirosis, no fue comunicado hasta el momento en el área metropolitana de Buenos Aires. Las consideraciones clínicas realizadas, la existencia de zonas de alto riesgo por los factores ambientales y sociales señalados, la prevalencia de infección en los reservorios y las

cepas aisladas, deben alertar al sistema de salud en general y a los médicos de atención primaria y cuidados intensivos ante la posibilidad de la ocurrencia de casos y/o aparición de un brote epidémico de una forma clínica no habitual de leptospirosis.

Agradecimientos: A la Fundación Mundo Sano por el aporte realizado para la realización del trabajo, a los doctores Jorge Castro y Juan José Molina del Instituto Luis Pasteur de la Ciudad de Buenos Aires, por su colaboración en la captura de roedores.

Bibliografía

1. Comisión Científica sobre Leptospirosis (CCL). Manual de leptospirosis. 1era ed. Bs As: CCL, 1994; 25-32.
2. Seijo A, Palmieri O. Leptospirosis. En: Palmieri O editor. Enfermedades infecciosas. 1era ed. Chile: McGraw-Hill/ Interamericana, 2001; 239-47.
3. Seijo A, Curcio B, Cernigoi B, Deodato B. Radiological findings in leptospiral pneumonia. Abstract Book of the 9th International Congress on Infectious Diseases, Buenos Aires, Argentina, April 2000; 221.
4. Seijo A, Cernigoi B. Neumonía por leptospirosis. *La Prensa Médica Argentina* 1994; 81: 834-9.
5. Cortés J, Caccace ML, Seijo A, Parissi MN, Ayala LT. Distrés respiratorio del adulto, en Orán, Salta. 1er Congreso Interamericano de Infectología, Córdoba, Argentina, mayo 1994. Res. PP155.
6. Teglia O, Battagliotti C, Villavicencio R, Cunha B. Leptospiral pneumonia. *Chest* 1995; 108: 874-5.
7. Comisión Científica sobre Leptospirosis (CCL). Informe sobre leptospirosis en la República Argentina, Bs. As: CCL 1999; 19-27.
8. Cacchione R, Cascelli E, Saraví M, Martínez E. Brote de leptospirosis en niños de Longchamps, Pcia Bs As, Argentina. *Rev Asoc Arg de Microbiol* 1988; 9: 126-8.
9. Seijo A, Bonifacio B, Cernigoi B, et al.: Brote de leptospirosis en las Fuerzas Armadas Argentinas. *Infec Microb Clin* 1993; 5: 2-6.
10. Coto H: Estimación de la densidad poblacional de ratas sinantrópicas en la Ciudad de Buenos Aires (República Argentina). Tesis de la Maestría en control de plagas y su impacto ambiental. CIPEIN, CITEFA, Universidad Nacional de San Martín, 2001.
11. Seijo A. Leptospirosis. Boletín de Temas de Salud de la Asociación de Médicos Municipales de la Ciudad de Bs As 2001; 67: 1-8.
12. Cacchione R, Cascelli E, Saraví M, Martínez E, Rosemberg F. Leptospirosis en perros de la Ciudad de Bs As y del Gran Bs As. *Rev Med Vet* 1975; 56: 295-308.
13. Rubel D, Seijo A, Cernigoi B, Viale A, Wisnivesky Colli C. *Leptospira interrogans* en una población canina del Gran Bs As: variables asociadas con la seropositividad. *Rev Panam Salud Pública* 1997, 2: 102-5.
14. Auditoría General de la Nación. Documento Técnico N° 12: Informe y estudios sobre la problemática del agua, 1998; 57.
15. Seijo A, Deodato B, Cernigoi C, Curcio D. Source of infection for leptospirosis in Argentina. Abstract Book of the 9th International Congress on Infectious Diseases, Buenos Aires, Argentina, April 2000; 235.
16. Faine S. *Leptospira and leptospirosis*. Boca Raton, Florida: CRC, 1994.
17. Seijo A, Mazzonelli J. Evaluación del antígeno termorresistente en el diagnóstico de la leptospirosis humana. *Acta*

- Bioq Clin Latinoam* 1993; 27: 487-91.
18. Terpstra W, Lighthark G, Schonke G. Serodiagnosis of human leptospirosis by enzyme-linked-immunosorbent-assay: ELISA. *Zbt Bakt High Abt I* 1980; 247: 400-5.
 19. Centro Panamericano de Zoonosis (OPS/OMS). Manual de métodos para el diagnóstico de la leptospirosis. Nota técnica N° 30, Bs As, 1985.
 20. Parma A, Seijo A, Lucchesi P, Dodato B, Sanz M. Differentiation of pathogenic and non-pathogenic leptospires by means of the polymerase chain reaction. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1997; 39: 203-7.
 21. O'Neil KM, Rickman LS, Lazarus AA. Pulmonary manifestations of leptospirosis. *RID* 1991; 13: 705-9.
 22. Im JG, Yeon KM, Han MCh et al. Leptospirosis of the lung: radiographic findings in 58 patients. *AJR* 1989; 152: 955-9.
 23. Berman SJ, Tsai C-C, Holmes K, Fresh JW, Watten RH. Sporadic anicteric leptospirosis in South Vietnam. A study in 150 patients. *Ann Intern Med* 1973; 79: 167-73.
 24. Nery LE, de Paula AB, Nakatani J, Dos Santos ML, Rato OR. Clinical, radiological and functional pulmonary manifestations in patients with leptospirosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1977; 19: 366-73.
 25. Ragnaud JM, Dupon M, Echinard E, Tebouille D, Wone C. Pulmonary manifestations in severe ictero-hemorrhagic leptospirosis. *An Med Interne (Paris)* 1987; 138: 282-6.
 26. Wesley Farr R. Leptospirosis. *CID* 1995; 21: 1-6.
 27. Lecour H, Miranda M, Magro C, Rocha A, Gonçalves V. Human leptospirosis-review of 50 cases. *Infection* 1989; 17: 8-12.
 28. Park SK, Lee SH, Rhee YK, et al.: Leptospirosis in Chonbuk Province of Korea in 1987: a study of 93 patients. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 41: 3345-51.
 29. Zaltzman M, Kallenbach JM, Gross GD, Lewis M, Zwi S, Gear JH. Adult respiratory distress syndrome in leptospira canicola infection. *Br Med J (Clin Res)* 1981; 283: 519-20.
 30. Rios-Gonçalves AJ, Manhes de Carvalho JE, Guedes Silva JB, Rozembaum R, Vieira ARM. Hemoptise e síndrome de angustia respiratoria do adulto como causas de morte na leptospirose: mudanças de padroes clinicos e anatomopatologicos. *Rev Soc Bras Med Trop* 1992; 25: 261-70.
 31. Zaki RS, Shieh W-J and Epidemic Working Group at Ministry of Health in Nicaragua, Pan American Health Organisation, US Department of Agriculture and Centers for Disease Control and Prevention. Leptospirosis associated with outbreak of acute febrile illness and pulmonary haemorrhage, Nicaragua, 1995. *Lancet* 1996; vol 347: 535-6.
 32. Trevejo RT, Rigau-Pérez JG, Ashford DA, et al. Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage, Nicaragua, 1995. *J Infect Dis* 1998; 178: 1457-63.
 33. Alves VAF, Siqueira SA, Pestana CB. Patologia da leptospirose. Análise crítica dos aspectos morfológicos e imuno-histoquímicos relevantes para a compreensão da patogenia. *Rev Inst Adolfo Lutz* 1989; 49: 75-80.
 34. Arean VM. The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). *Am J Pathol* 1962; 40: 393-423.
 35. Younes-Ibrahim M, da Rosa Santos O. Fisiopatologia da leptospirose. Hipótese para a insuficiência renal aguda peculiar. *An Acad Nac Med* 1995; 155: 26-35.
 36. Vinh T, Adler B, Faine S. Glycolipoprotein cytotoxin from *Leptospira interrogans* serovar *copenhageni*. *J Gen Microbiol* 1986; 132: 111-23.
 37. De Brito T, Bohm GM, Yasuda PH. Vascular damage in acute experimental leptospirosis of the guinea-pig. *J Pathol* 1979; 128: 177-82.
 38. Brouqui P, Baranton G, Raoult D. Leptospiroses - Editions Techniques - Encycl Méd Chir (Paris - France). Maladies infectieuses, 8039 Q¹⁰, 9-1990, 10 p.
 39. Sitprija V. Renal involvement in human leptospirosis. *Brit Med J* 1968; 3: 472-3.
 40. Sitprija V, Evans H. The kidney in human leptospirosis. *Am J Med* 1970; 99: 780.
 41. De Arriaga AJD, Rocha AS, Yasuda PH, De Brito T. Morpho-functional patterns of kidney injury in the experimental leptospirosis of the guinea-pig (*Leptospira icterohae-morrhagiae*). *J Pathol* 1982; 138: 145-61.
 42. Yasuda PH, Shimizu SH, Yamashiro EH, De Brito T. Experimental leptospirosis (*Leptospira interrogans* serovar *icterohae-morrhagiae*) of the guinea-pig: leptospiral antigen, gamma globulin and complement c3 detection in the kidney. *Ex Pathol* 1986; 29: 35-43.
 43. Costa E, Costa YA, Lopes AA, Sacramento E, Bina JC. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 34: 261-7.
 44. Seijo AC, Fainboim H, Diaz Lestrem M. La agresión hepática en lea leptospirosis. *Hepatología* 1991; 1: 21-30.
 45. Lee REJ, Terry SI, Walker TM, Urquhart AE. The chest radiograph in leptospirosis in Jamaica. *The British Journal of Radiology* 1981; 54: 939-43.
 46. Edwards CN, Nicholson JD, Everard COR. Thrombocytopenia in leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 1982; 31: 827-9.
 47. Raoult D, Jeandel P, Mailloux M, Rougier I. Thrombocytopenia and renal failure in leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 1983; 32: 1464.
 48. Stavoyer JM, Marquet D, Bauffle GH, Becque O, Michel-Briand Y, Pageaut G. Leptospirose grave avec localisation cardiaque. *La Nouvelle Presse Médical*. 1980; 9: 2579.
 49. De Brito T, Morais CF, Yasuda PH, et al. Cardiovascular involvement in human and experimental leptospirosis: pathologic findings and immunohistochemical detection of leptospiral antigen. *Ann Trop Med Parasit* 1987; 81: 207-14.

- - - -

To be seventy years young is sometimes far more cheerful and hopeful than to be forty years old.

Ser un joven de setenta años es a menudo más alegre y venturoso que ser un viejo de cuarenta.

Oliver Wendell Holmes (18909-1894)