

COMUNICACIONES BREVES

Daño miocárdico grave por leptospirosis. Informe de un caso fatal en México

Oscar Velasco-Castrejón,^{1,2} Beatriz Rivas-Sánchez,¹ Juan Soriano-Rosas,³ Héctor Hugo Rivera-Reyes.⁴

¹ Laboratorio de Medicina Tropical, Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM.

² Dirección de Investigación.

³ Depto. de Anatomía y Patología, Fac. Medicina.

⁴ Consultor Técnico Honorario, del Departamento de Terapia Intensiva.

Hospital General de México, Órgano Descentralizado, Secretaría de Salud.

Recibido el 27 de julio de 2008; aceptado el 6 de marzo de 2009.

PALABRAS CLAVE

Leptospirosis crónica;
Miocardiopatía
idiopática; Cardiopatía
chagásica; *Leptospira*
Pomona; México.

Resumen

La miocardiopatía chagásica es común en Latinoamérica, sin embargo, existen cuadros similares que se pueden confundir con ésta, pero son negativos a las pruebas para detectar *T. cruzi*, como la cardiopatía crónica endémica rural no chagásica, común en Venezuela. En México y otros países es común encontrar como causa de muerte la "miocardiopatía idiopática" cuando no se encuentra la etiología de la misma.

Se presenta el caso de un hombre de 26 años que murió por miocardiopatía dilatada secundaria a leptospirosis. Clínicamente, además de la falla cardiaca destacaban ictericia, hiperbilirrubinemia, elevación de transaminasas, hematuria y proteinuria. Inicialmente se había sospechado miocardiopatía chagásica, pero los antecedentes epidemiológicos y las pruebas parasitológicas y serológicas para *T. cruzi* fueron negativos. Se le practicó videogramación en microscopía de campo oscuro en sangre y orina, impregnación argéntica, inmunohistoquímica y hemocultivo en medio EMJH, positivos todos a leptospirosis. El cultivo fue positivo a *L. interrogans* serovariiedad Pomona. Postmortem se confirmó la detección de leptospira en tejidos mediante histopatología, impregnación argéntica, inmunofluorescencia indirecta e inmunohistoquímica.

KEY WORDS

Chronic leptospirosis;
Idiopathic
cardiomyopathy;
Chagas cardiopathy;
Leptospira Pomona;
Mexico.

Severe myocardial damage caused by leptospirosis. Report of a fatal case in Mexico

Abstract

Chagasic cardiomyopathy is a common disease in Latin America, however similar clinical pictures exist that can be confused with this, as they give negative results to the tests that detects *T. cruzi*, like non Chagasic rural endemic chronic cardiopathy, highly common in Venezuela. Using histopathology techniques, "idiopathic cardiomyopathy" is frequently found as the cause of death when the etiology of this disease is not known. This paper presents the case of a

Correspondencia: Dr. Oscar Velasco Castrejón. Clínica de Medicina Tropical, 2º piso Unidad de Medicina Experimental, UNAM-Hospital General de México, OD, SS. Dr. Balmis 148, colonia Doctores. México D. F. CP. 06726. Teléfono: (55) 5623 2678, (55) 5623 2677, Fax (55) 8596 4500. **Correo electrónico:** oscarvel1@yahoo.com.mx, oscarvelasco@medicina-tropical.com

1405-9940/\$ - see front matter © 2009 Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. Publicado por Elsevier México. Todos los derechos reservados.

man of 26 years old who died of dilated cardiomyopathy secondary to leptospirosis. Clinically, in addition to the cardiac failure, jaundice, hyperbilirubinemia, transaminases increase, proteinuria and hematuria were present. Initially it was suspected Chagasic cardiomyopathy but the epidemiologic background and the parasitologic and serologic tests for *T. cruzi* gave negative results. The dark field microscopy videorecording of blood and urine samples, argentic impregnation and immunohistochemistry tests as well as haemoculture in EMJH medium were positive for *L. interrogans* serovar Pomona. Postmortem we confirmed the presence of leptospira in different tissues through of histopathology, argentic impregnation, indirect immunofluorescence and immunohistochemistry.

Introducción

La cardiomegalia es un hecho común en la miocardiopatía chagásica crónica y se asocia a un alto índice de discapacidad a mediano y mortalidad a largo plazo. Por otro lado, a pesar de los grandes avances logrados en la eliminación de la transmisión vectorial y por hemotransfusión de la enfermedad de Chagas, la cardiopatía chagásica aún se distribuye ampliamente en las regiones rurales de Latinoamérica, particularmente en el Cono Sur.^{1,2}

En México, como en otras partes de Latinoamérica, es común observar casos de cardiopatía chagásica "típica" desde los puntos de vista clínico y epidemiológico, que dejan de serlo cuando al realizar los exámenes de laboratorio para el diagnóstico de enfermedad de Chagas, éstos resultan negativos, creando una gran incertidumbre diagnóstica acerca de su etiología.³ También es común encontrar en estudios clínicos en cardiópatas o en las encuestas seroepidemiológicas para enfermedad de Chagas, un porcentaje alto e incluso, a veces, más elevado de anormalidades electrocardiográficas sugestivas de miocardiopatía chagásica en individuos negativos a la serología específica que en los seropositivos.³⁻⁸

Este hecho fue estudiado por Novoa Montero⁹ en las regiones rurales de Venezuela, quien no encontró asociación significativa entre infección chagásica y miocardiopatía al estudiar miocardiopatía y enfermedad de Chagas en 487 campesinos, mediante reacción de hemaglutinación indirecta vs. *T. cruzi* y electrocardiograma, utilizando la clasificación electrocardiográfica del código de Minnesota,¹⁰ con lo que concluyó, dándole la razón a Jaffe y a otros anatomoatólogos venezolanos¹¹⁻¹⁵ sobre la existencia de miocardiopatía crónica indiferenciada o miocarditis venezuelensis, entidad de la que no pudieron precisar su etiología, pero que de ninguna manera atribuyeron a *T. cruzi*.

Por otro lado, la leptospirosis crónica es una entidad muy común en México¹⁶⁻¹⁸ prueba de ello, son los numerosos casos diagnosticados por nuestro grupo, tanto en pacientes como en cadáveres que presentaban o habían presentado un diverso mosaico clínico, así como el aislamiento de 18 cepas de *Leptospira interrogans* serovariedad Pomona, caracterizadas por el Laboratorio de Referencia de Leptospirosis de la Habana, Cuba y por el Laboratorio de Investigación y Diagnóstico en Leptospirosis para la FAO/WHO/OIE de Ámsterdam, Holanda.

Material y métodos

En julio de 2001, estudiamos, asociados a médicos del Servicio de Medicina Interna (unidad 110), Patología y de otros servicios del Hospital General de México, OD, SS, un

paciente masculino, mestizo, de 26 años de edad, obrero, que habitaba una vivienda precaria, grandemente infestada de ratas y ratones, el cual ingresó a hospitalización el día 17 de junio de 2001, con un síndrome icterico iniciado 90 días antes, insuficiencia cardiaca congestiva, miocardiopatía dilatada (cardiomegalia grado IV), así como hepatopatía a determinar. Días después, por la gran cardiomegalia se sospechó cardiopatía chagásica.

A su ingreso, al paciente se le realizaron exámenes de rutina y de gabinete: biometría hemática (BH), examen general de orina (EGO), química sanguínea (QS), radiografía y tomografía de tórax, ultrasonido de hígado y vías biliares y ecocardiografía; así como panel para hepatitis viral y hepatitis autoinmune.

Ante la sospecha de enfermedad de Chagas y de leptospirosis, se realizó, serología y hemocultivo específicos; asimismo se realizó la detección de leptospirosis en sangre y orina mediante videorecogación en microscopía de campo oscuro (vdgnCO), impregnación argéntica (IA) e inmunodetección por inmunohistoquímica (IHQ) e inmunofluorescencia indirecta (IFI-ag).

La detección de anticuerpos anti *T. cruzi* se realizó por hemaglutinación indirecta (HAI, utilizando el equipo de Serodia-Chagas®, Bayer), de ELISA (Chagatek-ELISA, Biomerieux) e inmunofluorescencia indirecta (IFI).

Cuando se practicó IFI, se utilizó una suspensión de 3 cepas de *T. cruzi* aisladas, de casos crónicos de humanos mexicanos, lavadas con solución amortiguada de fosfatos (PBS pH 7.4), ajustadas a 50 parásitos por campo y pegasas sobre placas de 18 pozos cubiertas con teflón (Cell-line/Erie Scientific CO) y fijadas con metanol. Los sueros se corrieron con un factor de dilución de 2, comenzando a partir de 1:2, se utilizó un anticuerpo anti IgG humano conjugado a isotiocianato de fluoresceína (Zymed) y se leyeron bajo una lámpara de luz ultravioleta en un microscopio Zeiss.

El hemocultivo se realizó en medio NNN¹⁷ y EMJH para el aislamiento de *T. cruzi* y *Leptospira interrogans* respectivamente.

Para la detección de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* se utilizó la técnica de microaglutinación en placa (MAT), según los lineamientos de la OMS.¹⁹

Para la vdgnCO de sangre y orina, se utilizó un sistema de amplificación de imágenes integrado por una videocámara Sony conectada a un monitor Sony.¹⁸

La IA se realizó con la técnica de Warthin-Starry.

Para la inmunodetección de antígeno se usó un suero hiperinmune de conejo preparado contra las 13 serovariedades de *Leptospira interrogans* más comunes en México. Para la IHQ se manejó un anticuerpo anti-inmunoglobulinas totales de conejo conjugado con biotina (SIGMA), la

Figura 1. Radiografía del tórax del paciente, donde se observa Cardiomegalia grado IV.

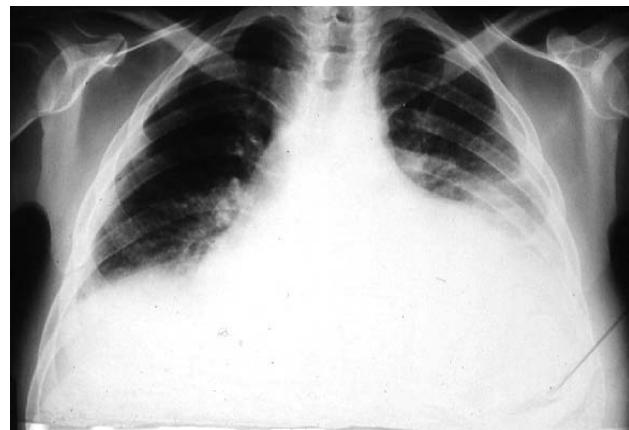
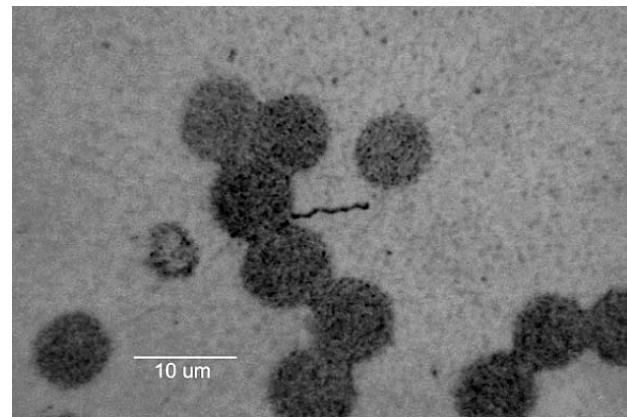


Figura 2. Leptospiras impregnadas con plata (Warthin-Starry), en sangre del paciente con leptospirosis crónica.



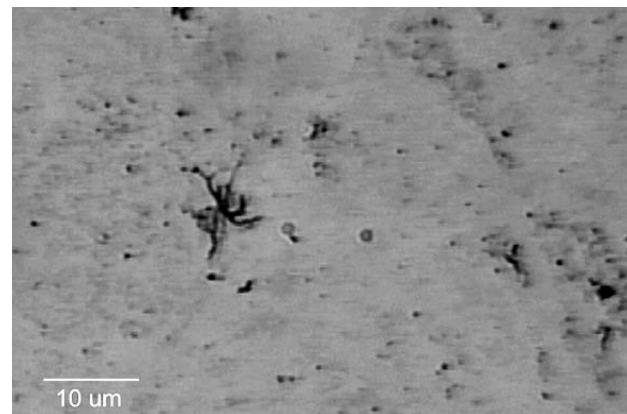
reacción se amplificó con streptavidina-peroxidasa (SIGMA) y se reveló con diaminobenzidina (SIGMA). Para la IFI-ag se utilizó un anticuerpo anti-inmunoglobulinas totales de conejo conjugado a isotiocianato de fluoresceína (SIGMA) la lectura se realizó bajo una lámpara de luz ultravioleta.¹⁷⁻²¹

En el estudio postmortem, se realizaron los estudios histopatológicos de rutina en todos los órganos, además se llevaron a cabo cortes de miocardio teñidos con Giemsa para búsqueda de *T. cruzi* e impregnación argéntica para observar daño neuronal. En cortes de pulmón, riñón, hígado, bazo y ganglios linfáticos se realizó búsqueda de *M. tuberculosis* por coloración de Ziehl Neelsen y cultivo en Lowenstein-Jensen. La búsqueda de *Leptospira interrogans* se realizó en cortes histológicos de corazón, pulmón, riñón e hígado, mediante IA, IHQ e IFI-ag.

Resultados

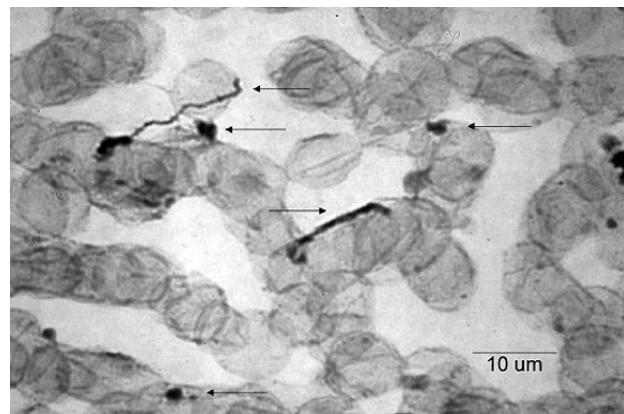
El EGO mostró: orina icterica, Hb++, proteínas++++, bilirrubina+++. En la química sanguínea las bilirrubinas estuvieron muy aumentadas: bilirrubina total 30.18 mg/dL (límites normales 0.2 a 1.0 mg/dL); bilirrubina directa 23.68 mg/dL (límites normales 0 a 0.2 mg/dL), bilirrubina indirecta 6.50 mg/dL (límites normales 0 a 1.0 mg/dL), sólo se realizaron dos pruebas de funcionamiento hepático con los siguientes resultados: GOT/AST 125 U/L (normales 5 a 40 U/L) y GPT/ALT 121 U/L (normal de 10 a 60U/L). El ultrasonido de hígado mostró hepatopatía difusa. La radiografía y la tomografía de tórax mostraron una cardiomegalia grado IV (Figura 1) el ecocardiograma mostró dilatación pancavitaria. El panel para hepatitis viral fue negativo, al igual que las pruebas para hepatitis autoinmune. La biopsia hepática sólo mostró colestasis centrolobulillar intensa. La HAI para *T. cruzi* fue positiva 1:16, pero la ELISA, la IFI y el hemocultivo fueron negativos. En la vdgnCO de orina y sangre, se encontraron numerosas leptospiras. Asimismo, la serología por MAT fue positiva a títulos bajos para *L. interrogans* serovariedad Pomona (1:80). La IA, IHQ y la IFI-ag en esos fluidos biológicos fueron positivas (Figuras 2, 3, 4, 5).

Figura 3. Aglomeración de leptospiras impregnadas con plata (Warthin-Starry), en orina del paciente con leptospirosis crónica agudizada.



El paciente falleció y los patólogos le realizaron los siguientes diagnósticos anatopatológicos: cardiomiotía dilatada idiopática, fibrosis hepática intersticial extensa, colestasis de predominio centrolobulillar y ascitis. Ese mismo departamento descartó miocardiopatía chagásica por no encontrar parásitos, imagen histopatológica compatible, pero observaron imágenes compatibles con tuberculosis miliar en pulmones, riñón, hígado, bazo y ganglios linfáticos, que luego descartaron por no observar *M. tuberculosis* a la tinción de Ziehl-Neelsen, ni desarrollo en medio de cultivo específico. Desafortunadamente en ese momento no se realizó IA, de manera que no se pudo observar a leptospira en estos tejidos, hasta que nuevos estudios fueron realizados años después, merced a un convenio interdepartamental para el estudio de cadáveres que murieron de cuadros clínicos compatibles de leptospirosis, diagnosticados antes de morir por nuestro laboratorio mediante vdgnCO de sangre y orina, junto con IHQ e IFI-ag para detección de antígeno circulante. Dos meses después de la muerte, el cultivo en medio EMJH se desarrolló a cepa, la cual fue caracterizada como *Leptospira interrogans* serovar Pomona, por el Laboratorio de

Figura 4. Leptospirosis en sangre, detectadas mediante inmunohistoquímica. Las flechas señalan leptospirosis típicas y formas granulares.



Referencia en Leptospirosis de la Habana, Cuba. Años después, cuando se nos facilitaron sus tejidos, en los cortes histopatológicos de corazón (**Figura 6**), pulmón, riñón e hígado, observamos leptospirosis con las diversas técnicas estudiadas.

Discusión

A pesar de que la gran cardiomegalia y la insuficiencia cardíaca sugerían enfermedad de Chagas, ésta fue descartada, pese a que una prueba serológica anti-*T. cruzi*, la hemaglutinación indirecta fue positiva, pero las otras dos: la IFI y la ELISA fueron negativas, lo que sugiere sólo cruce inmunológico.^{3,17,22,23} Además el paciente, aunque nació en el estado de Guanajuato, aún lactante, fue llevado a residir en la Ciudad de México, donde no existe transmisión vectorial de este parásito, nunca viajó a zonas endémicas, no fue hemotransfundido, su serología fue negativa y no hubo desarrollo de *T. cruzi* en cultivo.^{17,22,23} En cambio habitó una vivienda llena de ratas, donde probablemente adquirió la leptospirosis, tampoco se encontraron parásitos en los tejidos e histopatológicamente no se observaron imágenes sugestivas de miocardiopatía chagásica.

Por otro lado, después de descartar hepatitis viral y hepatitis autoinmune como causas de daño hepático y síndrome ictérico, así como tuberculosis de pulmón, riñón, bazo y ganglios linfáticos y haber demostrado la presencia de leptospirosis en sangre y orina, primero, mediante vdgnCO y más tarde por IA, IHQ e IFI-ag, además de obtener el desarrollo de *Leptospira* en el medio de cultivo, hecho que demuestra incontrovertiblemente la etiología de un padecimiento, esta bacteria resultó ser el agente etiológico, no sólo de la hepatopatía y de las lesiones en pulmón, riñón y otros órganos, sino también de la miocardiopatía con cardiomegalia grado IV, que los anatomo-patólogos venezolanos han descrito como miocardiopatía rural crónica endémica no chagásica o miocardiopatía *venezuelensis*^{NOVOA}, a la que en un principio consideraron chagásica, pero a la que le descartaron más tarde tal etiología, al no observar la desnervación del miocardio, ni señales de parásitos y por no haber encontrado signos de otros agentes etiológicos, le atribuyeron una etiología

Figura 5. Leptospirosis en sangre, detectadas mediante inmunofluorescencia indirecta. Las flechas señalan leptospirosis completas y antígeno granular.

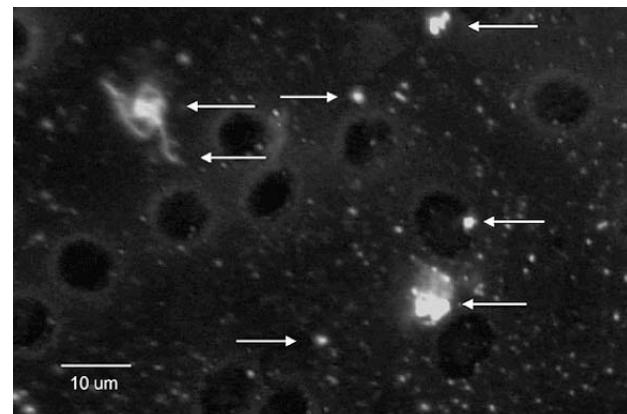
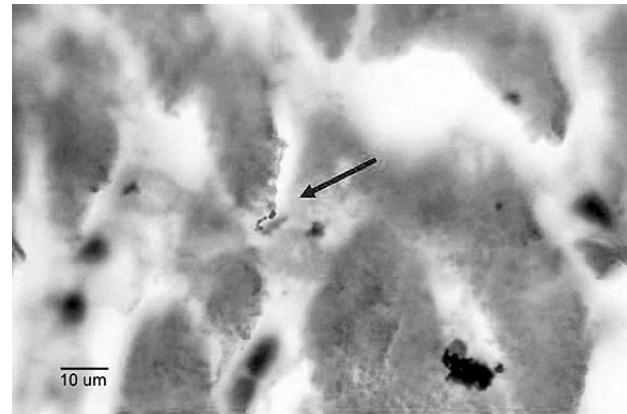


Figura 6. Leptospirosis en un corte histológico del corazón del paciente, teñida por Warthin-Starry.



viral, lo que posiblemente en muchos casos puede ser así, pero en el nuestro, sin ninguna duda, se debió a *Leptospira interrogans*.

Asimismo, aunque en nuestro medio no se considera a la leptospirosis como causa de miocarditis intersticial ni tampoco de otros tipos, existen muchas evidencias de que esta bacteria afecta frecuentemente al corazón causando miocarditis y por lo tanto, puede simular miocardiopatía chagásica y algunas o muchas de esas "miocarditis idíopáticas", reportadas en las autopsias^{13-16,24-31} son causadas por *Leptospira* como ocurrió en nuestro caso, en el cual detectamos a esta bacteria en éste y otros órganos (**Figura 6**), por lo que aventuramos la hipótesis de que esta espiroqueta puede ser la causa de la miocarditis crónica rural no chagásica o miocarditis *venezuelensis*, sólo que no ha sido buscada histopatológicamente. Además como se ha observado en múltiples ocasiones, el daño pulmonar, esplénico y de ganglios linfáticos, pueden ser causados por esta misma bacteria,^{25,27,30-35} y no por tuberculosis, como sugirió la observación histopatológica previa, descartada poco después por la negatividad a la coloración de Ziehl-Neelsen y por la ausencia del desarrollo de *M.*

tuberculosis en los medios de cultivo específicos. Asimismo, la colestasis centrolobulillar observada en cortes de hígado es común en leptospirosis grave.³⁶

Finalmente, se puede afirmar que la vdgnCO, la IA en vida y en la necropsia, la IHQ, la IFI-ag y particularmente el aislamiento de *Leptospira interrogans*, no dejan duda acerca de la etiología de esta enfermedad.

Conclusiones

Después del análisis de este caso y por nuestra experiencia en centenares de enfermos de leptospirosis y en presencia de factores de riesgo epidemiológicamente importantes como la exposición elevada y continua a roedores y a otros animales, se debe considerar a *Leptospira interrogans* como uno de los agentes potenciales en la etiología de miocardiopatía dilatada no chagásica y como un posible agente etiológico de la cardiopatía crónica endémica rural no chagásica o miocardiopatía *venezuelensis*,^{16,24-31} por lo que se sugiere a los investigadores de la enfermedad de Chagas, a los cardiólogos, a los patólogos y a muchos otros especialistas, pensar en ella, particularmente cuando no se haya podido confirmar la etiología de la cardiopatía, como sucedió en este caso, ya que antes de que los patólogos conocieran el aislamiento de la bacteria, habían realizado diagnóstico de miocardiopatía dilatada idiopática.

Bibliografía

1. UNDP/World Bank/WHO: Special programme for research and training in Tropical Diseases. Chagas Brazil, reduction of 97% in Chagas disease. TDR News 1997; 52:2
2. PAHO/WHO: Informe final de la XII^a Reunión Intergubernamental del Cono Sur para la Eliminación de *Triatoma infestans* y la intervención de la transmisión transfusional de la tripanosomiasis americana (INCONOSUR/Chagas) Santiago de Chile, Chile, Mzo. 2003. OPS/DPC/CD/270103.
3. Mendoza-González JA, Miranda LE, Velasco-Castrejón O, Tinoco O, Maciel Pérez MJ: Cardiopatía Chagásica Crónica. Presentación de 60 casos. Arch Inst Cardiol Mex 1995; 65:546-550.
4. Pifano F, Benaim-Pinto H: La miocarditis crónica en Venezuela. Estudio analítico del problema etiológico en el medio rural Venezolano. Arch Venez Patol Trop Parasit Med 1963; 2:223-234.
5. Puigbo J, Valecillos R, Giordano R, Suarez I, Aparicio JM: Diagnosis of Chagas Cardiomyopathy by non invasive techniques. Post Grad Med J 1977; 53:527-532.
6. Zeledon R, Solano G, Burstin L, Swartzwelder JC: Epidemiological pattern of Chagas disease in an endemic area of Costa Rica. Am J Trop Med Hyg 1975; 24:214-225.
7. Maguire JH, Mott KE, Hoff R, Guimarez A, Franca JT, Sherlock JA: The three years follow-up study of infection with *T. cruzi* and electrocardiographic abnormalities in a rural community in Northeast Brazil. Am J Trop Med Hyg 1982; 31:42-47.
8. Cortez JM, González HJA, Reyes PA, Velasco-Castrejón O: La miocardiopatía chagásica en México. Arch Inst Cardiol Mex 1986; 56(6):499-505.
9. Novoa Montero D: Miocardiopatía crónica endémica rural venezolana ¿chagásica? Mérida, Venezuela. Consejo Público. Consejo desarrollo científico, humanístico y tecnológico. Universidad de los Andes. 1985; pp 244.
10. Blackburn H, Keys A, Simonson E, Rautaharju P, Punyar S: The electrocardiogram in population studies, a classification system. Circulation 1960; 21:1160-1175.
11. Jaffe R: Sobre la miocarditis crónica como causa de muerte en Venezuela. Bol Hosp 1937; 36:112-126.
12. Jaffe R: Chronische myokarditis in Venezuela. Schwers Z Allg Path 1944; 18:942-946.
13. Kozma C, Jaffe R, Jaffe W: Estudo experimental sobre a patogenia das miocarditis. Arq Bras Cardiología 1960; 13:151-160.
14. Kozma C, Drayes B: Estudios inmunopatológicos en diversas cardiopatías. Gac Med Caracas 1961; 7:251-264.
15. Salfelder K: Miocarditis de etiología desconocida. Rev Poli Clin Caracas 1953; 22:127-129.
16. Velasco-Castrejón O, Rivas-Sánchez B, Rivera-Reyes HH: Leptospirosis Humana Crónica. Narro-Robles J, Rivero SO, López BJJ, Diagnóstico y Tratamiento en la Práctica Médica. 3a ed, México DF. Ed. El Manual Moderno 2007, p. 701-711.
17. Velasco-Castrejón O, Rivas-Sánchez B, Espinoza J, Martínez HE: Diagnóstico de leptospirosis crónica, comparación entre la aglutinación microscópica y 3 técnicas diagnósticas confirmatorias. Rev Cubana Med Trop [On line]. 2007 Abr [citado 2008 agosto 2]; 59(1): Disponible en: http://scielo.prueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602007000100002Ingr=es&nrm=iso.
18. Velasco-Castrejón O, Guzman-Bracho C, Cruz RJ, López O, González F: La Enfermedad de Chagas. México DF. Publicación Técnica del INDRE No. 8, 1991; pp. 56-91.
19. Faine S: Guidelines for the control of leptospirosis, WHO. Melbourne, Australia, 1982; pp 171.
20. Velasco-Castrejón O, Rivas-Sánchez B. VECOVISION, un nuevo método imagenológico para el diagnóstico definitivo de leptospirosis. International Scientific Meeting of Leptospirosis, 2001. Habana, Cuba. Rev Cubana Med Trop 2002; 54:78-80.
21. Bartholomew JW. Stains for microorganisms in smears. In. Clark George editor. Staining Procedures. 4th ed. USA, Williams & Wilkins. 1981; 409-410.
22. Javois Lorette C: Immunocytochemical methods and protocols. 2nd edition. Totowa, New Jersey, USA. Ed Humana Press. 1999; p.77-93.
23. Guzmán-Bracho C, García-García L, Floriani VJ, Guerrero MS, Velasco-Castrejón O, et al: Riesgo de transmisión de *Trypanosoma cruzi* por transfusión de sangre en México. Rev Panam Salud Publ 1998; 4:94-99.
24. Velasco-Castrejón O, Valdespino JL, Tapia CR, Salvatierra B, Guzmán-Bracho C: Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. Salud Publ Méx 1992; 34:186-196.
25. Novoa Montero D. ¿Cardiopatía crónica endémica rural chagásica, o crónica común en chagásicos y no chagásicos? Rural endemic chronic cardiopathy or common cardiopathy among chagasic and non chagasic people? Rev Soc Ven Microbiol 2002; 22:188-198.
26. Rajin C, Manjuran RJ, Sudhayakumar N, Haneef M: Cardiovascular involvement in leptospirosis. Indian Heart J 1996; 48:691-694.
27. Coursin DB, Updike SJ, Mak DG: Massive rhabdomyolysis and multiple organ dysfunction syndrome caused by leptospirosis. Intensive Card Med 2000; 26:808-812.
28. Brito de T, Morais CF, Yasuda PH, Lancellotti CP, Hoshino S, Yamashiro E: Cardiovascular involvement in human and experimental leptospirosis pathologic findings and immunohistochemical detection of leptospiral antigen. Ann Trop Med Parasitol 1987; 81:207-214.
29. Arean V: The Pathologic Anatomy and Pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease). Am J Pathol 1962; 40:393-414.
30. Watt G, Padre LP, Tuazon M, Calubaquib C: Skeletal and cardiac muscle involvement in severe late leptospirosis. J Infect Dis 1990; 62:266-269.
31. Mel'nik GV, Degtjar' LD, Andreev RE: Cardiovascular function in leptospirosis convalescents. Ter Arkh 1999; 71:32-34.

32. Kirchner GI, Krug N, Bleck JS, Fliser D, Manns MP, Wagner S: Fulminant course of leptospirosis complicated by multiple organ failure. *Z Gastroenterol* 2001; 39:587-592.
33. Salkade HP, Divate S, Deshpande JR, Kawishwar V, Chaturvedi R, et al: A study of autopsy findings in 62 cases of leptospirosis in a metropolitan city in India. *J Postgra Med* 2005; 51(3): 169-173.
34. Nicodemo AC, Duarte MIS, Alves VAF, Takakura CFH, Santos RTM, Nicodemo EL: Lung lesions in human leptospirosis: microscopic, immunohistochemical and ultrastructural features related to thrombocytopenia. *Am J Trop Hyg* 1997; 56(2):181-187.
35. Carvalho de JE, Marchiori E, Guedes e Silva JB, Netto BA, Tanares W, de Paula AV: Pulmonary compromise in leptospirosis. *Rev Soc Med Trop* 1992; 25:21-30.
36. Allen P, Raftery S, Phelan D: Massive pulmonary haemorrhage due to leptospirosis. *Intensive Care Med* 1989; 15:322-324.
37. Poh SC, Soh CS: Lung manifestation in leptospirosis. *Thorax* 1970; 25:751-754.
38. Dooley JR, Ishak GK: Leptospirosis in diseases caused by spirochetes. *Pathology of tropical and extraordinary diseases. An Atlas. Vol.1.* (AB Binford Ch and Connor eds). Washington, USA. Armed Forces Inst of Pathol. 1976; p. 101-106.