

COMPROMETIMENTO DO SISTEMA NERVOSO NA LEPTOSPIROSE

III. REAÇÕES IMUNOLÓGICAS NO SANGUE E LÍQUIDO CEFALORRAQUEANO

H.M.C. BEZERRA *, L. ATAÍDE Jr.*, S.L. HINRICHSEN **, F.M. TRAVASSOS ***,
P.T.C. TRAVASSOS ***, M.J.B. SILVA ****, M.B. SILVA *****

RESUMO — Entre 1-janeiro e 30-setembro-1990 foram estudados 77 pacientes com diagnóstico de leptospirose: 64 (83,11%) eram do sexo masculino e a média de idade, 28 anos. Os sorovars icterohemorrhagiae e canicola foram os mais frequentes. O exame do LCR, realizado em 67 (87,0%) dos pacientes, foi anormal em 64 (95,52%). A reação de microaglutinação para leptospirose com antígenos vivos foi realizada no LCR, bem como reações imunológicas para sífilis, cisticercose e esquistossomose para diagnóstico diferencial. Bastante significativos foram os resultados da reação de microaglutinação para leptospirose no LCR, pela semelhança das respostas àquelas encontradas no sangue quanto à identificação do sorovar.

PALAVRAS-CHAVE: leptospirose, sistema nervoso, diagnóstico sorovars, reações imunológicas.

Involvement of the nervous system in leptospirosis: III. Immunological examinations in the blood and in the cerebrospinal fluid.

SUMMARY — From January 1st up to September 30th 1990, 77 patients with leptospirosis were admitted at the Infectious and Parasitic Diseases Service of the Hospital das Clínicas of the Universidade Federal de Pernambuco. The majority (64) were male patients, and average age was 28 years old. Sorovars icterohaemorrhagiae and canicola were the most frequent. CSF examination was performed in 67 (87,0%) patients and it was abnormal in 64 (95,52%). Microagglutination test for leptospirosis with live antigens was performed in CSF, as well as immunological tests for syphilis, cysticercosis and schistosomiasis for differential diagnosis. Concerning the sorovar identification, results of microagglutination test for leptospirosis in CSF were significant considering the similitude of responses when compared to those found for blood samples.

KEY WORDS: leptospirosis, nervous system diagnosis, microagglutination test.

A leptospirose foi descrita pela primeira vez em 1880 no Cairo por Larrey e, posteriormente, em 1883 por Landouzy^{5-7,13} e por Mathieu (1886) na França^{1,6,7}. Apenas em 1915 foi isolado o agente etiológico por Inada e Ido, no Japão^{1,4,7,8,12}. É causada por Leptospiras, bactérias patogênicas pertencentes à ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae, gênero Leptospira ((Noguchi, 1917)^{4,7}. Reconhecem-se duas espécies: *L. interrogans* e *L. biflexa*. Classicamente é doença bifásica com uma primeira fase septicêmica e uma fase imune^{1,2,4,5,7}. A fase imune responde à resposta imune à infecção, quer do ponto de vista clínico quer laboratorial. Há nesta fase extrema variabilidade de sinais e sintomas, começando a

Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (SDIP/UFPE) e Laboratório Central da Secretaria da Saúde do Estado de Pernambuco (LACEN/SSPE): * Neurologista; ** Infectologista; *** Líquorologista; **** Bacteriologista; ***** Bioquímica. Aceite: 2-junho-1993.

Dra. Helena Maria Cortez Bezerra — Av. Manoel Borba 738 apto. 603 — 50070-000 Recife PE — Brasil.

surgir os anticorpos na corrente sanguínea em torno do sétimo dia do início das manifestações clínicas. Há desaparecimento das leptospiras no sangue circulante e surgimento da leptospirúria. A presença de anticorpos nesta fase é importante para o estabelecimento do diagnóstico imunológico. A reação de microaglutinação com antígenos vivos é prova sorotipo específica, considerada reação imunológica de escolha, sendo estabelecida como teste padrão pelo OMS desde 1967. É prova sensível, demonstrando anticorpos tipo IgG e IgM^{1,3}. A reação de microaglutinação no líquido cefalorraqueano (LCR) tem sido pouco citada na literatura. Noleto e col.⁷ consideram que os anticorpos encontrados neste material são captados em níveis não significativos. Bittencourt e col., titulando estes anticorpos de forma sistemática em seus pacientes, estabeleceram proporção de 1:30000 e 1:200 entre o sangue e o LCR^{1,3}.

Relatamos nossa experiência no diagnóstico imunológico dos casos de leptospirose estudados¹⁻³.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Procedeu-se a coleta do sangue o qual foi centrifugado, mantido a -18°C e enviado ao LACEN/SSPE, aonde foram realizados os testes imunológicos de aglutinação microscópica, pelo micrométodo utilizando antígenos vivos^{4,7,9,10,11}.

Na determinação do sorovar considerou-se aquele antígeno que foi aglutinado em título mais elevado. Os antígenos utilizados encontram-se discriminados na Tabela 1.

A reação de aglutinação microscópica para leptospirose também foi realizada no LCR, assim como reações imunológicas para sífilis, cisticercose e esquistossomose para estabelecimento do diagnóstico diferencial.

RESULTADOS

O presente estudo constou de 77 pacientes, com diagnóstico de leptospirose comprovado por reações imunológicas, em: 39 (50,65%) no sangue e LCR; 34 (44,15%) apenas no sangue; 4 (5,20%) apenas no LCR. A reação de aglutinação microscópica para leptospirose, no soro, foi realizada com: apenas uma amostra em 35 (50,22%) dos pacientes; duas amostras em 31 (44,53%); três amostras em 3 (4,35%).

Tabela 1. Antígenos utilizados nos testes de soroaglutinação microscópica.

| Sorogrupo | Sorovar | Cepa de referência |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| ICTEROHAEMORRHAGIAE | icterohaemorrhagiae | RGa |
| — | copenhagen | M 20 |
| JAVANICA | javanica | Veldrat Bataviae 46 |
| CANICOLA | canicola | Hound Utrecht IV |
| BALLUM | castellonis | Castellon 3 |
| PYROGENES | pyrogenes | Salinem |
| CYNOPTERI | cynoptari | 3522 C |
| AUTUMNALIS | autumnalis | Akiyami A |
| SHERMANI | shermani | LT 821 |
| DJASIMAN | sentot | Sentot |
| AUSTRALIS | australis | Ballico |
| POMONA | pomona | Pomona |
| GRIPPOTYPHOSA | grippotyphosa | Moskva |
| HEBDOMADIS | boricana | Pasteur |
| SEJROE | wolffi | Horto |
| ANDAMANA | andamana | Correia |
| BATAVIAE | bataviae | Van Tienen |
| TARASSOVI | tarassovi | Mitis Johnson |
| PANAMA | panama | CZ 214 K |
| CALLEDONI | calledoni | Calledoni |
| — | patoc | Patoc |

Destes 77 pacientes, 64 (83,11%) eram do sexo masculino e 13 (16,89%) do sexo feminino. A faixa etária variou de 15 a 67 anos, com mediana de 28 anos.

O tipo de sorovar prevalente foi o icterohaemorrhagiae, presente isoladamente em 51 dos 77 pacientes (66,23%). O sorovar canicola foi o segundo mais frequente, encontrado isoladamente em 4 (5,19%) pacientes (Tabela 2).

As reações imunológicas para leptospirose no LCR foram: positivas em 43 (64,18%); negativas em 21 (31,34%); não realizadas em 3 (4,48%). A distribuição dos títulos máximos obtidos entre o sangue e o LCR dos pacientes encontra-se descrita nas Tabelas 3 e 4. Pudemos comparar os sorovars reagentes entre sangue e LCR em 39 (50,64%) dos pacientes. Em 33 (84,62%) houve positividade da reação imunológica de microaglutinação para leptospirose para os mesmos tipos de sorovars entre o sangue e o LCR. Nestes casos, os títulos encontrados foram sempre maiores no sangue em relação ao LCR. Da mesma maneira, houve coincidência entre sangue e LCR dos sorovars que reagiram em maior ou menor título. Em 6 (15,38%) houve diferença de resultados entre o sangue e o LCR; nestes casos ou as respostas nestes humores eram de diferentes tipos de sorovars ou não eram mantidas as devidas proporções entre os títulos encontrados no sangue e no LCR (Tabela 5). Em 20 pacientes nos quais as reações imunológicas se positivaram apenas no sangue, estas ocorreram mais tardiamente: após a segunda amostra sanguínea ou quando, por alguma razão, a coleta do LCR para reações imunológicas precedeu aquela do sangue.

Os resultados das reações imunológicas para lues, cisticercose e esquistossomose encontram-se na Tabela 6.

Tabela 2. Distribuição dos pacientes estudados de acordo com os sorovars em relação às formas ictericas e não ictericas.

| Sorovar | Ictéricos | Não ictericos | Total | |
|---|-----------|---------------|--------|-------|
| | Número | Número | Número | % |
| • icterohaemorrhagiae | 43 | 8 | 51 | 66,23 |
| • canicola | 3 | 1 | 4 | 5,19 |
| • bataviae | 2 | 1 | 3 | 3,90 |
| • icterohaemorrhagiae + bataviae | 1 | 2 | 3 | 3,90 |
| • grippotyphosa | 1 | 1 | 2 | 2,60 |
| • icterohaemorrhagiae + cynopteri | 2 | z | 2 | 2,60 |
| • icterohaemorrhagiae + canicola | 1 | z | 1 | 1,30 |
| • grippotyphosa + bataviae + andamana | z | 1 | 1 | 1,30 |
| • castellanis | z | 1 | 1 | 1,30 |
| • icterohaemorrhagiae + castellanis | 1 | z | 1 | 1,30 |
| • andamana | 1 | z | 1 | 1,30 |
| • icterohaemorrhagiae + bataviae + andamana + cynopteri | 1 | z | 1 | 1,30 |
| • canicola + autunalis + bataviae | 1 | z | 1 | 1,30 |
| • panama | 1 | z | 1 | 1,30 |
| MACRO | 1 | 3 | 4 | 5,18 |
| Total | 59 | 18 | 77 | 100 |

z, zero.

Tabela 3. Distribuição dos títulos máximos obtidos na reação de microaglutinação para leptospírose no sangue dos pacientes de acordo com o sorovar.

| Sorovar | Título | | | | | | | | | Total |
|---|----------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-------|
| | 1:100 | 1:200 | 1:400 | 1:800 | 1:1600 | 1:3200 | 1:6400 | 1:12800 | | |
| . icterohaemorrhagiae | 2 | 6 | 3 | 10 | 10 | 7 | 7 | 2 | 47 | |
| . canicola | z | z | 1 | 1 | z | 1 | 1 | z | 4 | |
| . bataviae | z | 2 | 1 | z | z | z | z | z | 3 | |
| . icterohaemorrhagiae + bataviae | z | z | z | 2 | z | 1 | z | z | 3 | |
| . icterohaemorrhagiae + cynopteri | z | z | z | z | z | 1 | 1 | z | 2 | |
| . icterohaemorrhagiae + canicola | z | z | z | z | 1 | z | z | z | 1 | |
| . grippotyphosa | 1 | z | z | 1 | z | z | z | z | 2 | |
| . grippotyphosa + bataviae + andamana | z | 1 | z | z | z | z | z | z | 1 | |
| . castellanis | z | z | 1 | z | z | z | z | z | 1 | |
| . andamana | z | z | z | 1 | z | z | z | z | 1 | |
| . icterohaemorrhagiae + bataviae + andamana + cynopteri | 1 | z | z | z | z | z | z | z | 1 | |
| . canicola + autunalis + bataviae | z | 1 | z | z | z | z | z | z | 1 | |
| . panama | z | z | z | 1 | z | z | z | z | 1 | |
| . icterohaemorrhagiae + castellanis | z | z | z | z | z | z | 1 | z | 1 | |
| Total | 4 | 10 | 6 | 16 | 11 | 10 | 10 | 2 | 69 | |

Quatro pacientes tiveram diagnóstico apenas pela macroaglutinação (30, 71, 75, 81). Quatro pacientes tiveram reação positiva apenas no LCR (1, 17, 55, 79). z, zero.

Tabela 4. Distribuição dos títulos máximos obtidos na reação de microaglutinação para leptospírose no LCR dos pacientes de acordo com o sorovar.

| Sorovar | Título | | | | | | | | | Total |
|---|------------|----------|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|-----------|-------|
| | Sem título | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | 1:64 | 1:256 | | |
| . icterohaemorrhagiae | z | z | 2 | 5 | 7 | 7 | 3 | 1 | 25 | |
| . canicola | z | z | z | 1 | z | z | z | z | 1 | |
| . bataviae | z | z | 1 | 2 | 1 | z | z | z | 4 | |
| . icterohaemorrhagiae + bataviae | z | z | 1 | 1 | 1 | z | z | z | 3 | |
| . icterohaemorrhagiae + canicola + cynopteri + autumnalis | z | z | z | z | z | z | 1 | z | 1 | |
| . icterohaemorrhagiae + autumnalis | z | z | z | z | z | z | 1 | z | 1 | |
| . icterohaemorrhagiae + cynopteri + autumnalis | 1 | z | z | z | z | 2 | z | z | 3 | |
| . cynopteri | z | z | z | z | 1 | z | z | z | 1 | |
| . andamana | z | z | z | z | 1 | z | z | z | 1 | |
| . australis | z | 1 | z | z | z | z | z | z | 1 | |
| . icterohaemorrhagiae + canicola + bataviae | z | 1 | z | z | z | z | z | z | 1 | |
| . bataviae + andamana | z | z | 1 | z | z | z | z | z | 1 | |
| Total | 1 | 2 | 5 | 9 | 11 | 9 | 5 | 1 | 43 | |

z, zero.

Tabela 5. Diferenças encontradas na reação de microaglutinação para leptospirose entre o sangue e o LCR em seis pacientes.

| Soroar | Paciente 12 | | Paciente 18 | | Paciente 36 | | Paciente 43 | | Paciente 62 | | Paciente 76 | |
|----------------------|-------------|------|-------------|------|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|-------------|-----|
| | Sangue | LCR | Sangue | LCR | Sangue | LCR | Sangue | LCR | Sangue | LCR | Sangue | LCR |
| .icterohaemorrhagiae | 1:6400 | 1:64 | 1:100 | 1:16 | 1:600 | — | 1:600 | 1:4 | 1:6400 | 1:4 | — | 1:2 |
| .copenhagensis | 1:6400 | 1:32 | 1:100 | 1:8 | 1:3200 | — | 1:3200 | — | 1:6400 | 1:4 | — | — |
| .canicola | 1:3200 | 1:16 | — | — | 1:400 | — | 1:100 | — | 1:800 | — | — | 1:2 |
| .bataviae | — | — | 1:400 | — | — | — | 1:600 | 1:8 | 1:400 | 1:8 | — | 1:2 |
| .castellonis | 1:400 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 1:400 | — |
| .andamana | — | — | 1:200 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| .cynopteri | 1:3200 | — | — | — | 1:400 | — | — | 1:2 | — | — | — | — |
| .autumnalis | 1:3200 | 1:64 | — | — | 1:1200 | — | 1:600 | 1:2 | — | — | — | — |
| .pyrogenes | — | — | 1:200 | — | 1:100 | — | — | — | — | — | — | — |
| .australis | — | — | — | — | — | 1:2 | 1:400 | — | — | — | — | — |

Tabela 6. Resultados de reações imunológicas para lues, cisticercose e esquistossomose realizadas no LCR dos pacientes para diagnóstico diferencial de leptospirose.

| Reação imunológica | Resultados | | Negativos | % | Total | % |
|--------------------|------------|-------|-----------|-------|-------|-----|
| | Positivos | % | | | | |
| Lues | z | — | 58 | 100 | 58 | 100 |
| Esquistossomose | 6 | 10,34 | 52 | 89,66 | 58 | 100 |
| Cisticercose | 2 | 3,50 | 55 | 96,59 | 57 | 100 |
| Leptospirose | 43 | 67,19 | 21 | 32,81 | 64 | 100 |

Reação para esquistossomose. Títulos: 1:1, pacientes 15 e 19; 1:2, pacientes 14, 24, 51, 67.
 Reação para cisticercose, não titulados (títulos fracos): pacientes 27 e 39. z, zero.

COMENTÁRIOS

A predominância do sorovar *icterohaemorrhagiae* é concordante a pesquisas anteriores, realizadas no Recife durante epidemias ou em períodos inter-epidêmicos⁵. Em nosso estudo, o aparecimento das formas neurológicas ocorreu com todos os tipos de sorovars, independentemente do tipo de forma clínica, havendo superioridade para o sorovar *icterohaemorrhagiae*. Heath (1965) observou que a frequência de alterações associadas ao sistema nervoso é aproximadamente igual para todos os sorovars e Edwards (1960) considera que diferentes leptospirosas não produzem distintos padrões de doença¹.

A reação de microaglutinação para leptospirose no LCR é pouco citada na literatura consultada^{4,7,14}. Nós a consideramos importante, pois foi positiva em 64,18% dos casos examinados e, ainda, pela semelhança de resultados entre LCR e sangue na identificação do sorovar. Mudric enfatiza a importância das reações imunológicas para leptospirose em pacientes com meningite linfomonocitária¹. Concordamos com este autor e sugerimos a inclusão das reações imunológicas para leptospirose no LCR e/ou no sangue como rotina no diagnóstico diferencial das meningites linfomonocitárias, sempre que os dados epidemiológicos forem sugestivos dessa enfermidade.

Incluimos em nossa pesquisa 4 pacientes com reação imunológica sérica ao título de 1:100, embora não fosse nossa intenção inicial pelo fato de apresentarem dados epidemiológicos clínicos e exames laboratoriais indicativos do diagnóstico de leptospirose doença. Também 4 pacientes tiveram, pelas mesmas razões, o diagnóstico estabelecido por reação de macroaglutinação. Embora a reação de microaglutinação para leptospirose tenha se mostrado positiva em 73 (77,65%) dos pacientes que procuraram nosso Serviço, há necessidade da associação de outros meios de confirmação diagnóstica. Esta dificuldade é referida por outros autores^{1,5}.

As reações imunológicas para diagnóstico diferencial com lues foram negativas na totalidade dos pacientes. Os títulos de anticorpos encontrados nas reações imunológicas para cisticercose e esquistossomose foram muito baixos ou não titulados, sugerindo apenas passagem de anticorpos do sangue para o LCR.

Não consideramos a leptospirose doença benigna. De nossos 77 casos, ela determinou o óbito em um (1,3%) dos pacientes, porém tivemos 4 outros que faleceram e cujo diagnóstico de leptospirose não pudemos comprovar. Na hipótese de que os 17 pacientes sem comprovação diagnóstica tivessem, de fato, leptospirose, teríamos 94 pacientes com 5 (5,3%) óbitos.

Com relação ao diagnóstico, acreditamos que a doença possa estar ocorrendo ainda de forma subestimada em nosso meio.

REFERÊNCIAS

1. Bezerra HMC. Comprometimento neurológico na leptospirose. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 1992.
2. Bezerra HMC, Ataíde LJr, Hinrichsen SL, Travassos FM, Travassos PTC, Silva MJB, Silva MB. Comprometimento do sistema nervoso na leptospirose: I. Avaliação dos aspectos neurológicos. Arq Neuropsiquiatr 1993, 51:457-463.
3. Bezerra HMC, Ataíde LJr, Hinrichsen SL, Travassos FM, Travassos PTC, Silva MJB, Silva MB. Comprometimento do sistema nervoso na leptospirose: II. Avaliação do líquido cefalorraqueano. Arq Neuropsiquiatr 1993, 51:464-468.
4. Corrêa MOA, Veronesi R, Brito T, Hyakutake S, Rosa CAS, Edelweiss EL. Leptospiroses. In: Veronesi R. Doenças infecciosas e parasitárias. Ed 7. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1987, p 573-592.
5. Hinrichsen SL. Aspectos epidemiológicos e clínicos da leptospirose. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 1987.
6. Lima MBC, Porto LFB. Leptospirose. Arq Bras Med 1986, 60:361-364.
7. Noleto PA, Andrade J, Duarte F. Leptospiroses. In: Neves J. Diagnóstico e tratamento das doenças infecciosas e parasitárias. Ed 2. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1983, p 673-687.
8. Peinado MCT, Barbosa SPJr, Stiliano SV, Carnaúba D, Camargo ED, Silva MV. Leptospirose forma icterohemorrágica: estudo de 41 casos. AMHFCMSCSP 1988, 31:41-43.
9. Pimentel AM, Regis JM Filho, Carneiro RM. Leptospirose. In: Tonelli E. Doenças infecciosas na infância. Rio de Janeiro: Edit Medico-Científica, 1987, p 481-484.
10. Ribeiro MA, Kawarabakyashi M, Yamada LK, Takeda AK, Corrêa MOA. Imunodiagnóstico da leptospirose humana: 2. Estudo comparativo das reações de soroaglutinação microscópica, hemaglutinação passiva e imunofluorescência indireta. Rev Inst Adolfo Lutz 1981, 41:135-143.
11. Rosa CAS. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. Microbiologia 1970, 97-109.
12. Schmidt DR, Winn RE, Keefe TJ. Leptospirosis: epidemiological features of a sporadic case. Arch Intern Med 1989, 149:1878-1880.
13. Sperber SJ, Schlepner CJ. Leptospirosis: a forgotten cause of aseptic meningitis and multisystem febrile illness. Southn Med J 1989, 82:1285-1288.
14. Ximin L, Xuzhong R, Zhuan C, Burun Y, Shangpu H, Yunhe G. Moya-Moya disease caused by leptospiral cerebral arteritis. Chinese Med J 1980, 93:589-604.