



DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DA LEPTOSPIROSE: SÍNTESE DAS PRINCIPAIS EVIDÊNCIAS CLÍNICAS

Differential diagnosis of leptospirosis: summary of main clinical evidences

Gabriel Antonio da Costa Nunes¹, Laís Sette Rostirola², Mateus Henrique Reinato³, Eduardo Bazanelli Junqueira Ferraz⁴

¹⁻⁴Serviço de Clínica Médica. Hospital Universitário São Francisco na Providência de Deus (HUSF) – Bragança Paulista, SP.

Resumo

Introdução: A leptospirose é uma condição clínica grave, que se manifesta com hemorragia pulmonar e lesão renal aguda, levando à falência de múltiplos órgãos em cerca de 5 a 15% dos casos. Em situações onde o diagnóstico é tardio e o tratamento demora a ser instituído, a taxa de mortalidade pode atingir cerca de 50%. A identificação dos pacientes com risco de desenvolver a leptospirose em sua forma grave não é uma tarefa fácil para o clínico. Embora o suporte laboratorial e radiológico facilite o diagnóstico, esta não é uma realidade nos países de média e baixa renda. **Objetivo:** Realizar uma revisão da literatura buscando evidenciar as principais diretrizes para o diagnóstico diferencial da leptospirose. **Método:** Trata-se de um estudo exploratório realizado na base de dados PUBMED, utilizando a estratégia de busca *leptospirosis [title] AND diagnosis [title]*, incluindo apenas ensaios clínicos. **Resultados:** Foram incluídos 10 artigos na presente revisão. **Síntese de Evidências:** Apesar de uma série de métodos laboratoriais eficazes para diagnóstico da leptospirose, a utilização de escores baseados em características clínicas parece ser uma forma promissora para realização de um diagnóstico precoce e assertivo, especialmente em locais onde as condições de saúde são precárias.

Palavras-chave: Clínica Médica; Diagnóstico; Leptospirose.

Abstract

Introduction: Leptospirosis is a serious clinical condition that manifests with pulmonary hemorrhage and acute kidney injury, leading to multiple organ failure in about 5 to 15% of cases. In situations where diagnosis is late and treatment is delayed, the mortality rate can reach about 50%. Identifying patients at risk of developing leptospirosis in its severe form is not easy for the clinician. Although laboratory and radiological support facilitates diagnosis, this is not a reality in low- and middle-income countries. **Objective:** To perform a literature review to highlight the main guidelines for the differential diagnosis of leptospirosis. **Method:** This is an exploratory study conducted in the PUBMED database, using the search strategy *leptospirosis [title] AND diagnosis [title]*, including only clinical trials studies. **Results:** We included 10 articles in this review. **Evidence Synthesis:** Despite a number of effective laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis, the use of scores based on clinical characteristics seems to be a promising way to make an early and assertive diagnosis, especially in places where health conditions are poor.

Keywords: Clinical Medicine; Diagnosis; Leptospirosis



Introdução

A leptospirose é uma infecção zoonótica com distribuição global. Embora a maioria das infecções seja leve e autolimitada, acredita-se que a doença mate quase 60.000 pessoas a cada ano (COSTA *et al.*, 2015). Trata-se de uma condição clínica grave, que se manifesta com hemorragia pulmonar e lesão renal aguda, levando à falência de múltiplos órgãos em cerca de 5 a 15% dos casos. Apesar dessa gravidade, a taxa de mortalidade da leptospirose grave pode ser reduzida de forma drástica se houver um rápido diagnóstico e acesso imediato a vasopressores, terapia de substituição renal e ventilação mecânica. Todavia, em casos onde o diagnóstico é tardio e o tratamento demora a ser instituído, a taxa de mortalidade pode atingir cerca de 50% dos indivíduos afetados (SMITH *et al.*, 2019).

Em um recente estudo que realizou uma análise descritiva de 180 casos de leptospirose, ocorridos no período de janeiro de 1997 a dezembro de 2016, e que incluiu apenas os indivíduos que contraíram a doença em viagens, observou-se que a maioria dos afetados adquiriu a doença no Sudeste Asiático, Tailândia, Costa Rica, Indonésia e Laos (VRIES *et al.*, 2018).

A leptospirose é uma endemia no Brasil e, nos meses onde as quantidades de chuva são maiores, acaba se tornando uma epidemia. Este fato é agravado principalmente em locais onde existem grandes concentrações humanas, comuns nas grandes metrópoles, onde ocorrem enchentes constantes, onde o saneamento básico é ineficiente ou insuficiente, onde o poder aquisitivo é reduzido, e onde é comum a existência de uma grande população de roedores (DUARTE *et al.*, 2019).

A identificação dos pacientes que estão em risco de desenvolver a leptospirose em sua forma grave não é uma tarefa fácil para o clínico. Já foi sugerido que a presença de uma variedade de características clínicas, achados de imagem e eletrocardiografia, além da correta investigação laboratorial, são importantes para o diagnóstico assertivo da doença (MAROTTO *et al.*, 2010). Embora essas abordagens possam ser úteis em ambientes onde existem recursos, como por exemplo, suporte laboratorial e radiológico avançado, esta não é uma realidade nos países de média e baixa renda, que acabam suportando uma carga desproporcional da doença quando comparados aos países desenvolvidos (SMITH *et al.*, 2019).

Dessa forma, entende-se que a realização de uma revisão da literatura buscando compilar as principais metodologias para identificação dos indivíduos afetados pela leptospirose, poderá contribuir para que o clínico, na vigência de características, sinais e sintomas sugestivos da doença, possa realizar um diagnóstico rápido e assertivo, permitindo a instituição de tratamento precoce, e reduzindo assim a mortalidade associada à leptospirose.

Objetivo

Realizar uma revisão da literatura buscando evidenciar as principais diretrizes para o diagnóstico diferencial da leptospirose.

Método

Trata-se de uma pesquisa classificada como exploratória, que se baseia no método de revisão da literatura com síntese de evidências. A seleção dos trabalhos foi realizada na base de dados PUBMED, utilizando a seguinte estratégia de busca: *leptospirosis[title] AND diagnosis[title]*. Não foi estabelecido nenhum corte temporal, logo, trabalhos com qualquer data de publicação foram incluídos no estudo. Somente artigos científicos que descrevessem ensaios clínicos ou estudos randomizados com seres humanos foram considerados na presente revisão. Os artigos selecionados inicialmente foram incluídos em uma biblioteca digital com a utilização do *software* Zotero



(FERRAZ, 2016; ZOTERO, 2019). Em seguida, uma nova busca por trabalhos de interesse, e que pudessem complementar os resultados identificados na primeira busca, foi realizada com o intuito de identificar principalmente artigos que apresentassem escores para diagnóstico da doença, e que por sua vez pudessem ser utilizados para a triagem rápida de pacientes com suspeita diagnóstica de leptospirose.

Resultados

A busca pelos trabalhos ocorreu no dia 22 de julho de 2019. Foram identificados inicialmente 8 trabalhos, conforme demonstrado na Figura 1.



Figura 1: Retorno da busca na base de dados PUBMED.

Fonte:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=leptospirosis%5Btitle%5D+AND+diagnosis%5Btitle%5D>

Após a busca inicial, os 8 trabalhos identificados foram inseridos na biblioteca digital. Em seguida, foi realizada uma segunda busca por trabalhos recentes que discutissem escores para identificação rápida da doença. A referida busca identificou 2 artigos, que também foram incluídos na biblioteca. Dessa forma, esta revisão foi composta inicialmente por 10 artigos (Figura 2).

Título	Autor	Ano	Publicação
> [Evaluation of the counterimmunoelectrophoresis technique for the serologic diagnosis o...	Obregón Fuentes ...	1993	Revista Cubana De Medicina...
> Dot-ELISA-IgM in saliva for the diagnosis of human leptospirosis using polyester fabric-r...	da Silva et al.	1994	Revista Do Instituto De Medi...
> Is CK-MB isoenzyme useful for diagnosis of cardiac involvement in icteric leptospirosis?	Machado et al.	1995	Revista Do Instituto De Medi...
> Field application of Lepto lateral flow for rapid diagnosis of leptospirosis	Sehgal et al.	2003	Journal of Medical Microbiol...
> The use of latex agglutination for the diagnosis of acute human leptospirosis	Pradutkanchana e ...	2005	Journal of the Medical Assoc...
> [Laboratory advances in serologic diagnosis and research of human leptospirosis in Cuba]	Obregón et al.	2007	Revista Cubana De Medicina...
> Early identification of leptospirosis-associated pulmonary hemorrhage syndrome by use ...	Marotto et al.	2010	Journal of Infection
> Evaluation of combined B cell specific N-terminal immunogenic domains of LipL21 for di...	Anita et al.	2016	International Journal of Biol...
> Application of a real time Polymerase Chain Reaction (PCR) assay for the early diagnosis ...	Denipitiya et al.	2016	Biologicals: Journal of the In...
> A simple score to predict severe leptospirosis	Smith et al.	2019	PLOS Neglected Tropical Dis...

Figura 3: Biblioteca digital construída com o *software* Zotero.

Fonte: Dados dos autores.

Após a leitura inicial dos resumos, verificou-se que todos os artigos atendiam aos critérios de inclusão previamente estabelecidos. Sendo assim, os mesmos foram lidos na íntegra, e os resumos com as suas principais informações foram apresentados na seção a seguir em ordem cronológica de publicação.



Revisão da Literatura

Obregón Fuentes e colaboradores (1993), conduziram um estudo onde a técnica da contraímunoeletroforese (CIE) foi avaliada para o diagnóstico sorológico da leptospirose, utilizando uma preparação antigênica da cepa *Leptospira biflexa*. No estudo, os autores demonstraram que a técnica CIE apresentou sensibilidade de 82% e especificidade de 100%. Ainda, o antígeno utilizado mostrou uma reatividade específica ao gênero na detecção de anticorpos em pacientes infectados por diferentes sorogrupos da leptospirose pelo teste de microaglutinação. Para os autores, a estabilidade do antígeno para a técnica CIE foi de 6 meses sem perda do título.

Da Silva et al. (1994), a fim de melhorar o diagnóstico da leptospirose humana, padronizaram um teste de ELISA para a pesquisa de anticorpos anti-IgM específicos na saliva. Para tal, amostras de saliva e soro foram coletadas simultaneamente de 20 pacientes com a forma icterorrágica da doença, de 10 pacientes com outras patologias, e de 5 controles negativos. Leptospiras de *Sorovares icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Hebdomadis brasiliensis* e *Cynopteri*, cultivados em meio específico e misturados em volumes iguais, foram utilizados como antígenos na concentração individual de 0,2 microgramas / microlitro. Na fase sólida do teste, os autores utilizaram um tecido de poliéster impregnado com resina de N-metilolacrilamida. Nesse teste, o volume de antígeno foi de 1 microlitro, o volume de saliva foi de 8 microlitros, e o volume de conjugado IgM anti-humano marcado com peroxidase foi de 30 microlitros. Após a leitura visual em solução cromogênica recém-preparada, os autores definiram que, em contraste com o suporte clássico sobre uma membrana de nitrocelulose, o suporte da cultura em tecido é fácil de se obter e de manusear. Ainda, a saliva pode ser coletada diretamente no suporte, fato que facilita o método e reduz as despesas e riscos relacionados ao processamento do sangue, facilitando assim o diagnóstico laboratorial da leptospirose.

Machado e colaboradores (1995), iniciaram seu estudo com a informação de que a ausência de insuficiência cardíaca ou choque cardiogênico pode caracterizar o diagnóstico de envolvimento cardíaco na leptospirose icterica, e que sua identificação é possível com base em achados de eletrocardiogramas anormais. Ainda para os autores, como os distúrbios metabólicos e eletrolíticos são frequentemente observados durante a infecção aguda por leptospirose, eles poderiam ser responsáveis por algumas alterações comumente identificadas no eletrocardiograma. Para comprovar esta hipótese, 69 pacientes foram avaliados prospectivamente para verificar se as determinações da isoenzima da creatinofosfoquinase são úteis na seleção de pacientes com suspeita de alto envolvimento cardíaco. Como principal resultado, os autores verificaram que 10 dos 16 pacientes com envolvimento cardíaco, além de 25 pacientes sem afecções cardíacas, apresentavam níveis elevados de CK-MB. Também foi visto que os valores médios de determinação da enzima foram significativamente maiores no grupo onde o envolvimento cardíaco havia sido identificado. Sendo assim, a conclusão dos autores foi de que a dosagem sérica de CK-MB não pode ser considerada pelos médicos como um indicador específico de envolvimento miocárdico no curso da leptospirose icterica.

Sehgal et al. (2003), avaliaram o ensaio de fluxo lateral para diagnóstico da leptospirose em um centro de saúde primário nas Ilhas Andaman, onde a leptospirose é endêmica. Foram incluídos no estudo 117 pacientes com suspeita de leptospirose, inicialmente submetidos a uma coleta de sangue. De 104 destes pacientes também foi coletada uma amostra de convalescença. Os critérios padrão para o diagnóstico de leptospirose foram o isolamento de leptospiras do sangue, a soroconversão em teste de aglutinação microscópica (MAT) com um título mínimo de 100, e um aumento de quatro vezes no título no MAT ou um título de MAT de 400 ou mais se apenas uma única amostra estivesse disponível. Como principais resultados os autores afirmaram que o ensaio de fluxo



lateral apresentou sensibilidade de 52,9% (37/70) na primeira semana de doença, e de 86% (49/57) nas semanas 2-4. As especificidades correspondentes foram, respectivamente, 93,6% (44/47) e 89,4% (42/47). A sensibilidade foi de 34,3% (12/35) nos dias 2-3 da doença, 63,3% (14/22) nos dias 4-5, e 84,6% (11/13) no final da primeira semana. O teste apresentou um valor preditivo positivo de 92,5% (37/40) durante a primeira semana, e de 90,7% (49/54) subsequentemente. Os valores preditivos negativos correspondentes foram, respectivamente, 57,1% (44/77) e 84% (42/50). Para os autores, a concordância dos resultados com os critérios considerados padrão foi baixa durante a primeira semana, mas alta durante as semanas 2-4. Ainda, as taxas de positividade dos testes mostraram uma relação com os títulos MAT das amostras. Sendo assim, o estudo concluiu que todos os índices de validade e utilidade do ensaio de fluxo lateral foram semelhantes aos do ELISA, e que o referido teste pode ser realizado à beira do leito para um diagnóstico assertivo da leptospirose, visto que o sangue total também pode ser utilizado para realização do ensaio.

Pradutkanchana e Nakarin (2005), avaliaram um teste simples de aglutinação em látex para o sorodiagnóstico da leptospirose humana aguda. No referido estudo, um total de 380 amostras de soro de 85 pacientes com leptospirose confirmada, e 202 pacientes sem diagnóstico de leptospirose, utilizados como indivíduos-controle, foram selecionados. Nas avaliações, os pesquisadores utilizaram a sensibilidade global e a especificidade geral do teste, que foram de 94,1% e 97,0%, respectivamente. Os resultados do estudo demonstraram que, quando focada nos primeiros soros obtidos dos pacientes, a sensibilidade do teste para a infecção aguda foi de apenas 17,6%. Para os autores, o teste de aglutinação em látex é de fácil execução, não requer treinamento nem a utilização de equipamentos especiais, tem uma boa sensibilidade e especificidade, e se apresenta como uma interessante alternativa para o diagnóstico sorológico da leptospirose humana aguda.

Em seu estudo, Obregón e colaboradores (2007) relataram que, pela primeira vez em Cuba, as tecnologias sorológicas rápidas disponíveis em todo o mundo foram avaliadas para o rastreamento e confirmação da leptospirose humana. Ainda segundo os autores, como o reconhecimento clínico da leptospirose é difícil, o diagnóstico etiológico rápido é de vital importância. No estudo, valores de sensibilidade e especificidade superiores a 90% foram obtidos nos sistemas confirmatórios, e de 85% nos sistemas de rastreamento, e dos pacientes graves estudados por essas tecnologias, 50% foram positivos. Em continuidade, os autores relataram que 203 casos correspondentes a quatro surtos epidêmicos foram confirmados, incluindo 12 doentes vacinados com *vax SPIRAL*, o que demonstrou a eficácia da vacina em 78,1% dos casos. Ainda, afirmaram ter desenvolvido e aplicado um sistema para triagem rápida da leptospirose, denominado *LeptoCuba*, com excelente sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade e estabilidade. O artigo é finalizado com a afirmação de que a aplicação de novas tecnologias para triagem e rápida confirmação da leptospirose permite aumentar a positividade e a qualidade do diagnóstico, fortalecendo a vigilância microbiológica.

Anita et al. (2016), avaliaram em seu estudo uma proteína de membrana externa de *Leptospira*, denominada LipL21, e sua região imunogênica para diagnóstico de leptospirose. A codificação completa da sequência de nucleotídeos da LipL21 foi submetida à análise para determinação de epítomos imunogênicos específicos, que foram clonados independentemente e expressos em *Escherichia coli*. Como resultados, os autores reportaram que a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) foram de 92,5%, 92,8%, 83,3% e 97%, respectivamente. Ainda, uma sensibilidade aumentada de 11-14,8% foi observada, e o teste de transferência de pontos mostrou uma sensibilidade adicional aumentada de 3,8% em relação ao teste IgM-ELISA. Ao final do estudo, os autores afirmaram que o I-LipL21 poderia ser, à época, uma



proteína ideal candidata para o diagnóstico da leptospirose, embora novos estudos ainda precisassem ser realizados para confirmar os achados preliminares apresentados no estudo descrito.

Por fim, o estudo de Denipitiya e colaboradores (2016) se inicia com a afirmação de que a leptospirose apresenta um impacto importante sobre a saúde no Sri Lanka, mas é provavelmente pouco reconhecida devido às dificuldades no diagnóstico clínico e falta de serviços laboratoriais de diagnóstico. Sendo assim, os autores objetivaram estabelecer e avaliar um ensaio de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (rt-PCR) para o diagnóstico laboratorial precoce, rápido e definitivo da leptospirose no Sri Lanka. O ensaio de rt-PCR foi estabelecido e a especificidade analítica e a sensibilidade foram determinadas utilizando amostras de referência de DNA. A avaliação do ensaio para o diagnóstico de amostras clínicas foi realizada utilizando dois painéis de amostras de soro obtidos de 111 pacientes adultos com suspeita clínica de leptospirose, e posteriormente divididos em confirmados (n = 65) e não confirmados (n = 30), enquanto 16 amostras apresentaram resultados ambíguos. Os resultados do estudo demonstraram que a sensibilidade analítica da rt-PCR foi de aproximadamente 60 cópias do genoma, e não foi observada reatividade cruzada com *Leptospira spp.* e outros microrganismos patogênicos, correspondendo a uma sensibilidade e especificidade diagnóstica de 67,7% (44/65) e 90,0% (27/30), respectivamente. Sendo assim, a conclusão dos autores foi de que a rt-PCR tem o potencial de facilitar o diagnóstico rápido e definitivo da leptospirose durante a fase inicial da infecção no Sri Lanka.

Um estudo adicional conduzido recentemente por Smith et al. (2019), avaliou os achados clínicos, laboratoriais e radiológicos de 402 pacientes, sendo que 50 deles (12%) apresentavam diagnóstico da leptospirose em sua forma grave. A presença de oligúria, achados auscultatórios anormais no exame respiratório, e a presença de hipotensão na apresentação, independentemente do prognóstico, foram comuns nos pacientes com a forma grave da doença. Dessa forma, os autores desenvolveram um escore de pontuação, denominado *SPiRO*, que foi elaborado usando essas três variáveis clínicas, com um ponto atribuído para cada uma delas. Quando o escore foi reaplicado nos pacientes do estudo, o diagnóstico da forma grave aumentou de forma incremental. Com base nesses achados, a conclusão dos autores foi de que essa avaliação, além de baixo custo, pode ser realizada à beira do leito, requer treinamento mínimo, e pode ter utilidade significativa nos locais com recursos limitados, que por sua vez são os mais afetados por doenças negligenciadas como a leptospirose.

Um segundo estudo adicional, conduzido por Marotto e colaboradores (2010), buscou identificar fatores de predição para o desenvolvimento da síndrome da hemorragia pulmonar associada à leptospirose (LPHS). Para tal, os autores estudaram 203 pacientes admitidos com complicações da forma grave de leptospirose no período de 1998 e 2004, atendidos na cidade de São Paulo - SP. Dados laboratoriais e demográficos foram obtidos desses pacientes, e a gravidade da doença, com base especialmente no envolvimento dos pulmões e de outros órgãos, foi determinada. Dentre os principais resultados, a regressão logística multivariada revelou que cinco fatores foram independentemente associados ao desenvolvimento de LPHS: o potássio sérico, a frequência respiratória a presença de choque, e uma Escala de Coma de Glasgow <15. Ao final do estudo, os autores concluíram que a avaliação destes cinco fatores fornece uma boa capacidade preditiva de identificação de indivíduos com a forma grave da doença, devendo ser aplicada sempre que possível para um diagnóstico assertivo da leptospirose.

Síntese de Evidências

Esta revisão, que buscou avaliar as metodologias para diagnóstico assertivo da leptospirose, identificou que a contraímunoeletroforese apresentou reatividade específica aos anticorpos de



pacientes leptospiróticos, com sensibilidade de 82% e especificidade de 100%. Observou-se também que o teste de ELISA é capaz de identificar anticorpos específicos na saliva e no soro de pacientes contaminados, sendo de rápida execução, de baixo custo e sem riscos, facilitando o diagnóstico laboratorial da doença. Resultados semelhantes foram observados com a realização do ensaio de fluxo lateral, que apresenta vantagens em relação a alguns métodos, já que pode ser realizado à beira do leito, e permite um diagnóstico assertivo da leptospirose. Verificou-se também que o teste de aglutinação em látex é uma alternativa de fácil execução, não requer treinamento nem a utilização de equipamentos especiais, além de apresentar boa sensibilidade e especificidade, sendo uma interessante alternativa para o diagnóstico sorológico da leptospirose humana aguda. Mais recentemente, verificou-se que a proteína LipL21 pode ser uma candidata para o diagnóstico da leptospirose, e que o ensaio rt-PCR tem o potencial de facilitar o diagnóstico rápido e definitivo da doença durante a fase inicial da infecção. Ressalta-se o fato de que a dosagem sérica de CK-MB não pode ser considerada como um indicador específico de envolvimento miocárdico no curso da leptospirose icterica, devendo, portanto, ser descartada. Por fim, ferramentas de pontuação baseadas em características clínicas parecem ser capazes de ajudar os médicos a identificar indivíduos que apresentem risco de desenvolver leptospirose grave. Todavia, a pontuação até então existente, avaliada apenas na Austrália, carece de validação em outros países para confirmar a sua eficácia, embora apresente potencial para melhorar o atendimento de pessoas com leptospirose, particularmente em locais com recursos limitados, onde a doença tem sua maior carga clínica. Um estudo brasileiro que buscou definir um escore para diagnóstico da leptospirose, identificou que fatores como o potássio sérico, a frequência respiratória a presença de choque, e uma Escala de Coma de Glasgow < 15 devem ser considerados na avaliação da gravidade da doença.

Referências

- ANITA, K. *et al.* Evaluation of combined B cell specific N-terminal immunogenic domains of LipL21 for diagnosis of leptospirosis. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 91, p. 465–470, 2016.
- COSTA, F. *et al.* Global morbidity and mortality of leptospirosis: a systematic review. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 9, n. 9, p. e0003898, 2015.
- DA SILVA, M. V. *et al.* Dot-ELISA-IgM in saliva for the diagnosis of human leptospirosis using polyester fabric-resin as support (preliminary report). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 36, n. 5, p. 475–478, 1994.
- DENIPITIYA, D. T. H. *et al.* Application of a real time Polymerase Chain Reaction (PCR) assay for the early diagnosis of human leptospirosis in Sri Lanka. *Biologicals: Journal of the International Association of Biological Standardization*, v. 44, n. 6, p. 497–502, 2016.
- DUARTE, J. L. *et al.* Incidência da leptospirose em uma capital da Amazônia Ocidental brasileira e sua relação com a variabilidade climática e ambiental, entre os anos de 2008 e 2013. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 28, n. 1, 2019.



FERRAZ, R. R. N. Como inserir citações e listar as referências do meu trabalho acadêmico de maneira automatizada? *Redação Científica, Princípios de Estatística e Bases de Epidemiologia para simples mortais*. Erechim: Deviant, 2016. p. 313.

MACHADO, E. S. *et al.* Is CK-MB isoenzyme useful for diagnosis of cardiac involvement in icteric leptospirosis? *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 37, n. 5, p. 461–465, 1995.

MAROTTO, P. C. *et al.* Early identification of leptospirosis-associated pulmonary hemorrhage syndrome by use of a validated prediction model. *Journal of Infection*, v. 60, n. 3, p. 218–223, 2010.

OBREGÓN FUENTES, A. M. *et al.* Laboratory advances in serologic diagnosis and research of human leptospirosis in Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, v. 59, n. 1, p. 63–67, 2007.

OBREGÓN FUENTES, A. M.; LÓPEZ ACOSTA, C.; PÉREZ HERRERA, C. [Evaluation of the counterimmunoelectrophoresis technique for the serologic diagnosis of leptospirosis. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, v. 45, n. 1, p. 67–71, 1993.

PRADUTKANCHANA, S.; NAKARIN, J. The use of latex agglutination for the diagnosis of acute human leptospirosis. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet Thangphaet*, v. 88, n. 10, p. 1395–1400, 2005.

SEHGAL, S. C. *et al.* Field application of Lepto lateral flow for rapid diagnosis of leptospirosis. *Journal of Medical Microbiology*, v. 52, n. Pt 10, p. 897–901, 2003.

SMITH, S. *et al.* A simple score to predict severe leptospirosis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 13, n. 2, p. e0007205, 2019.

VRIES, S. G. DE *et al.* Leptospirosis among Returned Travelers: A GeoSentinel Site Survey and Multicenter Analysis—1997–2016. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 99, n. 1, p. 127–135, 2018.

ZOTERO. *Your personal research assistant*. Disponível em: <<https://www.zotero.org/>>. Acesso em: 3 dez. 2018.