

## ESTUDOS SOBRE A *LEPTOSPIRA WOLFFII* EM SÃO PAULO (1)

### *LEPTOSPIRA WOLFFII* IN SÃO PAULO, BRAZIL

MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA (2)

SABURÓ HYAKUTAKE (2)

VAIL NATALE (2)

PAULO A. AYROSA GALVÃO (3)

HÉLIO DE ALMEIDA AGUIAR (4)

#### SUMMARY

The occurrence of two cases of leptospirosis due to *Leptospira wolffii*, with the isolation of this organism from spinal fluid in one case is reported.

Six out of 150 sera from individuals living in the same area gave positive agglutination tests for *L. wolffii*. Serological examination results of animals caught in the area are presented.

*Leptospira wolffii* was isolated from the kidneys of one specimen of *Akodon arviculoides* and from one non-identified rodent; this is the first isolation of *L. wolffii* registered in the American continent.

#### I — INTRODUÇÃO

A *Leptospira wolffii* foi isolada em 1937 do sangue de um paciente por Wolff, em Sumatra, que a designou provisoriamente sob o n.º 3705, sendo identificada como uma nova leptospira por SCHÜFFNER, GISPEN & BOHLANDER<sup>1</sup> (1939) com a denominação de *L. wolffii*; sua constituição antigênica foi considerada semelhante à *L. saxkoebing* e *L. sejrøe*, integrando com numerosas outras o grupo "hebdomadis", o qual, de acordo com a mais recente publicação do "WHO Scientific Group on Research in Leptospirosis"<sup>2</sup> (1965), está assim constituído como o demonstra o quadro I.

A *L. wolffii* é de incidência restrita pois, até o presente momento, sua ocorrência tem sido registrada em raras ocasiões, apesar do enorme volume de estudos e pesquisas sobre leptospiroses que se efetuam em numerosos

países e nas mais diferentes regiões do mundo.

Com efeito, após o registro inicial de Wolff, em 1937, somente em 1954, TRIMBLE<sup>3</sup>, em artigo sobre "Leptospirosis in Malaya", relata a ocorrência de nova infecção humana causada pela *L. wolffii*; em 1957, o mesmo TRIMBLE<sup>4</sup>, oficial das forças armadas inglesas, publica "Clinical aspects of Leptospirosis in Malaya", ocasião em que, dentre o total de 236 casos observados, três foram causados pela *L. wolffii*, de acordo com as provas sorológicas efetuadas. Não houve possibilidade de se esclarecer se o caso, registrado em 1954 por Trimble, faz parte dos três que apresentou em 1957, mas tudo leva a concluir pela afirmativa. Em nenhum destes casos houve isolamento de nova amostra de *L. wolffii*.

(1) Trabalho leureado com o Prêmio "Adolfo Lutz" de Ciências Biológicas, Bioquímicas e de Saúde Pública, de 1966.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

(3) Do Hospital de Isolamento "Emílio Ribas"

(4) Do Departamento Estadual da Criança.

QUADRO I

Grupo	Sorotipo	Sub-sorotipo	Amostra tipo
<i>hebdomadis</i>	<i>hebdomadis</i>	<i>hebdomadis nona</i>	Hebdomadis
	<i>hebdomadis</i>		Nona
	<i>kambale</i>		Kambale
	<i>kremastos</i>		Kremastos
	<i>worsfoldi</i>		Worsfold
	<i>jules</i>		Jules
	<i>borincana</i>		HS-622
	<i>kabura</i>		Kabura
	<i>mini</i>		Sari
	<i>mini</i>		Szwajizak
	<i>mini</i>		LT 117
	<i>hardjo</i>		Hardjoprajitno
	<i>wolffii</i>		3705
	<i>medanensis</i>		Hong HC
	<i>sejroe</i>		M 84
	<i>sejroe</i>		1627 Burgas
	<i>maru</i>		CZ 285B
<i>saxkoebing</i>	Mus 24		
<i>saxkoebing</i>	Nero		
<i>haemolyticus</i>	haemolyticus		
<i>haemolyticus</i>	ricardi		
<i>perameles</i>	Richardson		
<i>polonica</i>	Bandicoot 343		
	493 Poland		

Em decorrência ainda de operações bélicas na Malaya, Tailândia e Bornéu de forças militares inglesas e norte-americanas, estudos foram efetuados por WISSEMAN *et alii*<sup>5</sup> (1955), sendo as leptospiros então isoladas de doentes, de animais silvestres e domésticos enviados a ALEXANDER *et alii*<sup>6</sup> do Walter Reed Army Medical Center, Washington, que as classificou, após minuciosos estudos sorológicos sobre as suas respectivas constituições antigênicas, encontrando, dentre as demais, cinco amostras de um biotipo incompleto da *L. wolffii* que designou, por tal motivo, por *L. wolffii* A, cuja amostra padrão é a denominada R7, sendo duas de origem humana e três provenientes de roedores (*Rattus mullerei* e *R. sabanus*). Em novo estudo de 110 amostras isoladas de doentes daquela mesma região — Malaya — ALEXANDER *et alii*<sup>7</sup> (1957) encontraram sete amostras da mesma *L. wolffii* A.

ALSTON & BROOM<sup>8</sup> (1958) informam que o principal vetor da *L. wolffii* é desconhecido, que ela teria sido isolada de cães da Indonésia, de acordo com SCHÜFFNER *et alii*<sup>1</sup> (1939) e que através de evidência sorológica haviam sido considerados infectados os animais *E. spelacea* e *R. whiteheadi*.

Na bibliografia existente, são apenas esses os registros que encontramos sobre a

ocorrência da *L. wolffii* no homem; a esse respeito, consultamos o próprio Prof. J. W. Wolff do "Institute of Tropical Hygiene and Geographical Pathology", Amsterdam, Holanda — o mesmo que a isolou em 1937, em Sumatra — ao que nos respondeu em carta datada de 1-12-65: "I do not know of other isolations of *L. wolffii* or serological indications for this serotype than those publications mentioned by you".

É bem compreensível, pois, o interesse que nos despertou a ocorrência de leptospirose por *L. wolffii* em dois pacientes, o que nos levou a proceder aos estudos clínicos e epidemiológicos relatados no presente trabalho.

## II — MATERIAL E MÉTODOS

O nosso material é constituído originalmente por dois doentes e pelos contactos humanos e animais nos locais de possível aquisição da doença. Foi ainda pesquisada a existência de leptospira na água de uma das possíveis fontes de infecção.

Os métodos diagnósticos utilizados foram os seguintes:

1) *Isolamento de leptospira do líquido cefalorraquidiano* através de cultura em meio

de Fletcher e Korthof modificado e inoculação, de 2 ml, via intraperitoneal em cobaio jovem.

2) *Isolamento de leptospira da água suspeita*, após filtração em filtro Millipore n.º 17, com aspiração a vácuo, semeadura em meio de Fletcher e inoculação por via intraperitoneal em cobaio jovem.

3) *Sêro aglutinação para diagnóstico das leptospiroses* — Retirado o sangue do paciente por punção venosa e colocado em tubo de ensaio, após a retração do coágulo, procede-se à separação do sêro com o qual se prepara uma diluição a 1:50, em solução tampão de fosfatos, da qual se distribuem 5 gotas em cada escavação das placas de porcelana utilizadas neste processo. Como antígenos, usamos culturas em meio de Korthof modificado das seguintes leptospiroses, às quais se adiciona formalina, na proporção de 3 gotas para cada 3 ml de cultura:

QUADRO II

Sorotipo	Amostra padrão
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	RGA
" "	M 20
" "	N 3294
<i>L. grippotyphosa</i>	Moskva V
<i>L. canicola</i>	Hond Utrecht IV
<i>L. pomona</i>	Pomona
<i>L. australis</i>	Ballico
<i>L. bataviae</i>	Swart
<i>L. sejrøe</i>	M 84
<i>L. pyrogenes</i>	Salinem
<i>L. hyos</i>	Mitis Johnson
<i>L. saxkoebing</i>	Mus 24
<i>L. andamana</i>	C H 11
<i>L. autumnalis</i>	Akiyani A
<i>L. djasiman</i>	Djasiman
<i>L. sentot</i>	Sentot
<i>L. wolffii</i>	3705
<i>L. javanica</i>	Veldrat Batavia 46
<i>L. hebdomadis</i>	Pasteur

Colocam-se 5 gotas de cada antígeno na respectiva escavação onde já havia 5 gotas de sêro diluído a 1:50 de tal maneira que a diluição final é de 1:100, título êste eleito como de valor diagnóstico significativo. Colocam-se as placas em estufa a 28°C du-

rante 2 horas ao fim das quais se procede à leitura em campo escuro, retirando-se as amostras com alça de platina e colocando-as em lâminas.

A sêro-aglutinação é considerada positiva quando pelo menos cinqüenta por cento das leptospiroses do campo microscópico se apresentam aglutinadas.

Em fase ulterior, procede-se à titulação dos soros positivos para determinada leptospira, preparando-se diluições sucessivas do sêro a partir de 1:100, e usando como antígeno a cultura formolizada da leptospira que aglutinou na prova de triagem. O restante da técnica é igual à que foi descrita anteriormente.

4) *Isolamento de leptospiroses em rins de animais* — Após a captura por meio de armadilhas, os animais eram transportados ao laboratório onde, anestesiados pelo éter, eram sacrificados colhendo-se sangue por punção cardíaca para efetuar provas de sêro-aglutinação rotineiras emulsionadas em solução salina tamponada estéril, em suspensão a cerca de 10%, utilizando-se o método de semeadura de diluições progressivas aconselhado por MINETTE<sup>9</sup> (1964).

5) *Métodos utilizados no estudo clínico* — Foram usados os seguintes métodos: *Proteínas totais e frações*, KINGSLEY<sup>10</sup> (1942); *Prova de Hanger* (cefalina colesterol), HANGER<sup>11</sup> (1938); *Reação de citrato de ferro amoniacal*, ILCE, DODICA & IOANOVICI<sup>12</sup> (1938); *Fosfatase alcalina*, KING & ARMSTRONG<sup>13</sup> (1934); *Colesterol*, SPERRY & WEBB<sup>14</sup> (1958); *Bolirrubinas*, MALOY & EVELYN<sup>15</sup> (1934); *Timol*, SHANK & HOAGLAND<sup>16</sup> (1946); *Seromucóide*, WINZLER *et alii*<sup>17</sup> (1948); *Transaminase glutâmico pirúvica*, WRONBLEWSKI & LA DUE<sup>18</sup> (1956); *Uréia*, ADDLS *et alii*<sup>19</sup> (1947); *Prova de Jirgl*, JIRGL<sup>20</sup> (1957).

### III — ESTUDO CLÍNICO

CASO I — *Observação clínica* — Paciente A. L., sexo masculino, 42 anos de idade, casado, branco, motorista profissional, procurou-nos no dia 26/7/65, dizendo estar doente há 8 dias e tendo seus sintomas aparecido súbitamente. Tinha febre intensa e dores musculares generalizadas,

sendo estas mais intensas nos membros inferiores e quadris. Foi medicado com Indocid, tendo melhorado as dores. Teve a seguir "retenção urinária" e quadro diarrêico. Após 5 dias de doença notou que sua pele e olhos estavam amarelos e a urina vermelha. Como sua doença progredisse, procurou socorro médico.

Refere ter tido ferimento exposto no pé 3 semanas antes do início de seus sintomas, quando estava trabalhando em terreno de sua propriedade, aonde passa um córrego. Na parte baixa do terreno estava plantando

agrião. Já com o pé ferido entrou em uma coleção de água para retirar um preá morto que estava contaminando seu terreno.

Ao ser examinado pela primeira vez, apresentava bom estado nutritivo, tendo temperatura de 39,1°C, pressão arterial 130/90 e pulso 100/min.

Paciente com icterícia rubínica de pele e mucosas, tendo em algumas áreas sufusões hemorrágicas de pele. Mialgia discreta. Injeção conjuntival. Coração rítmico e com bulhas abafadas. Pulmões semiolôgicamente normais. O abdome era flácido

### Caso I

EXAMES LABORATORIAIS	DATA			
	4/8	6/8	10/8	12/8
Séro-aglutinação para <i>Leptospira wolffii</i>	1/400	1/800	1/4 800	1/6 400
Reação de Sabin-Feldman	...	...	1/1024	...
<b>SANGUE</b>				
Reação de citrato de ferro amoniacal	Neg.		Pos. (++)	
Transaminase glutâmico pirúvica (u. S. F./ml)	72		60	
Serumocóide (mg/ml)	33,9		23,4	
Prova de Jirgl	Pos. (+++)		Neg.	
Bilirrubina direta imediata (mg/100ml)	1,8		0,4	
Bilirrubina direta total (mg/100ml)	4,2		1,6	
Bilirrubina indireta (mg/100ml)	1,6		0,8	
Bilirrubinas totais (mg/100ml)	5,8		2,5	
Fosfatase alcalina (U. K. A. %)	16,4		17,2	
Uréia (mg/100ml)	59		48	
Colesterol total (mg/100ml)	204		260	
Hanger (Cefalina-colesterol)	Neg.		Pos. (+++)	
Timol (u. Mac-Lagan)				
Turvação	2,1		5,0	
Floculação	Neg.		Neg.	
Proteínas totais (g/100ml)	6,1			
Albumina (g/100ml)	3,6			
Globulinas (g/100ml)	2,5			
Glóbulos vermelhos (mm <sup>3</sup> )	4 000 000			
Hemoglobina (g/100ml)	12,5			
Leucocitos (mm <sup>3</sup> )	12 000			
<b>URINA</b>				
Densidade	1 400			
Subst. redutoras	Neg.			
Proteínas	Pos.			
Hemácias/campo	2			
Leucocitos/campo	8			
Cilindros/campo				
Hialinos	2			
Granulosos	3			
Urubilinogênio	1/150			
Bilirrubina	Pos.			

... Exame não efetuado.

e discretamente doloroso à palpação profunda. O fígado era palpável a 2 cm abaixo do rebordo costal e o baço não era palpável nem percütível. Semiótica do sistema nervoso central era normal. O paciente evoluiu muito bem, tendo sido liberado para atividades moderadas, 15 dias após o início do tratamento, sem icterícia ou qualquer sintoma ou sinal de doença.

Durante os 15 dias de internação, teve diurese de 24 horas que variavam entre 1 900 ml e 3 250 ml. Após o 4.º dia, sua temperatura máxima passou a ser 37°C. O paciente foi medicado com penicilina, durante 14 dias.

O quadro clínico e laboratorial do presente caso, bem como sua evolução, seguem aquilo que temos usualmente encontrado em doentes com leptospirose na forma icterica, com fenômenos hemorrágicos discretos. O paciente sai da fase de oligúria, com diurese grande, até cessar o quadro de necrose tubular recorrente.

A preocupação terapêutica maior é de criar um bom estado de hidratação e administrar antibiótico ativo contra as leptospiros (Penicilina ou tetraciclina).

CASO II — *Observação clínica* — Paciente D. A. M., sexo masculino, 135 anos

Caso II

EXAMES LABORATORIAIS	D A T A			
	11/10	15/10	21/10	28/10
Sôro-aglutinação para <i>Leptospira wolffii</i>	1/200	...	1/800	1/800
Reação de Widal	Neg.	...	...	...
Hemocultura	Neg.	...	...	...
<b>LIQUOR</b>				
Células/mm <sup>3</sup>	5	10	50	40
Hemácias/mm <sup>3</sup>	Incont.	3 200	310	445
Aspecto	Xantocr.	Xantocr.	Xantocr.	Xantocr.
Mononucleares (%)	...	100	100	100
Neutrófilos	0	0	0	0
Proteínas (mg/100ml)	110	142	57	55
Cloretos (mg/100ml)	...	700	710	650
Glicose (mg/100ml)	64	50	51	31
Uréia (mg/100ml)	...	34	...	...
Pandy	Pos.	Pos.	Opal.	Opal.
Pesquisa da leptospira em campo escuro	Pos.	...	...	...
Cultura da leptospira	Pos.	...	...	...
<b>SANGUE</b>				
Seromucóide (mg/ml)	...	15,1	24,9	15,9
Transaminase glutâmico pirúvica (u. S. F./ml)	12			
Bilirrubinas totais (mg/100ml)	0,2			
Uréia (mg/100ml)	27			
Colesterol total (mg/100ml)	218			
Hanger (Cefalina-colesterol)	Pos.			
Timol (u. Mac-Lagan)				
Turvação	5			
Foculação	Neg.			
Proteínas totais (g/100ml)	7,7			
Albumina (g/100ml)	4,6			
Globulina (g/100ml)	3,1			
Glóbulos vermelhos (mm <sup>3</sup> )		4 780 000		
Hemoglobina (g/100ml)		15,0		
Leucocitos (mm <sup>3</sup> )		6 000		

... Exame não efetuado

de idade, casado, branco, faxineiro do I. A. P. C., procurou-nos no dia 11/10/1966, dizendo estar doente há 8 dias, com febre e indisposição geral, que piorou após 4 dias quando teve forte cefaléia durante todo o dia, tendo perdido a consciência e caído por tempo que não pode precisar. Desde então vem tendo cefaléia, vômitos e febre alta. Com a queda, ficou com os olhos arroxeados.

O exame físico revelou paciente em bom estado geral, não icterico e com hematoma palpebral. A temperatura era de 38,5°C, pulso 110/min. e a pressão arterial 80/40. Pele com discreto exantema no rosto e parte alta do tórax. Corações e pulmões, normais. Fígado, a 4 cm do rebordo. Baço não palpado ou percutido. Paciente consciente, queixando-se de cefaléia, mas sem sinais de comprometimento do sistema nervoso central, tendo motricidade, sensibilidade, equilíbrio, coordenação, reflexos profundos e pupilares, conservados. Ausência de sinais indicativos de comprometimento meningeano. Tendo em vista a queixa de cefaléia, foi o paciente submetido a punção líquórica, que revelou liquor hemorrágico e levemente xantocrômico após centrifugação.

O paciente teve boa evolução clínica, sem sinais de comprometimento renal ou hepático, tendo apresentado discreta rigidez de nuca no 4.º dia de internação. Foi medicado com Penicilina durante 14 dias.

A forma meningea pura de leptospirose humana é menos comumente encontrada em nosso meio. O síndrome meningeano puro tem sido por nós encontrado associado a várias leptospirosas, sendo a mais comum a *L. canicola* e *L. icterohemorrhagiae*. A evolução dos pacientes é bastante favorável, não havendo normalmente sinais de comprometimento renal. O quadro líquórico normalmente se torna mais comprometido na segunda semana da doença. O presente caso não fugiu à regra, tendo uma evolução clínica boa, apesar da demora em normalizar o quadro líquórico, o que pode ser consequência do trauma craniano que sofreu posteriormente ao início da doença.

#### IV — LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO

##### 1. NA VILA IRACEMA ROSA

a) *Pesquisa de leptospira na água* — Relatou-nos o paciente A. L. que estava

construindo sua residência na Vila Iracema Rosa, à Rua Iracema Rosa, a qual termina em beco sem saída junto ao morro cujo espigão demarca a separação com o território do Hórto Florestal da Cantareira; no fundo do terreno passa um riachinho que desce do morro e do qual, através de desvio de parte da água, obteve o paciente a formação d'uma pequena coleção d'água para diversão das crianças. Informou, ainda, o paciente, após o interrogatório adequado, que num domingo, alguns dias antes de adoeecer, estivera com os pés dentro desse lago, procedendo à sua limpeza, ocasião em que cortou um dos pés, acrescentando que na água havia um animal morto, mais precisamente, uma preá, animal esse que retirou da água, jogando-o no mato vizinho. Procuramos então visitar o mais breve possível o local referido, constatando "in loco" as suas condições topográficas e sanitárias e cuidando de colher a água do pequeno lago do quintal, bem como deixar armadilhas adequadas para a captura de roedores e pequenos animais da mata.

Na tentativa de isolamento de leptospira da água e no meio de Fletcher, após três semanas, foi observado o crescimento de uma cêpa que, após as provas de soro-aglutinação cruzada com os séros padrão de que dispúnhamos, pareceu-nos ser semelhante à *L. pyrogenes*, enviando-a juntamente com as demais amostras isoladas, das quais daremos notícia posteriormente, ao Prof. B. Babudieri do Laboratório de Referências de Leptospiroses da O. M. S., do Instituto Superiore di Sanità, Roma, para sua identificação definitiva. Após a remessa de novo repique da amostra isolada da água, informou-nos o Prof. Babudieri, em carta datada de 28/12/66, que se tratava provavelmente, de uma leptospira saprófita da água.

b) *Inquérito sorológico em moradores da vila* — Em face da raridade da ocorrência da *L. wolffii* e ao mesmo tempo em que procedíamos à captura de possíveis animais transmissores daquela leptospira, no provável foco da Rua Iracema Rosa, procedemos a um inquérito sorológico entre os moradores dessa rua, ou melhor, da localidade em que o paciente A. L. estava construindo sua futura moradia. Conforme demonstram as fotografias, as residências se distribuem ao longo dos dois lados da rua e na encosta bem íngreme do morro em cujo espigão fica o limite do Hórto Florestal da

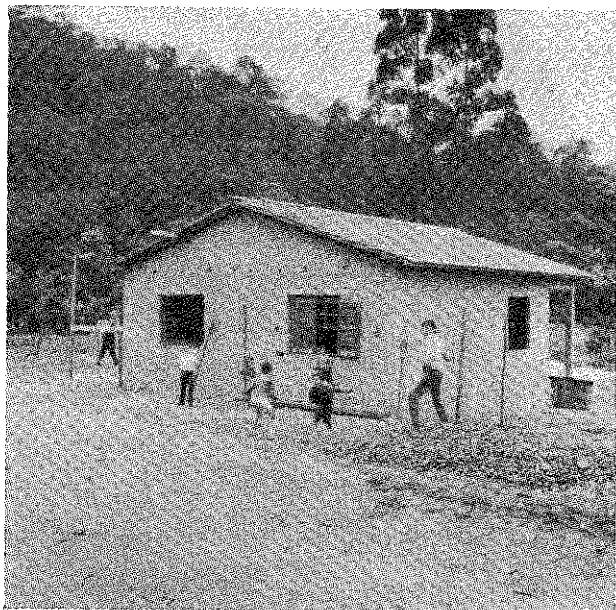


Fig. 1 — Residência em construção, do paciente A. L., na Rua Iracema Rosa. Ao fundo, as árvores que se continuam com a reserva florestal do Hórto.

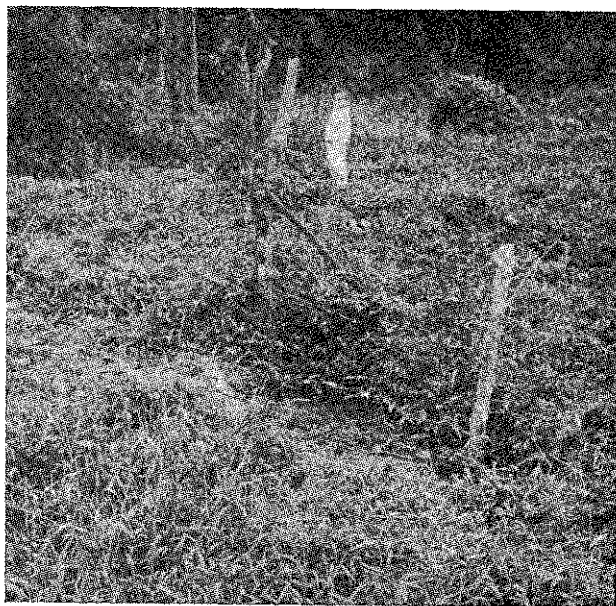


Fig. 2 — O riachinho que, descendo do morro, passa pelo fundo do terreno da residência de A. L. e com cujas águas foi feito um pequeno laguinho.

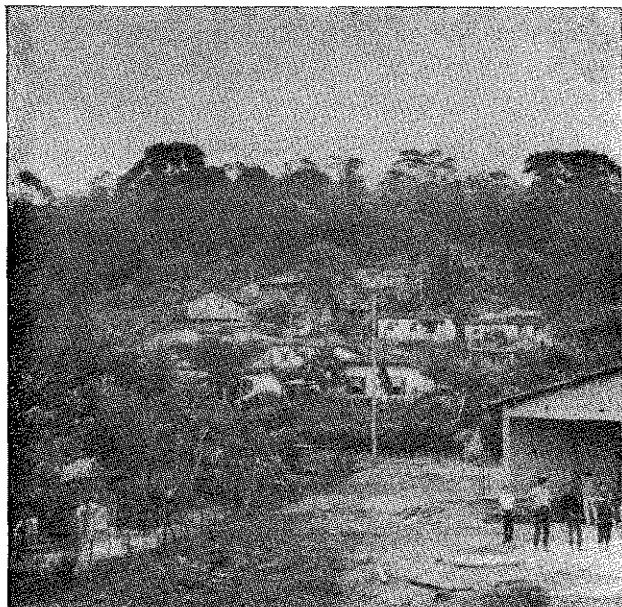


Fig. 3 — Fotografia tirada do fundo da casa de A. L.,  
mostrando a distribuição de parte das casas na encosta  
do morro em cujo espigão, coberto de arvoredo, passa a  
divisa do Hôrto Florestal de S. Paulo.



Fig. 4 — Moradia de E. B. (11 anos) localizada na Rua  
Iracema Rosa que aí termina, divisando-se a mata  
próxima.



Cantareira. Existe, pois, contigüidade íntima entre a zona residencial e a zona florestal e, por conseguinte, contato íntimo entre a fauna florestal, os moradores e os animais domésticos da rua Iracema Rosa; acresce que as crianças e jovens com frequência incursionam as matas vizinhas. Existe ainda o riachinho que, provindo da floresta, desce o morro e passa pelos fundos da moradia de A. L.

Inicialmente fizemos provas de sôro aglutinação com material retirado da espôsa e dos seis filhos do paciente A. L., todos com resultados negativos; a cachorrinha da família (Diana) apresentou sôro-aglutinação positiva a 1:800 para *L. icterohaemorrhagiae*.

No quadro seguinte estão expostos os resultados do inquérito sorológico efetuado entre os moradores da Rua Iracema Rosa, num total de 72, pertencendo 41 ao sexo feminino e 31 ao sexo masculino:

QUADRO III

Grupo etário	Sôro-aglutinação para <i>L. wolffii</i>	
	Positiva	Negativa
até 6 anos	0	13
de 7 a 14 anos	3*	26
de 15 a 20 anos	0	4
de mais de 21 anos	2**	24
Total — 72	5	67

\* Títulos positivos a 1:100.

\*\* Títulos positivos a 1:200.

Registramos, pois, 5 pacientes em que a sôro-aglutinação foi positiva para *L. wolffii*, dos quais submetemos 4 a um breve exame clínico, que resumimos a seguir:

R. A. P. — 14 anos, branco, masculino; exame clínico em 2/9/65. Ficou doente há cerca de 3 meses, com febre, dor no corpo e vômitos; a côr da urina não se alterou. Não teve icterícia e esteve acamado por dois dias.

Ao mesmo tempo, seu irmão Jair adoeceu com sintomas semelhantes, tendo a sôro-aglutinação, efetuada em agosto de 65, sido

positiva para *L. sentot*, a 1:100. Bom estado geral, mucosas coradas. Bulhas cardíacas, normais. P. A. 110-70. Fígado palpável a 2 dedos do rebordo costal, doloroso. Baço e côlons, nada digno de nota. Sôro-aglutinação positiva para *L. wolffii*, a 1:200.

E. B. — 11 anos, branco, masculino. Em janeiro de 1966 teve um episódio febril com vômitos e diarréia, ocasião em que ficou com as escleróticas amareladas. Mucosas coradas. Bulhas cardíacas, normais. P. A., 110-70. Fígado palpável a 1 dedo do rebordo costal. Sôro aglutinação positiva para *L. wolffii*, a 1:200.

A. D. B. — 9 anos, branco, masculino. Nega qualquer antecedente doentio. Ao exame clínico, nada digno de nota. Sôro-aglutinação para *L. wolffii* positiva, a 1:100.

L. P. — 48 anos, branco, masculino, casado, tio de R., e J. A. P. Não se recorda de nenhum episódio febril ou infeccioso nos últimos meses; reside há 5 anos no local. Ao exame clínico, mucosas visíveis e bom estado geral. Bulhas cardíacas, normais. P. A., 140-80. Fígado, a 1 dedo do rebordo costal direito. Sôro aglutinação para *L. wolffii*, positiva a 1:100.

Não conseguimos examinar a paciente M. A. M. P., branca, feminina, cuja aglutinação foi positiva para *L. wolffii*, a 1:100. Houve ainda outro paciente, G. G., com 14 anos de idade, cuja sôro-aglutinação foi positiva para *L. icterohaemorrhagiae*, a 1:400.

c) *Pesquisa de leptospira e de sôro-aglutinação em animais* — Além do inquérito sorológico, impunha-se a pesquisa de leptospiros em animais capturados na Vila, pelas técnicas previamente descritas.

As carcaças dos animais foram enviadas ao Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura, para fins de classificação, onde três exemplares lamentavelmente se extraviaram, de um dos quais (rato n.º 3799) foi isolada uma leptospira que se comportou nos testes preliminares como sendo *L. wolffii*. Fato idêntico ocorreu com outra leptospira isolada de um *Akodon arviculoides*, tendo sido ambas, juntamente com a amostra de leptospira isolada do liquor do paciente D. A. M., enviadas por um portador ao Prof. B. Badudieri, em fins de novembro de 1965. Posteriormente, o Prof. Badudieri, do Laboratório de Referência de Leptospiroses da O. M. S., Istituto Superiore di Sa-

nitá, Roma, em carta datada de 14/2/66, comunicou-nos: "the strains, compared, using the agglutinins absorption test, with the strains 3705 and H7, look to be completely identical to these two strains. Consequently they belong to the serotipe *wolffii*".

No quadro IV estão expostos os resultados dos exames realizados nos animais capturados na Vila Iracema Rosa.

## 2. NO HÓRTO FLORESTAL DE S. PAULO (sede)

a) *Inquérito sorológico em moradores* — Em face dos resultados do inquérito soro-

logico, que constitue grande parte do Horto, em particular, dos guardas-florestais e suas famílias, bem como proceder à captura, exame sorológico e cultura de fragmentos de rim de animais que vivem nas matas dessa imensa área silvestre. Com efeito, os resultados que até então obtivemos estavam a indicar, a exemplo dos estudos efetuados na Malaia, que os animais vetôres e reservatórios da *L. wolffii*, em S. Paulo, têm seu "habitat" natural nas florestas e matas exuberantes e primitivas, tais como as encontradas no Hórto Florestal de S. Paulo (sede), situado no município da Capital.

### QUADRO IV

Resultados dos exames realizados em animais capturados na Vila Iracema Rosa

Nome Popular	Espécie	Número de examinados	Cultura de rim em meio de Fletcher		Sêro-aglutinação para <i>Leptospira</i>	
			Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Gambá	<i>Didelphis</i> sp.	4	0	4	0	4
Cuica	<i>Philander</i> sp.	3	0	3	0	3
Preá	<i>Cavia</i> sp.	7	0	7	5*	2
Rato	<i>Akodon arviculoides</i>	2	1	1	0	2
	<i>R. norvegicus</i>	1	0	1	0	1
	Não identificados	3	1	2	1**	0

\* Preás: 4 apresentaram sêro-aglutinação positiva ao mesmo tempo para *L. javanica* e *L. ájasiman* e 1 para *L. icterohaemorrhagiae*.

\*\* Rato (n.º 3799) não identificado: sêro-aglutinação positiva para *L. wolffii*.

lógico que revelou 5 outros casos de infecção progressa por *Leptospira wolffii* entre moradores da Vila Iracema Rosa, em face do isolamento da mesma leptospira de 2 roedores capturados nesse local e da contigüidade dessa região com a reserva florestal do Hórto Florestal de S. Paulo, tornou-se evidente que seria de interêsse proceder a idêntico inquérito sorológico entre os moradores da reserva florestal da Serra da Can-

Para melhor caracterização da reserva florestal em questão, enumeramos alguns dados que nos foram fornecidos pela Diretoria do Serviço Florestal, lá sediado: a área total é de 4 500 hectares dos quais cerca de 20%, ou sejam 900 hectares, são de mata virgem e cerca de 50%, isto é, 2 250 hectares, são de capoeirão com um ou dois cortes feitos na mata virgem há cerca de 40 anos; o restante da área é formado por ca-

poeiras que já sofreram três ou mais cortes, havendo ainda 3 alqueires (7,26 hectares) cultivados anualmente com milho e feijão no local denominado Chapada. Existem 20 casas de guardas florestais dispersas ao longo dos limites da área florestal com os mu-

nicípios vizinhos de Mairiporã, Guarulhos, Franco da Rocha e Parada de Taipas. A altitude é de 776 metros em média, o solo é de latosol vermelho-amarelo, fase rasa e o clima Csb (Köppen) temperado, de inverno seco.



Fig. 5 — Mata secundária da Serra da Cantareira na divisa com a Vila Iracema Rosa.



Fig. 6 — Mata secundária da Serra da Cantareira, interior do Hórtio Florestal de São Paulo (sede).

No quadro V figuram os resultados do inquérito sorológico efetuado entre os moradores do Hórto, que trabalham e vivem em seu interior, predominando principalmente o grupo etário maior de 20 anos, na realidade constituído, em sua maioria, por pessoas acima de 30 anos de idade.

QUADRO V

Grupo etário	Sêro-aglutinação para <i>L. wolffii</i>	
	Positiva	Negativa
de 7 a 14 anos	0	10
de 15 a 20 anos	0	8
de mais de 20 anos	2	58
Total — 78	2	76

O total de pessoas examinadas foi de 78, pertencendo 28 ao sexo masculino e 50 ao sexo feminino, ocorrendo sêro-aglutinação positiva para *L. wolffii* aos títulos de 1:100 e 1:400 em 2 pacientes, respectivamente A. R. S. e P. A. S., sôbre os quais damos breve notícia, a seguir:

A. R. S. — branco, masculino, 55 anos de idade, casado, residente na Fazenda Chapara. Nada relata que possa ser relacionado a uma infecção pregressa por leptospirosas e,

ao exame clínico, nada apresenta digno de menção.

P. A. S. — Branco, masculino, com 24 anos, solteiro, residente da Fazenda Chapada, em casa de pau-a-pique e barro. Relata que há cêrca de um mês teve violenta gripe com cefalêia intensa, febre, canseira e dores no corpo, "bambesa" nas pernas. A urina ficou de côr escura como chá forte, porém o paciente não deixou de trabalhar, embora com grande esforço. Ao exame físico, notamos mucosas visíveis coradas, bom estado geral, bulhas cardíacas normais, PA, 140-80. Fígado, baço e segmentos intestinais, nada digno de nota.

Registramos, ainda, a ocorrência de sêro-aglutinações positivas para *L. icterohaemorrhagiae* (a 1:200), *L. sentot* (1:100) e *L. seirôe* (1:100) em três moradores do Hórto.

b) *Pesquisa de leptospiroses em animais*  
Com referência à pesquisa de leptospirosas em animais no Hórto Florestal de São Paulo, capturamos alguns, em armadilhas, sendo os bugios abatidos a tiro por caçador do próprio Hórto.

Os resultados obtidos estão discriminados no quadro VI.

Constatamos assim que não conseguimos isolar nenhuma leptospira dos rins dos 44 animais estudados, assinalando apenas que 7 bugios apresentavam sêro-aglutinações positivas, conjuntamente para *L. javanica*, *L. djasiman* e *L. ballum*, resultado êste que con-

QUADRO VI

Resultados dos exames realizados em animais capturados no Hórto Florestal de S. Paulo (sede)

Nome popular	Espécie	Número de examinados	Cultura de rim em meio de Fletcher		Sêro-aglutinação para Leptospira	
			Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Bugio	<i>Alouata fusca</i>	20	0	20	7	13
Macaco	<i>Cebus</i> sp.	2	0	2	0	2
Preguiça	<i>Bradypus tridactylus</i>	1	0	1	0	1
Rato	<i>Oryzomys</i> sp.	11	0	11	0	11

trasta com o apresentado por MINETTE<sup>21</sup> (1966) quando, em 74 macacos das Américas, examinados, encontrou apenas um com sôro-aglutinação positiva para *L. ballum*.

#### V — COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Os dados expostos até o presente demonstraram claramente a ocorrência de um foco de leptospirose humana por *Leptospira wolffii* na região do Hôrto Florestal de São Paulo (sede), em particular nas adjacências da Vila Iracema Rosa.

O fato relatado pelo paciente A. L. de que, na pequena coleção de água que existia no quintal, havia uma preá morta, permitia se levantasse a hipótese de que teria sido esse animal o vetor da leptospira infectante; todavia, a pesquisa efetuada nos animais capturados nesse local não confirmou aquela presunção, embora revelasse alto índice de presumível infecção por outras leptospirosas, entre as preás, pois, dentre 7 examinadas, 4 mostraram sôro-aglutinações positivas para *L. javanica* e *L. djasiman*, e 1 para *L. ictero-haemorrhagiae*.

Foi o exame de roedores que possibilitou a identificação do verdadeiro vetor da *L. wolffii* então isolada nos rins de dois roedores; um, o de n.º 3835, identificado como exemplar macho de *Akodon arviculoides* e outro, o de n.º 3799, que não pôde ser classificado.

O inquérito sorológico procedido entre moradores da Rua Iracema Rosa e adjacências revelou a ocorrência de 5 infecções pregressas por *L. wolffii* entre 72 pessoas examinadas — incidência de 6,9%, bastante elevada pois — infecções estas que tiveram características de benignidade, pois praticamente passaram despercebidas, ou como uma "gripe" ou como uma indisposição passageira.

Apenas um paciente, E. B., relatou um episódio febril com vômitos e diarreia, em janeiro de 1965, ocasião em que teria tido icterícia, pois ficou com as escleróticas amareladas.

Faltava apenas isolar a *L. wolffii* de um paciente com leptospirose aguda, o que aconteceu logo depois, ao isolarmos a referida leptospira do líquido cefalorraquidiano do paciente D. A. M., episódio êste que se re-

vestiu de características interessantes. Com efeito, estávamos na expectativa do aparecimento de nôvo caso de leptospirose humana por *L. wolffii* para tentarmos então seu isolamento, quando a sôro-aglutinação desse paciente, consultante de ambulatório, foi positiva a 1:200 para *L. wolffii*. Imediatamente procuramos o colega de plantão naquele Hospital a quem, após encarecer a importância do caso, solicitamos providenciasse com urgência a remoção e internação do paciente D. A. M., recomendando-lhe que não fôsse feita medicação antibiótica alguma, para que pudéssemos no dia seguinte tentar o isolamento da *L. wolffii* da hemocultura e inoculação do sangue do cobaio. Todavia, ao ser internado cêrca das 21 horas do mesmo dia, o paciente apresentava estado geral grave, em face do que se impunha a imediata medicação, principalmente a administração de antibióticos, o que foi feito na dose de 10 milhões de unidades de penicilina em sôro glicofisiológico, gôta-gôta por via endovenosa.

Apresentando o paciente D. A. M. sintomatologia meníngea exuberante, impunha-se o exame do líquido cefalorraquidiano com o qual tentamos a cultura em meios de Fletcher e Korthof e a inoculação em cobaio. A nossa experiência pregressa havia ensinado que as possibilidades de isolamento de leptospirosas são maiores a partir do líquido do que do sangue, quando o paciente já recebeu medicação antibiótica, o que é de se compreender em face da resistência da denominada barreira hemo-liquórica à passagem de antibióticos.

E o resultado da cultura do líquido veio confirmar a nossa expectativa pois foi positiva para *L. wolffii*, conforme identificação posterior, comprovada e retificada pelo Prof. B. Badudieri, do Laboratório de Referência da O. M. S., de Roma. Foi esta a quarta ocasião em que a *L. wolffii* foi isolada do sangue de um paciente desde a sua individualização por Wolff em 1937, quando a isolou pela primeira vez, na Sumatra; a segunda e terceira ocasiões, quando dos estudos efetuados entre as forças armadas inglesas e norte-americanas em operações nas selvas da Malasia, Tailândia e Borneo, por Alexander *et alii* (1955 e 1957). Por outro lado, o isolamento da *L. wolffii* a partir do paciente D. A. M. ocorre pela primeira vez no Brasil e nas Américas, que se cons-

tituem no segundo continente em que sua existência é assinalada, já que até então só o fôra na Ásia. Pela segunda vez foi a *L. wolffii* isolada de roedores silvestres; um, não identificado; o outro, *Akodon arviculoides*.

A incidência da *L. wolffii* é realmente muito pequena pois, desde que a incluímos entre os antígenos de uso rotineiro, examinamos cerca de 8 120 soros humanos, dentre os quais apenas registramos com aglutinação positiva para *L. wolffii* os que assinalamos neste trabalho e mais um, relativo a uma paciente residente em uma fazenda no município de Ribeirão Preto, nove ao todo, por conseguinte.

Os dois doentes A. L. e D. A. M. apresentaram quadros clínicos completamente diversos, o primeiro com o clássico quadro de comprometimento hepatorenal da moléstia de Weil, o segundo com quadro de sintomatologia meningea predominante, mostrando mais uma vez a validade da teoria unitária da patogênese da doença no homem.

#### RESUMO

Os autores registram a ocorrência de leptospirose por *Leptospira wolffii* em dois pacientes, com isolamento da *L. wolffii* no líquido cefalorraquidiano de um deles. Procedendo a estudos epidemiológicos no local em que residia um dos pacientes (Vila Iracema Rosa e adjacências — sede do Hôtor Florestal de São Paulo, Brasil), efetuaram inquéritos sorológicos entre 150 pessoas, encontrando 6 com evidência sorológica de infecção pregressa por *L. wolffii*. Apresentam inquérito sorológico entre animais capturados nesses locais. Foi isolada *L. wolffii* dos rins de um exemplar de *Akodon arviculoides* e de outro roedor não identificado; esta é a primeira vez em que a *L. wolffii* é isolada no continente americano, segundo continente em que é registrada, sendo o primeiro, a Ásia; pela segunda vez é isolada de roedores silvestre.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SCHOFFNER, W.; GISPEN, & BOHLANDER, H. — Voorgezette pogingen tot ordening der Leptospirae. Geneesk. T. Ned.-Ind. 79:2470-479, 1939.

2. WORLD HEALTH ORGANIZATION — Classification of leptospirae and recent advances in leptospirosis. Bull. WHO 32(6):881-891, 1965. Memoranda. (Memorandum from a meeting of WHO Scientific Group on Research in Leptospirosis, Geneva, 1962. Not a official report.).
3. TRIMBLE, A. P. — Leptospirosis in Malaya. Proc. Alumni Ass. Malaya 7(3):182-188, 1954.
4. TRIMBLE, A. P. — Clinical aspects of Leptospirosis in Malaya. Proc. Roy. Soc. Med. 50:125-128, 1957.
5. WISSEMAN, C. L. et alii — Leptospirosis of man and animals in urban, rural and jungle areas of southeast Asia. Am. J. Trop. Med. 4:29-40, 1955.
6. ALEXANDER, A. D. et alii — Classification of leptospiral isolates from Malaya, Thailand and North Borneo. Am. J. Trop. Med. 4:492-506, 1955.
7. ALEXANDER, A. D. et alii — Leptospirosis in Malaya. II. Antigenic analysis of 110 leptospiral strains and other serologic studies. Am. J. Trop. Med. 6:871-889, 1957.
8. ALSTON, J. M. & BROOM, J. C. — Leptospirosis in man and animals. Edinburgh, Livingstone, 1958.
9. MINETTE, H. P. — Leptospirosis in rodents and mongooses on the island of Hawaii. Am. J. Trop. Med. 13: 826-832, 1964.
10. KINGSLEY, G. R. — The direct biuret method for the determination of serum proteins as applied to photoelectric and visual colorimetry. J. Lab. Clin. Med. 27:840-845, 1942.
11. HANGER, F. M. — Flocculation of cephalin-cholesterol emulsions by pathological sera. Trans. Ass. Am. Physns. 53:148-151, 1938.
12. ILCA, von S.; DODICA, C. & IOANOVICI, Z. — Eine spezifische Probe zum Nachweis von Schädigungen des Leberparenchyms. Z. Ges. Inn. Med. 16(15):652-653, 1961.
13. KING, R. J. & ARMSTRONG, A. R. — A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. Can. Med. Ass. J. 31:376-381, 1934.
14. SPERRY, W. M. & WEBB, M. — A revision of the Schoenheimer-Sperry method for cholesterol determination. J. Biol. Chem. 187:97-106, 1950.

15. MALLOY, H. T. & EVELYN, K. A. — The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol. Chem. 119:481-490, 1937.
16. SHANK, R. E. & HOAGLAND, C. L. — Modified method for quantitative determination of thymol turbidity reaction of serum. J. Biol. Chem. 162: 113-138, 1946.
17. WINZLER, R. J. *et alii* — Studies on the mucoproteins of human plasma. 1. Determination and isolation. J. Clin. Invest. 27:609-616, 1948.
18. WRÓBLEWSKI, F. & LADUE, J. S. — Serum glutamic pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91:569-571, 1956.
19. ADDIS, T. *et alii* — The relation between the serum urea concentration and the protein consumption of normal individuals. J. Clin. Invest. 26: 869-874, 1947.
20. JIRGL, V. — Ein Test zur Differentialdiagnose des Verschlussikterus. Klin. Wschr. 35:938, 1957.
21. MINETTE, H. P. — Leptospirosis in primates other than man. Am. J. Trop. Med. 15(2):190-198, 1966.

Recebido para publicação em 1 de junho de 1967.

