

UNIVERSITETI I MJEKËSISË, TIRANË

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANË
FAKULTETI I MJEKËSISË

DISERTACION
PËR MBROTJEN E GRADËS SHKENCORE
“DOKTOR”

i paraqitur nga

ELA ALI

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE
“DOKTOR”

TEMA: NJË STUDIM SERO-EPIDEMIOLOGJIKO-DIAGNOSTIK I
LEPTOSPIRA SPP SI NJË NGA SHKAKTARËT E GJËNDJEVE FEBRILE
NË PACIENTËT E HOSPITALIZUAR NË QSUT NË NJË SHTRIRJE
KOHORE 2006-2016

Disertant:

ELA ALI

Udheheqës Shkencor:

Prof. Dr. LINDA FUGA

Tiranë 2022



UNIVERSITETI I MJEKËSISË, TIRANË

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANË
FAKULTETI I MJEKËSISË

DISERTACION
I PARAQITUR NGA
Dr. ELA ALI

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE

DOKTOR

TEMA: NJË STUDIM SERO-EPIDEMIOLOGJIKO-DIAGNOSTIK I
LEPTOSPIRA SPP SI NJË NGA SHKAKTARËT E GJËNDJEVE FEBRILE
NË PACIENTËT E HOSPITALIZUAR NË QSUT NË NJË SHTRIRJE
KOHORE 2006-2016

PASQYRA E LËNDËS	FAQE
Lista e tabelave	iv
Lista e figurave	vi
Lista e grafikëve	vii
Shkurtime	ix
Abstract	x
Abstrakt	xi
Falenderimet	xii
Qëllimi dhe objektivat	xiii
Hyrje	xv
KAPITULLI I	1
1. Konsiderata Teorike	1
1.1 Leptospira specie	1
1.2 Mikrobiologjia e <i>Leptospira spp</i>	1
1.2.1 Morfologjia	1
1.2.2 Taksonomia	3
1.2.2.1 Klasifikimi serologjik	3
1.2.2.2 Klasifikimi sipas gjenotipit	4
1.3 Epidemiologjia	6
1.3.1 Barra Globale e Leptospirozës	7
1.3.2 Situata Epidemiologjike në Europë	9
1.4 Burimi dhe rrugët e infektimit	12
1.5 Patologjia	14
1.5.1 Patogjeneza	15

1.6 Karakteristikat Klinike të Leptospirozës	18
1.6.1 Leptospiroza anikterike	19
1.6.2 Leptospiroza ikterike	21
1.6.3 Implikimi okular	22
1.6.4 Komplikacione të tjera	22
KAPITULLI II	24
2. Diagnoza Laboratorike	24
2.1 Teste laboratorike të përgjithshme	24
2.2 Paraqitje Mikroskopike	25
2.3 Kultivimi	26
2.3.1 Izolimi i Leptospirave	27
2.3.2 Identifikimi i izolateve të Leptospirave	27
2.3.3 Testet e ndjeshmërisë	28
2.4 Diagnoza serologjike	28
2.4.1 Zbulimi i antigenëve	29
2.4.2 Testi i aglutinit mikroskopik (MAT)	29
2.4.3 Testet e tjera serologjike	33
2.5 Aplikimi i Biologjisë Molekulare në diagnozën e Leptospirozës	34
2.5.1 Diagnoza Molekulare	35
2.5.2 Tipizimi Molekular	35
KAPITULLI III	37
3. Trajtimi dhe Imunizimi	37
3.1 Trajtimi	37
3.2 Imuniteti	39

3.3 Imunizimi	40
KAPITULLI IV	41
4 Materiali dhe Metodat	41
4.1 Materiali	41
4.2 Metodat	42
4.3 Testi i aglutinimit mikroskopik (MAT)	50
4.4 Analiza Sasiore e të dhënave	52
KAPITULLI V	55
5. Rezultatet	55
KAPITULLI VI	90
6. Diskutimet	90
Konkluzionet	97
Rekomandimet	101
Referencat	102

LISTA E TABELAVE	FAQE
Tabela 1.1 Klasifikimi shkencor për <i>Leptospira spp</i>	1
Tabela 1.2 Serogrupet dhe disa nga serovaret e <i>L. interrogans</i>	3
Tabela 1.3 Gjenoma e specieve e lidhur me serogrupet	5
Tabela 1.4 Rajonet të cilat raportojnë incidencën e Leptospirozave	8
Tabela 1.5 Incidenca e infeksionit në Europë dhe Ballkan	11
Tabela 2.1 Testet serologjike specifike për gjininë	28
Tabela 4.1 Kriteret e vlefshmërisë së ekzaminimit	48
Tabela 4.2 Interpretimi i rezultateve	50
Tabela 4.3 Shembull i pllakës së titrimit për testin MAT	54
Tabela 5.1 Frekuenca e shpërndarjes së anti- <i>Leptospira</i> IgM dhe IgG	56
Tabela 5.2 Shpërndarja e numrit të rasteve sipas viteve të marra në studim	57
Tabela 5.3 Shpërndarja e rasteve sipas shërbimeve dhe pozitiviteti për secilin prej tyre	59
Tabela 5.4 Sezonaliteti i rasteve të testuara	61
Tabela 5.5 Informacioni lidhur me të dhënat demografike të rasteve të suspektuara dhe atyre pozitive të marra në studim	64
Tabela 5.6 Numri i rasteve sipas viteve 2006-2016 për meshkujt dhe femrat	68
Tabela 5.7 Karakteristikat e burimit të infeksionit	70
Tabela 5.8 Shpërndarja e rasteve sipas profesionit të pacientëve	73
Tabela 5.9 Lloji i ujit që konsumohet	75
Tabela 5.10 Llojet e puseve dhe burimeve	76
Tabela 5.11 Faktorët e rriskut (vazhdim)	78
Tabela 5.12 Të dhënat lidhur me shenjat klinike të referuara nga pacientët	81
Tabela 5.13 Shpërndarja e rasteve sipas llojit të organit të prekur në mesin e pacientëve	

<i>Leptospira spp</i> pozitiv	83
Tabela 5.14 Analizat biokimike	85
Tabela 5.15 Vdekshmëria e rasteve me <i>Leptospira spp</i>	85
Tabela 5.16 Vdekshmëria sipas gjinisë	86
Tabela 5.17 Tipet e serovareve të evidentuara në vlera titrimi të ndryshme	87

LISTA E FIGURAVE

FAQE

Figura 1.1 Pamje e <i>L. Interrogans</i> me serovar <i>icterohaemorrhagiae</i> me anë të skanimit Elektronik	2
Figura 1.2 Incidenca Vjetore Globale e Leptosirozës Humane	7
Figura 1.3 Rastet e konfirmuara për <i>Leptospira</i> EU/EEA, 2014	10
Figura 1.4 Prevalencë e Leptosirozës në botë	12
Figura 1.5 Cikli jetësor i Leptosirozës	14
Figura 1.6 Pamje e membranës qelizore me elementët e saj përbërëse	17
Figura 1.7 Natyra bifazike e leptosirozës dhe hetimet përkatëse në faza të ndryshme të sëmundjes	19
Figura 1.8 Shenjat dhe simptomat e pacientëve me leptosirozë në pranim në një seri të gjërë rastesh	20
Figura 1.9 Disa nga shenjat fizike të infeksionit	23
Figura 2.1 Ecuria e sëmundjes dhe për zgjedhja e mostrës për testim	25
Figura 2.2 Përgjigjja imune paradoksale gjatë infeksionit akut me serovarim bim	31
Figura 4.1 Rritja e titrit të IgM dhe IgG nga marrja e infeksionit	43
Figura 4.2 Paraqitja skematike e testit ELISA	45
Figura 4.3 Paraqitja skematike e hedhjes së solucionëve dhe serumeve në pllakën ELISA	
Figura 4.4 Kurbat e leximit për antitruapat IgG & IgM	46
Figura 4.5 Paraqitja skematike e hedhjes së solucionëve dhe serumeve në pllakën ELISA NOVATEC	49
Figura 4.6 Skema e përdorimit të testit MAT	55
Figura 4.7 Mikroaglutinimi i serumit bazuar në hollime të ndryshme	55
Figura 5.1 Harta e shpërndarjes së rasteve pozitive sipas qyteteve	88

LISTA E GRAFIKËVE	FAQE
Grafiku 5.1. Prevalenca e <i>Leptospira spp</i> në pacientët e hospitalizuar	55
Grafiku 5.2. Përqindja e rasteve pozitive për <i>Leptospira spp</i> IgM dhe IgG në pacientët e hospitalizuar	56
Grafiku 5.3 Shpërndarja e rasteve sipas numrit total të rasteve suspekte për <i>Leptospira spp</i>	58
Grafiku 5.4 Prevalenca e <i>Leptospira spp</i> për vitet 2006-2016	58
Grafiku 5.5 Shpërndarja e rasteve bazuar në shërbimet përkatëse	60
Grafiku 5.6 Pozitiviteti i Infeksionit të shkatuar nga <i>Leptospira spp</i> sipas sezoneve	62
Grafiku 5.7 Pozitiviteti sipas gjinisë	62
Grafiku 5.8 Pozitiviteti sipas grupmoshave	63
Grafiku 5.9 Pozitiviteti sipas vendbanimit të pacientëve	65
Grafiku 5.10 Pozitiviteti sipas nivelit arsimor	66
Grafiku 5.11 Pozitiviteti sipas statusit të punësimit	67
Grafiku 5.12 Numri i rasteve në total dhe pozitiviteti për vitet 2006-2016 për femrat	68
Grafiku 5.13 Numri i rasteve dhe pozitiviteti për vitet 2006-2016 për meshkujt	69
Grafiku 5.14 Pozitiviteti sipas tipit të kontaktit	71
Grafiku 5.15 Pozitiviteti sipas rrugëve të mundshme të infeskionit	71
Grafiku 5.16 Pozitiviteti; Kafshët si burim ekspozimi	72
Grafiku 5.17 Pozitiviteti sipas profesionit	74
Grafiku 5.18 Lloji i ujit që konsumohet	76
Grafiku 5.19 Llojet e puseve dhe burimeve të përdorur	77
Grafiku 5.20 Pozitiviteti për kontaktet me hapsirat ujore	79
Grafiku 5.21 Pozitiviteti sipas kushteve të banimit	79
Grafiku 5.22 Pozitiviteti sipas ambjentit ku banon	80

Grafiku 5.23 Pozitiviteti sipas pranisë së tualeteve	80
Grafiku 5.24 Pozitiviteti sipas kanalizimeve	80
Grafiku 5.25 Shpërndarja e shenjave klinike në pacientët që kanë rezultuar pozitiv me <i>Leptospira spp</i>	82
Grafiku 5.26 Shpërndarja e rasteve sipas organit të prekur nga <i>Leptospira spp</i>	84
Grafiku 5.27 Vdekshmëria e rasteve të infektuara me <i>Leptospira spp</i>	86
Grafiku 5.28 Shpërndarja e rasteve sipas serovareve	87

SHKURTIMET

<i>Leptospira spp</i>	<i>Leptospira species</i>
EMJH	Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris
WHO	World Health Organization
LERG	Leptospirosis Epidemiology Reference Group
EU/ EEA	European Union/European Economic Area.
LPS	Lipopolisaharidet
SNQ	Sistemit Nervor Qendror
OMPs	Proteina të membranës së jashtme
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
IRA	Insufiçencës renale akute
EKG-së	Elektrokardiograma
LCS	Likidi Cerebro Spinal
MBC	Minimal Bactericid Concentration
MIC	Minimal Inhibior Concetration
MAT	Testi i Aglutinimit Mikroskopik
RIA	Radioimunotesti
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CSF	Cerebrospinal Fluid
PFGE	Pulsed-Field Gel Electrophoresis
REA	Restriction Endonuclease Analysis
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
PCR	Polimerase Chain Reaction
ADN	Acid Deoksiribonukleik
OBSH	Organizata Botërore e Shëndetësisë
IFA	Immunofluorescence Assay
EIA	Enzyme Immunoassay
anti-IgG	anti Imunoglobulina G
anti-IgM	anti Imunoglobulina M
TNF- α	Faktori i nekrozës tumorale α

ABSTRACT

Introduction

Leptospirosis is an important public health problem worldwide and also in Albania. Human infection caused by *Leptospira spp* usually occurs through direct or indirect exposure to urine of an infected animal. Infection is often ascribed to occupational/recreational exposures mainly associated with male gender.

Methods

This is a laboratory-based descriptive study of patients clinically suspected for Leptospirosis. Sera from febrile patients suspected for Leptospirosis were tested in Institute of Public Health, Tirana Albania, during the periods 2006-2016. Seras were screened by ELISA test for antibodies IgM and IgG and MAT. Socio-demographic data were collected through a questionnaire and were analysed with SPSS program.

Results

We have analyzed 702 clinically suspected cases for leptospirosis in ten years. During the period 2006-2016 the prevalence of Leptospirosis resulted 30.8% (216/702), with an average of 19.6 cases/year (ranges of cases/years was 9 to 34), the year 2010 result the most prevalent year with 43.6% positive cases. The number of positive males were 183 (84.7%) and female were 13 (9.3%). Male were 2.63 times in risk for *Leptospira* infection compared to female. There was found a significance level between the men and diseases for CI 95% [1.56-4.35], p value 0.0003. The most predominant age groups were 45-54 years. The average age was 51±5.6 years with range from 15 to 82 years old. In positive cases, the fatality prevalence resulted 11.6%. The most prevalent serovar identified by MAT was *L. interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* (5/20sera). Serovaret *Grippityphosa*, *Sejroe*, *Pomona* was identified in 4 patients respectively. Serovar *Copenhagen* was identified in 2 patients and *Canicola* in 1 patient.

Conclusion

This retrospective study reveals a marked increase of cases, so Leptospirosis should receive the attention of the health authorities. We need to increase the access to more sensitive diagnostic tests needed to complete a final confirmed diagnose and provide information about circulating serovars in Albania.

ABSTRAKT

Prezantimi

Leptospiroza është një problem i rëndësishëm i shëndetit publik në mbarë botën gjithashtu dhe në Shqipëri. Njerëzit infektohen nga *Leptospira spp* zakonisht nëpërmjet ekspozimit të drejtpërdrejtë ose të tërthortë ndaj urinës së një kafshe të infektuar. Infeksioni shpesh i atribuohet ekspozimeve për shkak të profesionit apo argëtimit dhe hasen më së shumti tek meshkujt.

Metodat

Ky është një studim deskriptiv i bazuar në rezultatet e testeve laboratorike tek pacientët e dyshuar klinikisht për Leptospirozë. Serumet e pacientëve febrilë të dyshuar për Leptospirozë janë testuar në Institutin e Shëndetit Publik, Tiranë, gjatë periudhës 2006-2016. Testimi i Serumeve u bë me testin ELISA për antitruapat IgM dhe IgG dhe MAT. Të dhënat socio-demografike u mblodhën me anë të pyetësorit dhe u analizuan me programin SPSS.

Rezultatet

Ne kemi analizuar 702 raste klinikisht të dyshuara për leptospirozë në dhjetë vjet. Gjatë periudhës 2006-2016 prevalenca e Leptospirozës rezultoi 30.8% (216/702), me një mesatare prej 19.6 raste/vit (vargu i rasteve/vit ishte 9 deri në 34), viti 2010 rezulton viti më i përhapur me 43.6% rastet pozitive. Numri i meshkujve pozitivë ishte 183 (84.7%) dhe femrave 13 (9.3%). Meshkujt ishin 2.63 herë në rrezik për infeksion nga *Leptospira* krahasuar me femrat. U gjet një nivel i rëndësishëm midis meshkujve dhe sëmundjeve për CI 95% [1,56-4,35], vlera p 0,0003. Grupmoshat më mbizotëruese ishin 45-54 vjeç. Moshë mesatare ishte 51±5.6 vjeç me një shtrirje nga 15 deri në 82 vjeç. Në rastet pozitive, prevalenca e fatalitetit rezultoi 11.6%. Serovari më i përhapur i identifikuar nga MAT ishte *L. interrogans* serovari *icterohaemorrhagiae* (5/20 sera). Serovaret *Grippityphosa*, *Sejroe*, *Pomona* u identifikuan përkatësisht në 4 pacientë. Serovar *Copenhagen* u identifikua në 2 pacientë dhe *Canicola* në 1 pacient.

Konkluzioni

Ky studim retrospektiv zbulon një rritje të theksuar të rasteve, ndaj Leptospiroza duhet të marrë vëmendjen e autoriteteve shëndetësore. Duhet të rrisim aksesin ndaj testeve diagnostikuese më të ndjeshme, të nevojshme për të arritur një diagnozë përfundimtare të konfirmuar dhe për të dhënë informacion për serovarët që qarkullojnë në Shqipëri.

FALENDERIME

Paraqitja e këtij Dizertacioni shënon për mua përfundimin me sukses të ciklit të tretë të studimeve të doktoraturës pranë Universitetit të Mjeksisë, Fakultetit i Mjeksisë, Tiranë. Për këtë arsye dëshiroj të Falenderoj dhe të shpreh mirënjohjen time të thellë për gjithë profesorët e mi gjatë këtyre viteve të studimit.

Falenderoj Prof. Dr. Linda Fuga, për mundësinë dhe ndihmesën që më dha për të filluar rrugëtimin e bukur dhe të gjatë të studimeve të doktoraturës dhe ndihmesën në zgjidhjen dhe realizimin e këtij punimi shumë vjeçar.

Një falenderim i veçantë shkon për të gjithë kolegët dhe drejtuesit e Institutit të Shëndetit Publik për suportin dhe gadishmërinë e dhënë për realizimin e këtij punimi.

Ky Disertacion është rezultat i një pune të gjatë, të lodhshme por edhe të bukur njëkohësisht e cila u mbështet dhe u inkurajua nga bashkëshorti dhe fëmijët e mi. Ata kanë qenë dhe janë frymëzimi im më i madh në jetë.

Mirënjohje pa fund për bashkëshortin tim Dritan Ali, i cili më inkurajonte dhe më suportoi përgjatë këtyre viteve duke u bërë një mbështetës shumë i madh për mua dhe për këtë arsye unë gjej rastin t’u falenderoj me gjithë zemër.

HYRJE

Leptospiroza është një sëmundje që prek njerëzit dhe kafshët. Kjo sëmundje infekte shkaktohet nga bakteret patogjene spiroket të gjinisë *Leptospira*. Është përshkruar për herë të parë në 1886 nga një mjek gjerman Adolf Weil, ku ai raportoi një "sëmundje akute infektive me zmadhim të shpretkës, ikter dhe nefrit.". Emrin kjo sëmundje e mori pikërisht nga këto simptoma. Përpara përshkrimit të Weil, në një tekst të lashtë kinez kjo sëmundje njihej si "verdhëza e fushës së orizit", "ethet e vjeshtës", "verdhëza e zezë", etj.

Leptospira u vëzhgua për herë të parë në vitin 1907 nga Arthur Stimson në një prerje të indit të veshkave pas vdekjes së pacientit duke përdorur teknikën e ngjyritimit me argjend. Ai e quajti organizmin *Spirocheta interrogans* sepse bakteret ngjanin me formën e pikëpyetjejes.

Bakteret e *Leptospira spp.* infektojnë një shumëllojshmëri kafshësh, ku futen gjitarët, zogjtë, amfibët dhe reptilët. Leptospiroza konsiderohet si zoonoza më e përhapur në botë dhe më së shumti lidhet me kushtet jo të mira higjienosantare, praktikimin e agrikulturës ku kemi bashkëshoqërim edhe të kontaktit me kafshët apo ujrat. Tendencat e reja për udhëtimet aventurore apo sporte në ujë ose baltë, si dhe kontakti me dheun rrisin rrezikun për ekspozim ndaj këtij bakteri. Konsiderohet se aktivitetet argëtuese janë shkak për 30-50% të infeksioneve tek njerëzit.

Speciet që shërbejnë si rezervuar ekskretojnë *Leptospira* në urinë duke u bërë burim infeksioni. Profesionet me rrezik më të lartë infektimi ngelen bujqit, punëtorët e fermave, kasapët, zhytësit, pastruesit e kanaleve, minatorët, personat që peshkojnë, ushtarët, etj.

Ka rëndësi të theksohet se prezenca e personave në zonat endemike për këtë infeksion është faktor i rëndësishëm risku. Rajonet me rreshje të shumta dhe temperatura tropikale apo subtropikale duhen të konsiderohen si ambiente me risk të lartë ekspozimi.

Leptospiroza është një sëmundje me potencial epidemik, veçanërisht pas reshjeve të shumta të shiut ose përmytjeve. Shpërthime të lidhura me këto dukuri natyrore janë raportuar në shumë vende të botës.

Sipas OBSH, incidenca globale e Leptospirozës raportohet 1.03 (95% CI 0.43–1.75) milion raste çdo vit. Kjo sëmundje është raportuar si ndër shkaqet kryesore të sëmundshmërive zoonotike në botë si edhe shkaktar vdekshmërie me një nivel të lartë.

Numri i vdekjeve të vlerësuara (58,900; 95% CI 23,800-95,900) që i atribuohen leptospirozës i afrohet ose i tejkalon dhe numrin e vdekshmërisë të ndodhur nga shkaqet e etheve hemorragjike të cilat janë raportuar në Studimin e Barrës Globale të Sëmundjeve në 2010.

Klinika e Leptospirozës varion nga një paraqitje e lehtë e ngjashme me një infeksion viral, deri në një sindrom multisistemik me instalim të shpejtë të shenjave si temperaturë e lartë (38-40⁰ C), ethe, dhimbje koke, dhimbje muskujsh, sufuzion konjunktival, kollë, nause, diarre. Leptospiroza ka një paraqitje klinike bi-fazike, me fillimin e ngjashëm me gripin ku gjendja septicemike ndiqet nga një fazë e dytë inflamatore. Më pas mund të marrë karakteristikat e Sindromit të Përgjigjes Inflamatore Sistrike (Systemic Inflammatory Response Syndrom-SIRS) apo stuhi e citokinave. Forma e rëndë është forma ikterike ku paraqitet ikter, insufiçencë renale, ndërlikime hemorragjike, sindromë inflamatore sistrike ose shok.

Prekja e organeve dhe komplikacionet e rënda duhet të ndiqen nëpërmjet monitorimit të formulës së gjakut, funksioneve renale, hepatike, analiza e LCS-së, radiografi e kraharorit, elektrokardiogramë, etj.

Trajtimi me antibiotikë për formën e lehtë është pothuaj i panevojshëm, kurse në rastet e rënda me komplikacione trajtimi duhet bërë spitalor me antibiotikë dhe terapi supportive, si dhe menaxhim të kujdesshëm të veshkave, heparit, hematologjik si dhe atyre të SNQ.

Për diagnozën e Leptospirozës janë prodhuar një sërë teknikash diagnostike nga ato më të thjeshtat dhe të përdorshme deri në nivel molekular. Më të përdorshmet janë testet serologjike ELISA dhe MAT dhe testet molekulare PCR.

QËLLIMI DHE OBJEKTIVAT

Vlerësimi i prevalencës së infeksionit të shkaktuar nga bakteret siproket të gjinisë *Leptospira* me anë të metodave laboratorike si dhe gjetja e faktorëve epidemiologjik të rrishtit për këtë infeksion përgjatë viteve 2006-2016.

Ky qëllim është realizuar bazuar në këto objektiva;

1. Analizimi i rasteve të suspektuara për të konfirmuar diagnozën e dyshuar.
2. Vënia në pah e dallimit gjinor si dhe identifikimi i grupmoshës më të rrezikuar nga infeksioni *Leptospira*.
3. Lidhje e përfundimeve laboratorike me shenjat klinike më të hasura në simptomatologjinë e referuar nga shërbimet e qendrave spitalore.
4. Korrelacionet e mundshme ndërmjet të dhënave demografike të vjela nga regjistrat dhe skedat individuale të pacientëve.
5. Korrelacionet ndërmjet faktorëve të rrishtit dhe sëmundshmërisë.
6. Korrelacionet ndërmjet profesioneve dhe pozitivitetit.
7. Përcaktimi i nivelit të vdekshmërisë në rastet e konfirmuara laboratorikisht.
8. Sezonaliteti (faktorët natyror, rreshje, përmytje) i kësaj sëmundje si faktor orientues për pozitivitetin e rasteve të suspektuara.
9. Paraqitja hartografike e rasteve të konfirmuara si pozitive laboratorikisht.

KAPITULLI I

1. KONSIDERATA TEORIKE

1.1 *Leptospira* species

Leptospira (Greqisht *leptos*, "i imët, i hollë dhe" Latinisht *spira*, "spirale") (1). Ky bakter i përket gjinisë spiroket, duke përfshirë një numër të vogël specie patogjene dhe specie saprofite (2). *Leptospira* u pa për herë të parë në 1907 në indet e veshkave të një viktimë të shkatuar nga ky bakter, i cili u përshkrua si rast që ka vdekur nga "ethet e verdha" (3).

Tabela 1.1 Klasifikimi shkencor për *Leptospira* spp

Klasifikimi shkencor	
Filumi:	Spirochaetes
Klasa:	Spirochaetes
Rendi:	Spirochaetales
Familja:	Leptospiraceae
Gjinia:	<i>Leptospira</i> (4)

Sindromi që paraqitet me temperaturë, hemorragji, ikter, zmadhim të mëlçisë dhe shpretkës, dhe me insufiçencë renale u njoh si “Sindromi Weil”.

1.2 Mikrobiologjia e *Leptospira* spp

1.2.1 Morfologjia

Leptospirat janë spiroketa të holla, lehtësisht të harkuara, me përmasa 0,1-6 µm trashësi dhe gjatësi 0,1-20 µm, por ka raste që në kulturë gjejmë qeliza edhe më të gjata. Amplituda e helikës varion 0.1 në 0.15 µm dhe gjatësia e dredhës është rreth 0.5 µm (5). Bakteri ka skaje të mprehta dhe njëri apo të dy mund të kenë formë çengeli (figura 1.1). Në hapësirën periplazmike gjenden dy filamente aksiale (periplasmic flagella) me inserim polar. Proteina flagelare ka strukturë komplekse (6,7). Leptospirat shfaqin dy forma lëvizjeje, lëvizje aktive rrotulluese ose gjarpëruese (8).

Morfologjikisht nuk dallojmë ndryshime mes leptospirave. Leptospirat kanë një membranë me strukturë të dyfishtë siç kanë zakonisht spiroketat, në të cilën membrana citoplazmatike dhe peptidoglikani i murit qelizor janë të lidhura ngushtësisht dhe mbështillen nga një membranë e jashtme. Lipopolysaharidet e leptospirave kanë përbërje të ngjashme me ato të bakteve gram-negative, por aktiviteti i tyre endotoksik është i ulët (9). Leptospirat ngjyrosen me reagentin ngjyryes carbol fuchsin (10).

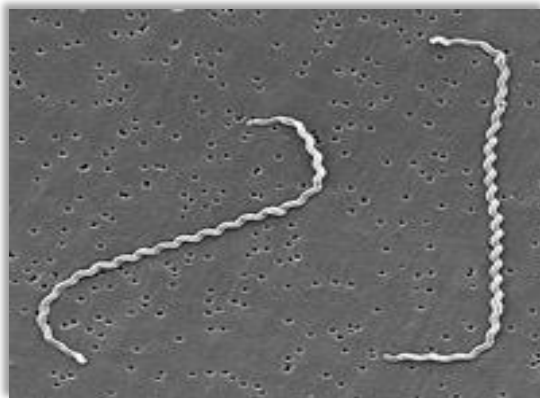


Figura 1.1 Pamje e *L. Interrogans* serovar *icterohaemorrhagiae* me anë të skanimit elektronik (13)

Leptospirat janë aerobë të detyruar apo mikro-aerofilikë. Kanë nevojë esenciale për burime azoti, fosfatesh, kalçiumi, magnezi dhe hekuri. Acidet yndyrore me varg të gjatë shërbejnë si burim i vetëm i karbonit dhe rruga e metabolizimit është β -oxidimi. Ato nuk mund të sintetizojnë acide yndyrore me varg të gjatë me më shumë se 15 atome karbon. Shtamet patogjene kërkojnë praninë e acideve yndyrore të pangopura (11). Rriten mirë në terrene të thjeshta të pasuruara me vitamina (vitamin B₁-thiamina dhe B₁₂-cyanocobalamina, përdoren si faktorë rritjeje), acide yndyrore me varg të gjatë me 15 atome karbon e me shumë, kripëra të amonit). Disa shtame kanë nevojë për shtesë biotine. Komponentë e nevojshëm për rritje janë të përfshirë në terrenin Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH). Temperatura optimale e rritjes është 28-30°C në pH 7.2-7.6. Janë mikroorganizma me rritje të ngadaltë dhe koha e një gjenerate është rreth 20 orë. Kolonitë mund të shihen pas 3-4 javësh në terrenet e ngurta; ndërsa shtamet saprofitë rriten më shpejt (bëhen të dukshme pas 1 jave). Terrenet për *Leptospirat* në përgjithësi nuk përmbajnë agjentë selektivë pasi janë të ndjeshëm ndaj tyre, kështu që kërkohet një kujdes i madh si gjatë inokulimit ashtu edhe gjatë periudhës së inkubimit që zgjat. Ato prodhojnë katalazë dhe oksidazë (12).

1.2.2 Taksonomia

1.2.2.1 Klasifikimi serologjik

Që nga viti 1989, gjinia *Leptospira* u nda në dy specie; *L. interrogans* që përfshin të gjithë shtamet patogjenedhe specien *L. biflexa* që përfshin shtamet saporfite të cilat izolohen në ambient (13). *L. biflexa* diferencohet nga *L. interrogans* pasi ajo rritet në 13°C në prani të 8-azaguanine (225 µg/ml) si dhe pamundësia e *L. biflexa* për të formuar qeliza në formë sferike në tretësirën 1 M NaCl.

Të dyja speciet ndahen në serovare të shumtë bazuar në aglutininimin e bërë pas absorbimit të kryqëzuar me antigenët homologë (14). Janë përcaktuar 60 serovare të *L. biflexa* (11), ndërsa për specien *L. interrogans* njihen mbi 200 serovare. Serovaret të lidhur antigjentikisht janë grupuar në të njëjtin serogrup (15). Serogrupet nuk kanë një klasifikim taksonomik, ato janë përdorur për të ndihmuar studimet e kryera nga ana epidemiologjike. Serogrupet e *L. interrogans* dhe disa nga serovaret më të zakonshme janë paraqitur në tabelën e mëposhtme.

Tabela 1.2 Serogrupet dhe disa nga serovaret e *L. interrogans*

Serogrupet	Serovaret
icterohaemorrhagiae	icterohaemorrhagiae, copenhageni, lai, zimbabwe
Hebdomadis	hebdomadis, jules, kremastos
Autumnalis	autumnalis, fortbragg, bim, weerasinghe
Pyrogenes	pyrogenes
Bataviae	bataviae
Grippotyphosa	grippotyphosa, canalzonae, ratnapura
Canicola	canicola
Australis	australis, bratislava, lora
Pomona	pomona
Javanica	javanica
Sejroe	sejroe, saxkoebing, hardjo
Panama	panama, mangus
Cynopteri	cynopteri
Djasiman	djasiman
Sarmin	sarmin

Mini	mini, georgia
Tarassovi	tarassovi
Ballum	ballum, aroborea
Celledoni	celledoni
Louisiana	louisiana, lanka
Ranarum	ranarum
Manhao	manhao
Shermani	shermani
Hurstbridge	hurstbridge

1.2.2.2 Klasifikimi sipas gjenotipit

Klasifikimi fenotipik i *Leptospirës* është zëvendësuar nga klasifikimi gjenotipik. Ky lloj klasifikimi i bazuar në gjenomën e specieve i përfshin të gjithë serovaret e specieve *L. interrogans* dhe *L. biflexa*. Heterogjeniciteti gjenetik është paraqitur shumë kohë më parë (16), dhe studimet lidhur me hibridizimin e ADN-së çuan në përcaktimin e 10 gjenomave të specieve të *Leptospira* (17).

Më vonë kemi shtimin e gjenomës me një specie të re të quajtur *L. kirschneri* (18). Pas studimeve majft të thelluara dhe gjithëpërfshirëse të qindra shtameve të *Leptospirave*, nga ana e studiuesve të Qendrës së Kontrollit të Sëmundjeve në USA (CDC), janë përcaktuar 16 gjenoma specie të *Leptospirave* të cilat përfshijnë gjenomat e specieve të përcaktuara më parë si dhe janë shtuar edhe 5 gjenoma të specieve të reja njëra prej të cilave është *L. alexanderi*. Por është përshkruar një specie tjetër *L. fainei*, e cila përmban një serovar të ri, *hurstbridge* (19).

Studime të tjera të kohëve të fundit kanë nxjerrë në pah nevojën e e rishikimeve të mëtejshme taksonomike të specieve *Leptospira* (20). Për këtë arsye as përcaktimi i llojeve të ndryshme të *Leptospirave* nuk mund të parashikohet në mënyrë të besueshme sipas serogrupeve apo serovareve (tabela 1.3).

Tabela 1.3 Gjenoma e specieve e lidhur me serogrupet^a

Serogroup	Genomospecies
Andamana	<i>L. biflexa</i>
Australis	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i>
Autumnalis	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i>
Ballum	<i>L. borgpetersenii</i>
Bataviae	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i>
Canicola	<i>L. interrogans</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. kirschneri</i>
Celledoni	<i>L. weilii</i> , <i>L. borgpetersenii</i>
Codice	<i>L. wolbachii</i>
Cynopteri	<i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>
Djasiman	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. kirschneri</i>
Grippotyphosa	<i>L. interrogans</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>
Hebdomadis	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i> , <i>L. alexanderi</i>
Hurstbridge	<i>L. fainei</i>
Icterohaemorrhagiae	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. kirschneri</i>
Javanica	<i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyeri</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. alexanderi</i>
Louisiana	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i>
Lyme	<i>L. inadai</i>
Manhao	<i>L. weilii</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. alexanderi</i>
Mini	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyeri</i> , <i>L. alexanderi</i>
Panama	<i>L. noguchii</i> , <i>L. inadai</i>
Pomona	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>
Pyrogenes	<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i>
Ranarum	<i>L. interrogans</i> , <i>L. meyeri</i>
Sarmin	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i>
Sejroe	<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyeri</i>
Semaranga	<i>L. meyeri</i> , <i>L. biflexa</i>
Shermani	<i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. inadai</i>
Tarassovi	<i>L. noguchii</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. inadai</i>

- a Bazuar në të dhënat e raportuara nga Brenner et al., (21) dhe Perolat et al., (22)

Riklasifikimi i *Leptospirave* mbi baza gjenotipike është një klasifikim taksonomisht i saktë i cili ofron një themel të fortë për klasifikimet në të ardhmen. Klasifikimi molekular nga ana e ve krijon probleme tek mikrobiologët klinik pasi ka një papajtueshmëri të këtij klasifikimi me sistemin e klasifikimit sipas serogupeve të përdorur prej kaq shumë kohësh nga klinikistët dhe epidemiologët. Përveç kësaj, mbajtja e emrave specifik të *L. interrogans* dhe *L. biflexa* në klasifikimin sipas gjenomës krijon një konfuzion në nomenklaturë.

1.3 Epidemiologjia

Leptospiroza supozohet të jetë zoonoza më e përhapur në botë (23). Incidenca është dukshëm më e lartë në vendet me klimë të ngrohtë sesa në ato me klimë të butë (24, 25), kjo pasi leptospirat mbijetojnë më gjatë në ambiente të ngrohta dhe të lagështa. Por shumë nga vendet tropikale janë vende në zhvillim, ku dhe mundësia e ekspozimit të njerëzve ndaj kafshëve të infektuara si gjedhët, kafshët shtëpiake apo kafshët e egra, është më i madh. Sëmundja është me karakter sezonal, incidenca arrin pikun për vendet e buta në periudhën verë-vjeshtë, dhe për vendet e ngrohta në sezonin e shirave.

Raportimet për incidencën e leptospirozës reflektojnë vlefshmërinë e diagnozës laboratorike dhe indeksin e dyshimeve klinike.

Faine (10) ka përcaktuar tre modele epidemiologjike për leptospirozën.

- ✓ Modeli i parë lidhet me vendet me klimë të butë ku gjenden disa serovare që shkaktojnë sëmundje tek njerëzit dhe pothuajse gjithmonë ndodh nga kontakti direkt me kafshën e infektuar (bagëti apo derra).
- ✓ Modeli i dytë është për vendet e lagështa tropikale ku ka një numër më të madh serovaresh qarkullues që infektojnë njerëzit dhe kafshët, si dhe një numër më të madh specimesh rezervuar si rodentët, kafshët e fermës apo qentë. Ekspozimi i njerëzve nuk ka lidhje vetëm me profesionin por vjen si rezultat kontaminimit të përhapur të ambientit sidomos gjatë sezonit të lagësht.

- ✓ Modeli i tretë përfshin infeksione të ardhura nga rodentët në zonat urbane. Ky rezulton më pak i hasur nëpër botë, dhe fiton rëndësi kur infrastruktura urbane është e dëmtuar nga fatkeqësitë natyrore apo lufta. Ky lloj infeksioni takohet rrallë në vendet e zhvilluara (25), por së fundmi është riparë si dhe në shpërthimet epidemike në periferitë e varfëra të vendeve në zhvillim (26).

1.3.1 Barra Globale e Leptospirozës

Përpyekja fillestare për të paraqitur të dhëna globale për incidencën e leptospirozës ka qenë në vitin 1999 (23). Sipas të dhënave të mbledhura nga studimet e Shoqatës Ndërkombëtare të Leptospirozës (International Leptospirosis Society), incidenca u vlerësua 350,000–500,000 raste të rënda në vit (27). Pavaresisht këtyre përpjekjeve dihet që Barra Globale e Leptospirozës është e pavlerësuar për një numër arsyesh, përfshi këtu edhe faktin që shumë vende kanë mangësi në sistemet e raportimit ose raportimi nuk është i detyruar (28). Për përmirësimin e këtyre të metave OBSH themeloi në vitin 2008 Grupin e Referencës së Barrës Epidemiologjike të Leptospirozës (Leptospirosis Burden Epidemiology Reference Group -LERG). Rezultatet e paraqitura nga LERG bazuar në rishikim sistematik të literaturës vlerësuan se incidenca globale e leptospirozës endemike dhe epidemike është respektivisht 5 dhe 14 raste për 100,000 banorë (28). Niveli i leptospirozës endemike humane varion sipas rajoneve nga 0.5/100,000 banorë në Europë deri në 95/100,000 banorë në Afrikë.

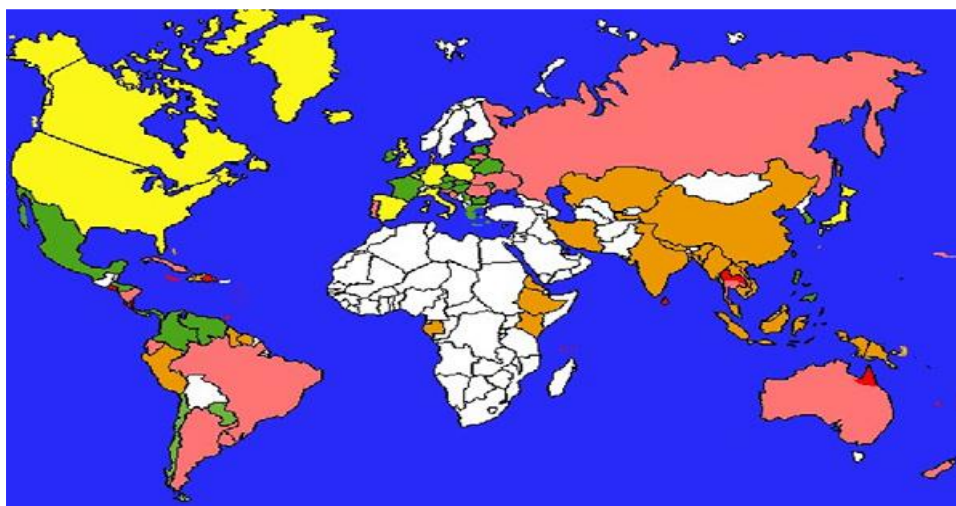


Figura 1.2 Incidenca Vjetore Globale e Leptospirozës Humane

[Ngjyrat paraqesin incidencën në rend zbritës: e kuqe, rozë, jeshile, e verdhë. Zonat Portokalli (gold) paraqesin zona ku incidence mendohet të jetë e lartë por e vlerësuar. Ngjyra e bardhe paraqet të dhëna që nuk raportohen (1)]

Tabla 1.4, tregon incidencën e Leptospirozave në vendet me risk të lartë ku raportimet e rasteve pozitive janë të mundshme (30).

Tabela 1.4 Rajonet të cilat raportojnë incidencën e Leptospirozave

Vendi apo Rajoni	Incidenca/100.000/vit
Ishujt Andaman	50
Guadalupe	41
Vanuatu	40
Antilles	23
Kerala, Indi	11.4
Kina	7.1
Kaledonia e Re	2.1–30
Tailanda	4.1–40
Sri Lanka	11
Polinesia Franceze	11
Ishujt Azore	11
Kamboxia	7.7
Kosta Rika	6.7
Hawaii	3.3
Zelanda e Re	2.8
Kuba	2.5
Kroacia	1.8
Brazili	1.7
Argjentina	1
Australia	0.52

Njohja e faktorëve të riskut dhe aplikimi i masave parandaluese, si dhe kontrolli i rodentëve ka ulur së tepërmi incidencën e kësaj sëmundjeje tek personat me profesion të rrezikuar. Në mbarë botën llogariten më shumë se 500. 000 raste me leptospirozë severe çdo vit (31). Vdekshmeria raportohet se mund të arrijë deri në 30% të rasteve me Leptospirë (32).

Disa studime tregojnë gjithashtu se leptospiroza përbën 20-40% të rasteve klinike që paraqiten si një gjendje febrile me origjinë të panohur (33). Por të dhënat për rastet vjetore me Leptospirozë mungojnë në shumë vende, përmenden këtu Afrika dhe Lindja e Mesme, ndërsa raportimet në rritje për epidemi na sugjerojnë që Leptospiroza po shfaqet si një sëmundje problematike për shëndetin publik. Këtu shtojmë dhe fatkeqësitë natyrore të cilat kane impakt mbi trendin e sëmundjeve të tilla si Leptospiroza vecanerisht kur ka rreshje të shumta dhe përmbytje (34).

1.3.2 Situata Epidemiologjike në Europë

Bazuar në raportimin vjetor për Leptospirozën në vendet Europiane, Leptospiroza mbetet ende një sëmundje e rrallë në Europë (35). Numri i rasteve të konfirmuara në shumë vende Europiane mbetet në të njëjtat nivele. Infeksioni është më i hasur tek të rriturit, dhe meshkujt kanë një predominacë sëmundshmërie kundrejt femrave. Infeksionet janë sporadike dhe të lidhura ngushtë me sezonin, ku rritje më e dukshme vihet re gjatë sezonit të verës dhe vjeshtës. Infeksioni mund të ndodhë si pasojë e ekspozimit të lidhur me punën dhe argëtimin. Nuk janë raportuar shpërthime të Leptospirozës.

Në vitin 2012, 27 vende EU/ EEA sigurojnë të dhëna rreth sëmundjes. Të dhënat janë siguruar nga të gjithë vendet e EU përveç Spanjës, Islandës, Litenshteinit dhe Norvegjisë që nuk raportojnë të dhëna. Janë raportuar dhjetë raste fatale. Shkalla e raportimit sipas shteteve të Europës varion nga 0 për Qipron deri në 0.72 për Maltën raste për 100.000 banorë. Nga Lituania raportohen 0.67 raste, në Itali kemi një rënie që arrin deri në 0.01 raste dhe Rumania 0.37 raste për 100.000 banorë. Numri relativisht i vogël i rasteve të raportuara në shumë vende mund të bëjë interpretimin e këtyre tendencave në rastet vjetore problematike. Në 27 vendet e BE që raportojnë të dhëna, rastet e konfirmuara me Leptospirozë kanë rënë në përgjithësi dhe variojnë nga 599 në 2008 në 489 në vitin 2012, por reduktimi i përgjithshëm mund t'i atribuohet kryesisht raporteve të Rumanisë duke u zvogëluar nga 200 në 2008 në 74 në 2012 (35).

Në vitin 2014 në vendet e Komunitetit European janë raportuar 1593 raste me Leptospirosis, nga të cilat të konfirmuara ishin 937 raste. Sipas raportimeve të vendeve të EU/EEA hasja e kesaj sëmundje është 0, 23 raste per 100.00/banorë (variojnë sipas vendeve : 0.0 - 2.5 raste për 100 000 banorë) (35). Qiproja nuk ka raportuar raste që nga viti 2010.

Luksemburgu, Malta dhe Spanja nuk kanë raportuar raste në 2014 por gjithsesi pati një rritje të dukshme të numrit të rasteve të raportuara në Francë, ku vetëm 96 nga 628 raste janë konfirmuar, në krahasim me numrin mesatar të rasteve në katër vitet e mëparshme. Holanda dhe Hungaria përjetuan një rritje trefish të numrit të rasteve në vitin 2014. Një rritje në numrin e rasteve në vitin 2014 u vu re edhe në Bullgari, Republikën Çeke, Gjermani, Letoni, Poloni, Portugali dhe Slloveni. Trembëdhjetë vende ofruan informacion mbi hospitalizimin për rreth 90% të rasteve të tyre dhe nga këto 93% (404 nga 434) raste të konfirmuara u hospitalizuan (35).

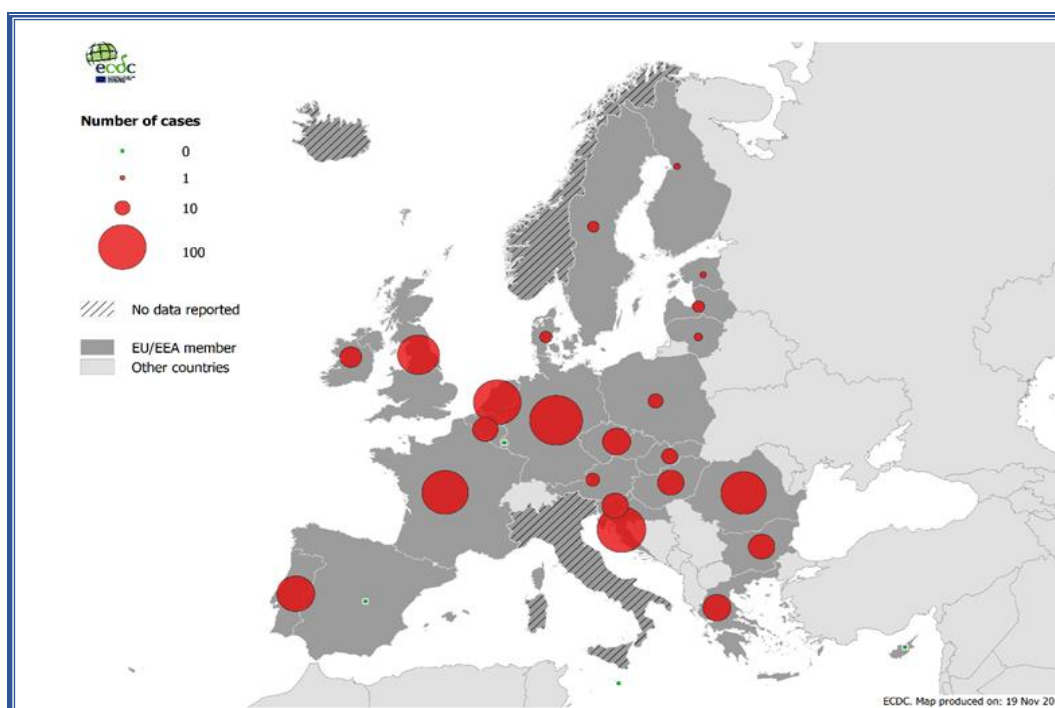


Figura 1.3 Rastet e konfirmuara për Leptospira Eu/EEA, 2014

Shumë faktorë të cilët janë të lidhur me endemicitetin e Leptospirozave (p.sh, klima tropikale, niveli i ulët i higjenës, ujërat e kontaminuara etj) zakonisht mungojnë në Europë. Klima lokale dhe faktorët mjedisor disa herë kanë influencuar në rritjen e raportimeve vjetore të rasteve të reja në disa vende si p.sh në Francë (36) dhe Republikën Çeke (35) (tabela 1.5). Numri i rasteve të reja të raportuara në vende të ndryshme të Europës është rritur prej viteve 1997-2008. Studime të ndryshme të kryera në Gjermani (37), tregojnë një rritje të incidencës së këtij infeksioni këto 40 vitet e fundit.

Të dhënat nga Ministria e Shëndetësisë Italiane (38), tregojnë një predominancë standarte të rasteve në provincat veriore të Lombardisë dhe Veneto. Vendet e Europës Qëndrore dhe Lindore kanë një incidencë të lartë. Të dhënat aktuale të ecurisë së *Leptospirave* në Rusi janë të panjohura. Shpërthimet kryesisht janë të lidhura me ujërat e kontaminuara (39) ose aktivitetet sportive të kryera në lumenj të kontaminuar (40).

Tabela 1.5 Incidenca e infeksionit në Europë dhe Ballkan

Vendi/ Rajoni	Incidenca e raportuar	Numri i popullatës
Leptospirosis në Europë		
Austri	3	8,174,762 ²
Belgjikë	3	10,348,276 ²
Britani (United Kingdom)	22	60,270,708
Republika Çeke	0	1,0246,178 ²
Danimark	1	5,413,392 ²
Finland	1	5,214,512 ²
Francë	22	60,424,213 ²
Greqi	3	10,647,529 ²
Gjermani	30	82,424,609 ²
Islandë	0	293,966 ²
Hungari	3	10,032,375 ²
Lihtenshtein	0	33,436 ²
Irlandë	1	3,969,558 ²
Itali	21	58,057,477 ²
Luksemburg	0	462,690 ²
Monako	0	32,270 ²
Holland	5	16,318,199 ²
Poloni	14	38,626,349 ²
Portugali	3	10,524,145 ²
Spanjë	14	40,280,780 ²
Suedi	3	8,986,400 ²
Zvicër	2	7,450,867 ²
Uells	1	2,918,000 ²
Leptospirosis për vendet e Ballkanit		
Shqipëri	1	3,544,808 ²
Bosnje Hercegovin	0	407,608 ²
Kroaci	1	4,496,869 ²
Maqedoni	0	2,040,085 ²
Serbi dhe Mali i Zi	3	10,825,900 ²

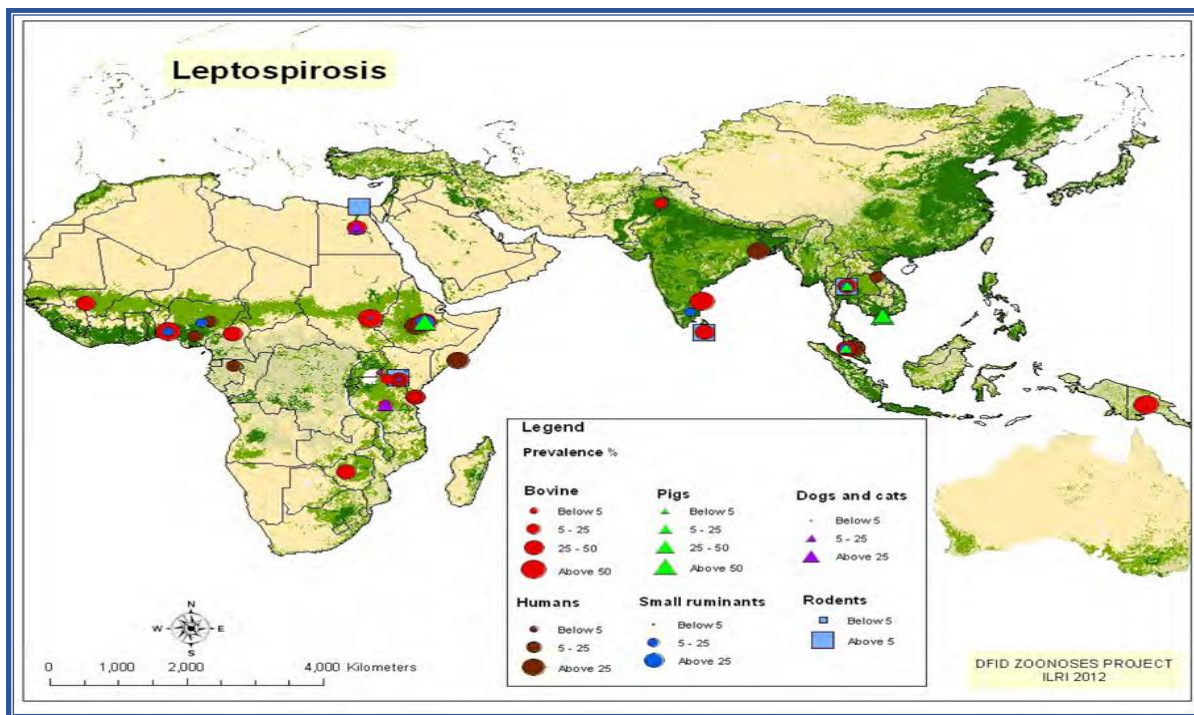


Figura 1.4 Prevalencë e Leptospirosis në botë

1.4 Burimi dhe rrugët e infektimit

Tek njerëzit kjo sëmundje zakonisht shkaktohet nga kontakti direkt apo indirekt me urinën e kafshëve të infektuara. Porta më e zakonshme e hyrjes së leptospirave në organizëm është përmes lëkurës së dëmtuar, çarjeve të saj, ose konjunktivave. Infeksioni mund të merret edhe përmes lëkurës së padëmtuar pas qëndrimit zhytur për një kohë të gjatë, por kjo është e vështirë të provohet.

Është dokumentuar gjithashtu edhe transmetimi përmes ujit, kjo pasi në disa shpërthime të Leptospirozës pikat furnizuese me ujë kanë rezultuar të kontaminuara. Janë parë edhe infeksione si rezultat nga inhalimi i ujit apo aerozoleve që përmbajnë *Leptospira*, të cilat kalojnë përmes mukozës së traktit respirator. Edhe aktivitetet argëtuese si sportet ujore ku përfshihen noti, vozitja me kanoe (41), rafting në ujra të ëmbla (42), peshkimi etj, kanë një rezikshmëri sinjifikante në infektim. Mundësia e ekspozimeve masive ekziston në rastin e garave apo konkurseve të ndryshme (43).

Ka raportime për disa shpërthime që lidhen me ujin. Shumë prej këtyre shpërthimeve kanë ndodhur pas periudhave të gjata të ngrohta, pa rreshje, ku supozohet se ka ndodhur dhe shumimi i leptospirave në liqene me ujra të ëmbla apo lumenj. Raste me leptospirozë shoqërojnë shpesh përmbytjet e mëdha (44).

Në studime të ndryshme kanë raportuar për raste të rralla infektimi si pasojë nga kafshimi i kafshëve të infektuara me *Leptospira* (45). Gjithashtu është dokumentuar, ndonëse rrallë, edhe transmetimi direkt nga njeriu tek njeriu përmes marrëdhënieve seksuale gjatë periudhës së kovaleshencës (46). Një mënyrë tjetër infektimi është edhe nga ekskretimi i *Leptospirave* nga njerëzit përmes urinës që ndodh edhe disa muaj pas shërimit (47).

Kafshët, po ashtu edhe njerëzit, mund të ndahen në bartës të përhershëm apo aksidentalë. Burim i sëmundjes është infeksioni kronik në tubulat renale të bartësve të përhershëm (48). Bartës i përhershëm përkufizohet një specie në të cilin infeksioni është endemik dhe zakonisht transmetohet nga kafsha në kafshë nëpërmjet kontaktit direkt. Infeksioni fitohet zakonisht që në moshë të re, dhe prevalenca e ekskretimit kronik përmes urinës rritet me moshën e kafshës. Kafshët e tjera, po ashtu edhe njerëzit, infektohen nga kontakti i drejtpërdrejt me bartësin e përhershëm. Kafshët mund të jenë bartëse të përhershme për disa serovare si dhe bartës rastësorë për serovare të tjera, infeksion i cili me raste mund të rezultojë i rëndë apo fatal.

Bartësit e përhershëm më të rëndësishëm janë gjitarët e vegjël të cilat mund ta transmetojnë infeksionin tek kafshët shtëpiake, bagëtitë, qentë apo tek njerëzit. Përhapja e infeksionit varet nga shumë faktorë, përfshi këtu klimën, dendësinë e popullsisë si dhe shkallën e kontaktit ndërmjet bartësit të përhershëm dhe atij aksidental. Specie të ndryshëm rodentësh mund të jenë rezervuarë të serovareve të caktuar, por brejtësit janë në përgjithësi bartës të përhershëm për serovarët e serogrupit *Icterohaemorrhagica* dhe *Ballum*, dhe minjtë janë bartës të përhershëm për serogrupin *Ballum*.

Mbijetesa e *Leptospirave* patogjene në mjedis varet nga disa faktorë si pH, temperatura si dhe prezenca e lëndëve inhibuese. Në kushte laboratorike, në temperaturë dhome në ujë, *Leptospira* ngelen të gjalla për disa muaj kur pH është 7.2 deri në 8.0 (49), por në ujrat e lumenjve mbijetesa është më e ulët dhe mund të zvogëlohet me uljen e temperaturaturave. Prezenca e ujrave të zeza rrit kohën e mbijetesës së tyre me orë, por në kanalet ku derdhen mbeturinat e bagëtive *Leptospira* e gjalla janë gjetur edhe pas disa javësh (50).

Në tokat acide (pH 6.2) serovari *australis* mbijeton deri në 7 javë, dhe në tokat e përmbytura nga shiu mbijetesa shkon deri në 3 javë (51). Në tokën e kontaminuar me urinën e kafshëve të infektuara si brejtësit apo minjtë e fushave, *Leptospira* mund të mbijetojnë deri në 2 javë (figura 1.5) (52). Shumë raste sporadike me Leptospirozë, në rajonet tropikale, janë shkaktuar gjatë aktiviteteve të jetës së përditshme. Shumë infeksione rezultojnë nga e cura zbatuar ose ushtrimit të kopshtarisë me duar të zhveshura (53).

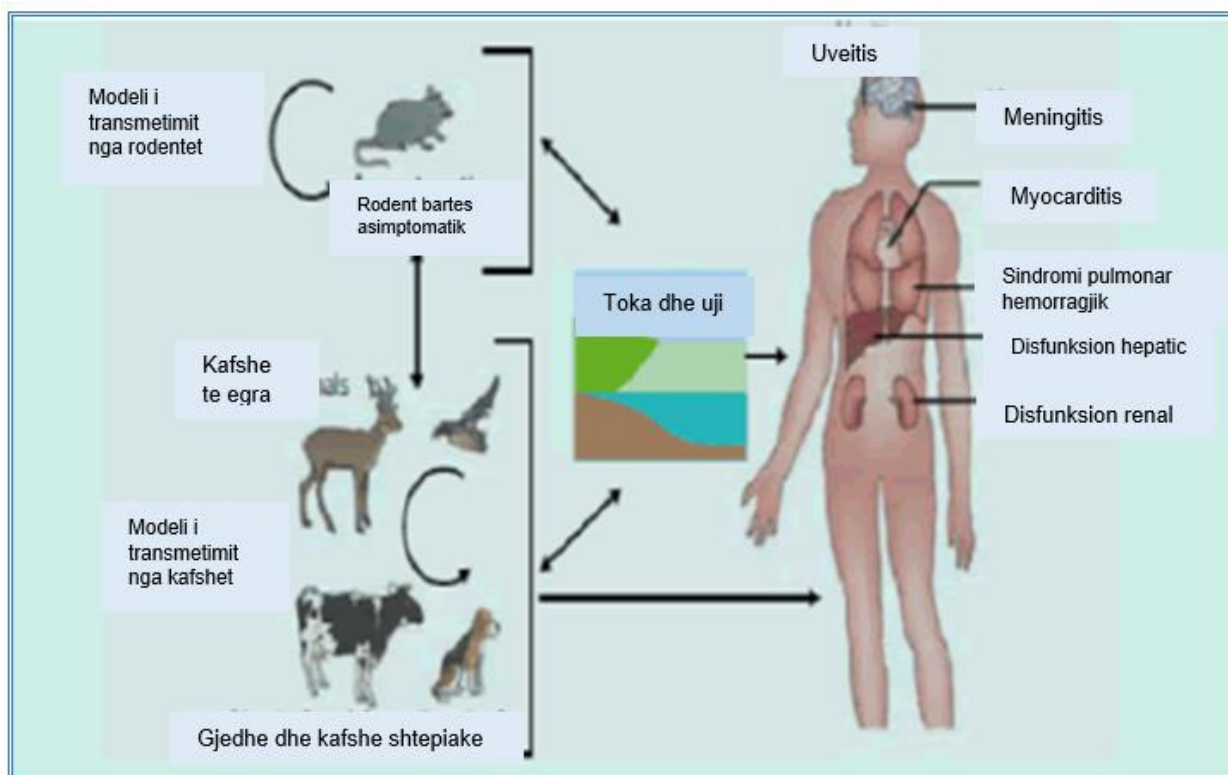


Figura 1.5 Cikli jetësor i *Leptospirës*

1.4 Patologjia

Leptospiroza karakterizohet nga një zhvillim i vaskulitit, dëmtime endoteliale dhe infiltrate inflamatorë të formuara nga monocite, qeliza plazmatike, histocite dhe neutrofile. Në ekzaminimin makroskopik shpesh shihen hemorragji në formë petekiesh që mund të jenë të gjëra (54). Organet mund të jenë të çngjyrosura sipas shkallës së ikterit (55). Dëmtimet histologjike janë më të dallueshme në hepar, veshka, zemër dhe mushkri (56).

Në disa raste mund të kemi prekje edhe të organeve të tjera sipas ashpërsisë së infeksionit. Struktura e përgjithshme e heparit nuk është e dëmtuar dukshëm, por mund të kemi kolestazë intrahepatike (54). Dallohet mirë hipertrofia dhe hiperplazia e qelizave të Kupferit. Është raportuar edhe për eritro-fagocitozë (57).

Në veshka më shpesh haset nefriti intersticial i shoqëruar me një infiltrim intensiv të përbërë nga neutrofile dhe monocite. Leptospirat mund të shihen në tubulat renale. Me anë të mikroskopit elektronik mund të dallojmë që skajet si furçë të qelizave tubulare janë zhveshur, membrana bazale tubulare është trashur dhe qelizat tubulare shfaqin deplecion mitokondrial. Kurse në glomerulë vihen re ndryshime më të pakta, që sugjerojnë për natyrën anatomike të proteinurisë në leptospirozë (58).

Ndryshimet patologjike në zemër përfshijnë miokarditin intersticial ku infiltrimet predominohen nga limfocite dhe qeliza plazmatike. Hemorragji petekiale si dhe infiltime mononukleare ndodhin veçanërisht në epikard. Janë parë gjithashtu edhe efuzione perikardiake dhe arterite koronare (59).

Në mushkri shpesh mund të takohen kongjestion pulmonar dhe hemorragji (60). Mund të kemi edhe formim membranash hyaline. Leptospirat mund të shihen brenda qelizave epiteliale të septumeve intraalveolare, si dhe të përngjitura në qelizat epiteliale të kapilarëve (61).

Në muskujt skeletorë sidomos tek ata të këmbës mund të kemi nekroza fokale për fibra muskulore të izoluara, me infiltime histocitesh, neutrofilesh dhe qelizash plazmatike. Prezenca e miozilit përkon me mialgji intense, kjo e parë në disa pacientë (62). Në tru janë parë paketime perivaskulare (54,60).

1.5.1 Patogjeneza

Mekanizmat nëpërmjet të cilëve *Leptospira* shkakton sëmundje nuk janë shumë të qarta. Janë hamendësuar disa faktorë virulence, por me disa përjashtime roli i tyre ngelet akoma i paqartë. Mbështetur në zbulimet më të reja më poshtë po paraqesim disa prej tyre.

Prodhimi i toksinave. Prodhimi i toksinave in vivo nga *Leptospirat* patogjene u dëshmuua fillimisht nga Areán (54). Aktiviteti i endotoksinave u raportua për disa serovare.

Në testet biologjike për endotoksinat përgatesat me LPS (lipopolisaharidet) e leptospirave dëshmojnë për këtë aktivitet, por me fuqi shumë më të vogël (63). Serovari *Pomona* është njohur për shkaktimin e simptomave hemolitike tek kafshët; ndërsa serovari *ballum* jep të njëjtat simptoma tek hamsterët. Disa serovare kanë karakteristikë hemolizinën. Hemolizinat e serovareve: *ballum*, *hardjo*, *pomona*, dhe *tarassovi* janë sphingomyelinaza (64). Shtamet virulente shfaqin chemotaxis për hemoglobinën. Është treguar që plazma e parandalon hemolizën (65).

Serovari *canicola* ka shfaqur aktivitet të Phospholipazës C. Në serovarin *lai* është raportuar një hemolizinë që nuk ka aktivitet si sphingomyelinazë apo phospholipazë, por mendohet se është një protein pore-formuese (66). Shtame të serovareve *pomona* dhe *copenhageni* prodhojnë një proteinë citotoksike, dhe ky aktivitet citotoksik është zbuluar në plazmën e kafshëve të infektuara. In vivo kjo toksinë çon në një efekt histopatologjik tipik, me infiltrimë makrofagësh dhe qelizash polimorfonukleare (67).

Një fraksion glikoproteine me veti citotoksike u gjet në serovarin *copenhageni* (68), një fraksion i ngjashëm nga serovari *canicola* frenon Na^+ - K^+ ATPase. Aktiviteti inhibitor është i lidhur me acidet yndyrore të pangopura, veçanërisht acidin palmitik dhe oleik. Megjithatë një aktivitet i ngjashëm u vu re tek serovari *patoc* i *L. biflexas* (69), që lë të kuptohet se faktorë të tjerë virulence mund të kenë rëndësi më të madhe.

Përngjitja: Është parë se Leptospirat përngjiten në qelizat epiteliale. In vitro Leptospirat virulente ngjiten në qelizat epiteliale renale, aderencat zmadhohen nga përqendrimë subaglutinuese të antittrupave homologë (70). Leptospirat fagocitohen nga makrofagët në prezencë të antittrupave specifike. Frenimi i aktivitetit të makrofagëve rrit ndjeshmërinë ndaj infeksionit (71).

Leptospirat virulente shoqërohen nga neutrofilet por nuk vriten prej tyre. Fagocitoza ndodh vetëm në prezencë të serumit dhe komplementit, gjë e cila na bën të mendojmë se mbështjella e jashtme e Leptospirave zotëron një komponent antifagocitar. LPS leptospirale stimulojnë aderencën e neutrofileve tek qelizat endoteliale dhe tek trombocitet, duke shkaktuar agregate, gjë që vë në pah rolin e tyre në trombocitopeni (72).

Mekanizmat Imunë: Faza e dytë e Leptospirozës akute konsiderohet edhe si faza imune, në të cilën zhdukja e leptospirave nga qarkullimi i gjakut korrespondon me shfaqjen e antittrupave. Klinika e rëndë e sëmundjes shpesh ndodh të jetë në disproporcion me gjetjet histopatologjike.

Ashpërsia e simptomave shpesh është e influencuar nga ndërmjetësimi imun i sëmundjes. Prodhimi i komplekseve immune çon në inflamacion të Sistemit Nervor Qendror (SNQ). Niveli i komplekseve imune qarkulluese korrelohet me ashpërsinë e simptomave (73) dhe në pacientët e mbijetuar niveli i tyre bie paralelisht me përmirësimin klinik. Në infeksionet eksperimentale të guinea pig, antigeni leptospiral lokalizohet në intersticiumin renal, ndërkohë që IgG dhe C3 janë depozituar në glomerule dhe enët e vogla të gjakut (74).

Në Leptospirozën humane janë vënë re antitropa anti-trombocitarë. Këta antitropa dhe septicemia, janë të drejtuar kundër kripto-antigenëve që ekspozojnë trombocitet e dëmtuar dhe roli i tyre nuk është rastësor në zhvillimin e trombocitopenisë (75). Janë gjetur auto-antitropa të tjerë në sëmundjet akute ku përfshihen antitropat IgG antikardiolipin dhe antitropat citoplasmatik antineutrofil. Megjithatë roli i antitropave citoplasmatik antineutrofil në patogjenezën e dëmtimeve vaskulare në Leptospirozë është diskutueshëm (76). Leptospirat virulente shkaktojnë apoptozë in vivo dhe in vitro (77). Në minj, apoptoza e limfociteve shkaktohet nga LPS përmes induktimit të faktorit alpha të nekrozës tumorale TNF- α . Nivele të rritura të citokinave inflamatore si TNF- α janë raportuar në pacientë me leptospirosis (78).

Proteinat sipërfaqësore: Membrana e jashtme e Leptospirave përmban LPS dhe disa lipoproteina (proteina të membranës së jashtme -OMP). LPS ka imunogjenicitet të lartë dhe është përgjegjëse për specificitetin e serovarit. Një lidhje e ndërsjelltë ndërmjet shprehjes së OMP-së transmembranore dhe virulencës është parë në serovarin *grippotyphosa* (79). Lipoproteina e membranës së jashtme LipL36 t in vivo (80) dhe nuk njihet nga përgjigja imune humorale e bartësit në hamsterët me Leptospirozë. Edhe OMP të tjera janë vetërregulluar in vivo. Komponentët e membranës së jashtme mund të jenë të rëndësishëm në patogjenezën e nefritit intersticial. Së fundmi është përshkruar një proteinë lidhëse fibronektinë e prodhuar vetëm nga shtamet virulente e cila shkakton imunitet mbrojtës (81) (figurat 1.6).

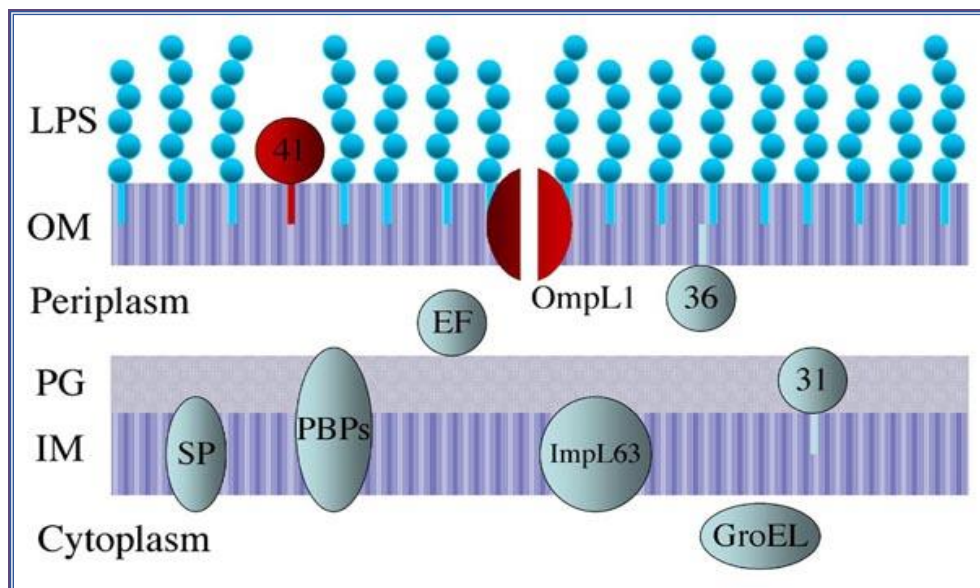


Figura 1.6 Pamje e membranës qelizore me elementët e saj përbërëse

1.6 Karakteristikat klinike të Leptospirozës

Leptospiroza është përshkruar si një zoonozë me manifestime të ndryshme (82). Ky përshkrim është përdorur aq shumë sa është shndërruar në një klishe. Spektri i simptomave është jashtëzakonisht i gjerë dhe sindroma klasike e saj Sëmundja Weil është forma më e rëndë e saj. Dikur mendohej se sindroma klinike të veçanta lidheshin me serogrupe specifike (83). Por kjo pikëpamje u vu në dyshim nga disa autorë (84) dhe nga studime edhe më të thelluara gjatë 30 vjetëve të fundit kjo hipotezë ra. Një shpjegim për këtë hipotezë mund ta gjejmë në lidhjen që vihet re ndërmjet ekologjisë së kafshëve bartëse dhe rajonit gjeografik. Në një rajon me florë të pasur mund të gjenden më shumë serotipe se në një rajon me numër të pakët kafshësh bartëse.

Tek njerëzit leptospiroza e rëndë është e shpeshtë por jo e lidhur vetëm me serovaret e serogrupit ikterohemoragjik. Këto serovare specifike të përfshira varen gjerësisht nga pozicioni gjeografik dhe ekologjia e bartësit të atij mjedisi. Kështu në Europë, përgjegjës për infeksionet janë kryesisht serovaret *Copenhageni* dhe *Icterohaemorrhagiae*, që kanë minjtë si bartës, ndërsa në Azinë juglindore është më i shpeshtë serovari *Lai* (85).

Shfaqja klinike e leptospirozës është bifazike (figura 1.6), fillimisht me fazën akute apo septicemike që zgjat rreth një javë e ndjekur nga faza imune që karakterizohet nga prodhimi i antitropave dhe ekskretimi i leptospirave në urinë (86). Shumë nga komplikacionet e leptospirozës vijnë si pasojë e lokalizimit të saj në inde gjatë fazës immune, pra rreth javës së dytë të sëmundjes.

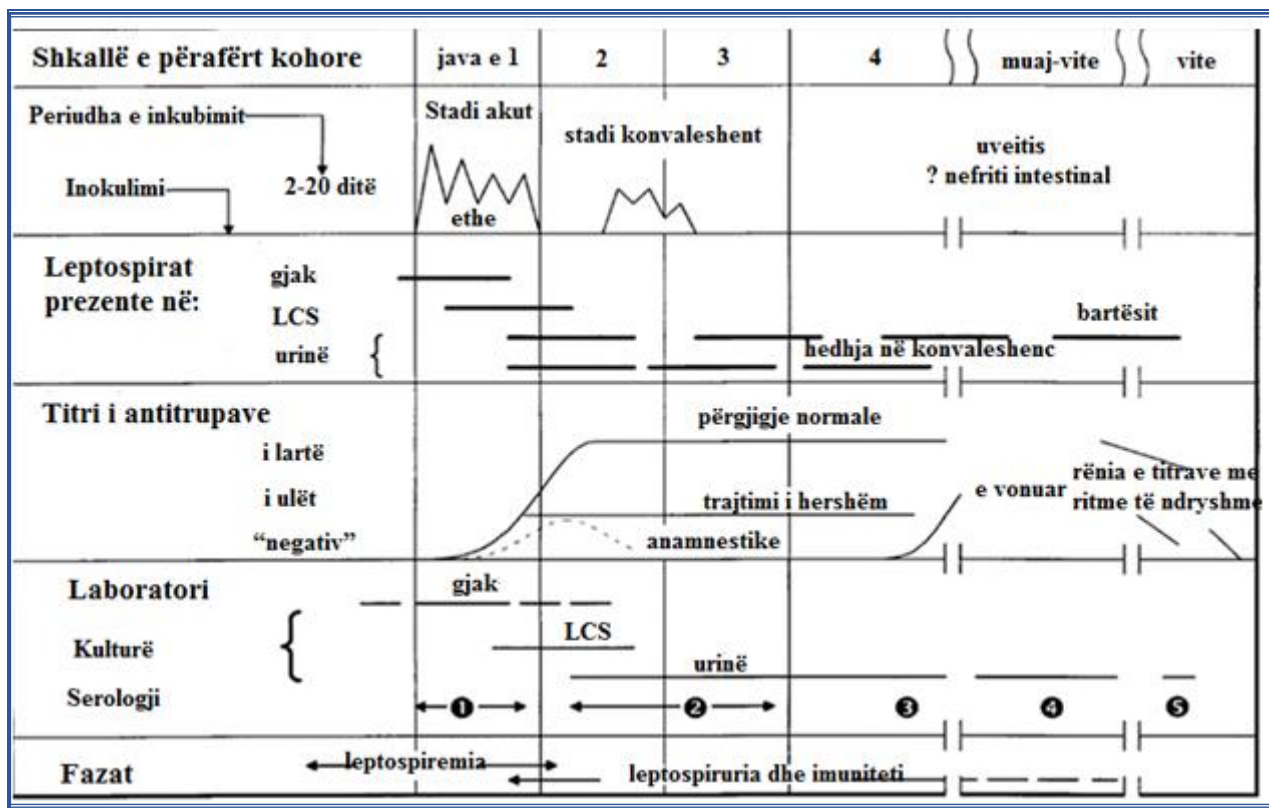


Figura 1.7 Natyra bifazike e leptospirozës dhe hetimet përkatëse në faza të ndryshme të sëmundjes

Mostra 1 dhe 2 për serologjinë janë mostrt e fazës akute, kampioni 3 është për fazën e konvaleshencës që mund të lehtësojë zbulimin e përgjigjes së vonuar imunitare; kampionet 3 dhe 4 janë për ndjekjen dhe mund të na japin informacion epidemiologjik, si psh serogrupin infektues (87).

1.6.1 Leptospiroza anikterike

Pjesa më e madhe infeksionevetë shkaktuara nga leptospirat mund të jenë subklinike apo shumë të lehta, dhe pacientëve mund të mos ju duhet kujdes mjekësor. Një pjesë e vogël e infeksioneve, që përbëjnë shumicën e rasteve të njohura paraqesin një situatë ku gjendja febrile ka një instalim të menjëhershëm. Simptoma të tjera janë ethet, dhimbja e kokës, myalgia, dhimbjet abdominale, sufuzioni konjunktival dhe më rrallë rashi kutan (figura 1.8).

Nëse kemi shfaqje të rashit, ai ështëi përkohshëm dhe zgjat më pak se 24 orë. Sindroma anikterike zgjat rreth një javë dhe përfundimi i saj përkon me shfaqjen e antitropave. Temperatura mund të jetë bifazike dhe mund të rishfaqet pas 3-4 ditësh. Dhimbja e kokës është e fortë e ngjashme me atë të etheve Dengue, me lokalizim retro-orbital dhe fotofobi. Mialgja lokalizohet në pjesën e poshtme të shpinës, kofshë dhe pulpa, shpesh mund të jetë e fortë (86, 88).

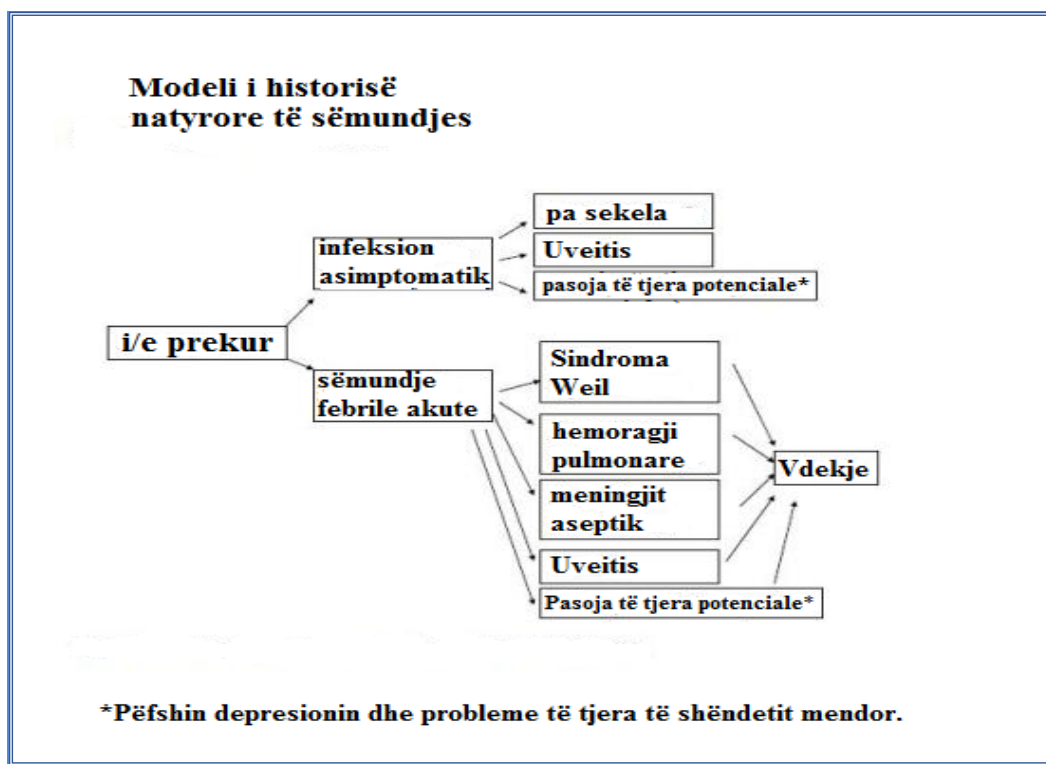


Figura 1.8 Shenjat dhe simptomat e pacientëve me leptospirozë në pranim në një seri të gjërë rastesh

Meningiti aseptik mund të haset në $\leq 25\%$ të të gjithë rasteve me Leptospirozë dhe mund të konsiderohet si një numër sinjifikant në numrin e përgjithshëm të meningiteve aseptikë. Është parë që pacientët me meningit aseptik janë më të rinj se ata me leptospirozë ikterike (89). Mortaliteti pothuajse është zero në rastet me Leptospirozë anikterike, por vdekja mund të jetë si pasojë e hemorragjive pulmonare (90). Diagnoza diferenciale bëhet me infeksionet virale si gripi (88), serokonversionin në AIDS (91), ethe Dengue (92) dhe ethe me origjinë të panjohur që çojnë në një listë ku futen encephaliti, poliomieliiti, rickettsioza, mononukleoza infektive, bruceloza, malaria, hepatitet virale dhe pneumonitë.

Infeksionet nga Hantaviruset mund të konsiderohen gjithashtu për pacientët me implikime pulmonare (93). Lezione si purpurat ose petekiet mund të hasen gjithashtu (88), dhe së fundmi janë raportuar raste të leptospirozës të ngjashme me ethet hemorragjike virale tek udhëtarët e kthyer nga Afrika dhe jo vetëm (94).

1.6.2 Leptospiroza ikterike

Kjo formë klinike e leptospirozës është më e rëndë dhe dekursi i saj progreson shpejt. Rastet e rënda shpesh paraqiten vonë dhe kjo çon në një shkallë të lartë mortaliteti që varion nga 5 - 15%. Pacientët me leptospirozë që shfaqin formën ikterike të sëmundjes variojnë nga 5 - 10% (95). Ikteri që ndodh në leptospirozë nuk është lidhur me nekrozën hepatocelulare dhe funksionet hepatiche rikthehen në normalitet me kalimin e sëmundjes. Nivelet e bilirubinës në serum mund të jenë të larta dhe të kërkojnë javë për tu normalizuar (96). Mund të ketë rritje të moderuar të nivelit të transaminazave dhe rritje më të pakët të fosfatazës alkaline.

Komplikacionet e formave të rënda të leptospirozës theksojnë natyrën multisistemike të sëmundjes. Leptospiroza është shpesh shkak i insuficiencës renale akute (IRA) që haset në 16-40% të rasteve (97). Duhet dalluar pacientët me azotemi prerrenale (jo-IRA) dhe ata me IRA. Tek pacientët me azotemi prerrenale përgjigja ndaj rehidrimit mund ta shtyjë vendimin për tu bërë dializë edhe pas 72 orëve. Tek pacientët me IRA oliguria (OR 9.98) është një shenjë paralajmëruese e vdekjes (98). Nivelet e amilazës në serum shpesh janë të rritura si pasojë e IRA-së (142, 162), por simptomat klinike të pankreatitit nuk takohen shpesh. Pankreatiti nekrotizant është parë vetëm në autopsi (99). Trombocitopenia është takuar në $\geq 50\%$ të rasteve dhe është një shenjë e instalimit të IRA-së. Megjithatë trombocitopenia në Leptospirozë është kalimtare dhe nuk rezulton të jetë pasojë e koagulimit intravaskular (100).

Prania e simptomave pulmonare në rastet me leptospirozë fillimisht janë përmendur nga disa studime. Pacientët mund të paraqesin një spektër të gjërë simptomash që variojnë nga kolla, dispnea, dhe hemoptizi kjo mund të jetë e rëndë ose e lehtë, tek adultët me sindromin e distresit respirator. Hemorragjia intra-alveolare u takua në shumicën e pacientëve, edhe kur mungonin shenjat pulmonare të dukshme. Hemorragjia pulmonare mund të jetë aq e rëndë sa të shkaktojë vdekje (101). Incidenca e implikimit pulmonar ndryshon sipas vendeve.

Përfshirja kardiake në leptospirozë është e zakonshme por mund të jetë e nënvleftësuar. Miokarditi fatal u përshkrua për herë të parë në 1935 (102). Tabloja klinike e përfshirjes së miokardit paraqitet me valë T jonormale, të pranishme në 10-80% të rasteve me ikter të rëndë në Luiziana, ndërsa anomalitete të ngjashme elektrokardiografike u gjetën në mbi 50 % të pacientëve nga Kina, India, Sri Lanka, dhe Filipinet si në rastet ikterike dhe ato joikterike. Anomali të tjera të EKG-së janë më pak të raportuara (103). Prezenca e miokarditit lidhej ngushtësisht me ashpërsinë e simptomave pulmonare. Në rastet me leptospirozë të rëndë me miokardit vdekshmëria arrin deri në 54% (104).

1.6.3 Implikimi okular

Manifestimet okulare në rastet e rënda të leptospirozës janë vënë në dukje që në raportime të hershme të Leptospirozës. Pjesa më e madhe e pacientëve të referuar nëpër studime paraqisnin sufuzion konjuktival. Kjo simptomë e shoqëruar edhe me ikter të sklerave thuhet se është një shenjë pathognomonike e sëmundjes Weil. Në disa raste është parë uveit anterior unilateral apo bilateral, që shfaqet pas kalimit të fazës akute. Uveiti mund të persistojë javë, muaj ndonjëherë vite pas fazës akute të sëmundjes. Janë raportuar edhe raste kur çrregullimet kronike vizuale kanë persistuar deri 20 vjet pas kalimit të fazës akute (105).

1.6.4 Komplikacione të tjera

Janë raportuar infeksione akute gjatë shtatzanisë që kanë çuar në aborte dhe vdekje fetale (106). Leptospirat janë izoluar edhe nga qumshti i gjirit, dhe është raportuar një rast që infeksioni me serovarin *Hardjo* është transmetuar nga nëna tek foshnja nëpërmjet ushqyerjes me gji (107).

Janë raportuar edhe disa komplikacione të rralla si: aksidente cerebrovaskulare (108), rhabdomyolysis (109), purpura thrombotike thrombocytopenike (110), erythema nodosum (111), stenozë aorte (112), epididymitis (113), paraliza nervore (114), hypogonadizëm mashkullor (115), dhe sindrom Guillain-Barré (116).

Infeksionet kronike ose latente. Thuhet se janë raportuar leptospiroza me simptoma kronike analoge me ato të infeksioneve të tjera spiroketale si në sëmundjen Lyme. Por ka pak evidence që provojnë këtë apo të kundërtën e kësaj hipoteze.

Mundësia e ekzistencës së një infeksioni kronik është mbështetur në të dhënat serologjike kur nuk ka patur evidencë të shfaqes së infeksionit (117). Është përshkruar një rast me meningit të vonë që është instaluar pas një leptospiroze ikterike, ku leptospirat u izoluan si në likidin cerebrospinal (LCS) ashtu edhe në urinë. Ky pacient shfaqti një përgjigje me antitrupa të papërfillshme ndaj shtamit infektues, gjë që sugjeron prezencën e një difekti imunitar (118).

Nga sekuelat e infeksionit akut, mendohet që uveiti është potencialisht më i prirur për të qënë një sekuelë klinike tek personat me Leptospirozë. Instalimi i vonë i uveitit tek njerëzit mund të jetë një reaksion autoimun që pason ekspozimin (119).



Figura 1.9 Disa nga shenjat fizike të infeksionit (90)

KAPITULLI II

2. DIAGNOZA LABORATORIKE

2.1 Teste laboratorike të përgjithshme

Në paraqitjen anikterike të sëmundjes, eritrosedimenti është i rritur, dhe qelizat e bardha variojnë nga nën normë deri në rritje të moderuar. Testet e funksioneve hepatike tregojnë një rritje të lehtë të aminotransferazës, bilirubinës, dhe fosfatazës alkaline në mungesë të ikterit. Analiza e urinës tregon proteinuri, piuri, dhe shpesh hematuri mikroskopike. Gjatë javës së parë të sëmundjes mund të kemi praninë e trupave hialinë dhe granular (120).

Nga punktura lumbare zakonisht rezulton një Likidi Cerebro Spinal (LCS) me presion normal ose lehtësisht të rritur (121). Ekzaminimi LCS-së fillimisht rezulton me predominancë të polimorfonuklearëve apo limfociteve, por në ekzaminimet e mëvonshme dominojnë vetëm limfocitet. Niveli i proteinave mund të jetë normal ose i rritur, kurse glukoza në përgjithësi normale. Anomalitë në kuadrin e LCS-së takohen zakonisht në javën e dytë të sëmundjes, dhe pleocitoza e LCS-së mund të persistojë për javë (120).

Në leptospirozat e rënda kemi shmangie majtas të formulës leukocitare. Zakonisht haset trombocitopeni që mund të bjeri në sy (122). Kompromenti i funksionit renal vihet në pah nga rritjet e nivelit të kreatinës plazmatike. Niveli i azotemisë varion sipas ashpërsisë së sëmundjes (123). Në leptospirozat ikterike, testet hepatike tregojnë rritje të bilirubinës, më pak të transaminazave, kurse fosfataza alkaline ka rritje të pakët (96). Rritja e bilirubinës përgjithësisht nuk është në proporcion me vlerat e testeve të tjera hepatike (100). Rezultate të ngjashme raportohen edhe për nivelet e kreatininë fosfokinazës (123). Amilaza në serum mund të rritet në pacientët me Insufiçencë Renale Akute (IRA).

Këto teste nuk janë të natyrës specifike dhe vetëm mund të na orientojnë drejt diagnozës së leptospirozës. Për konfirmimin e diagnozës kërkohen teste mikrobiologjike specifike. Në varësi të testeve që do të përdoren bëhet dhe përzgjedhja e mostrës për testim (figura 2.1).

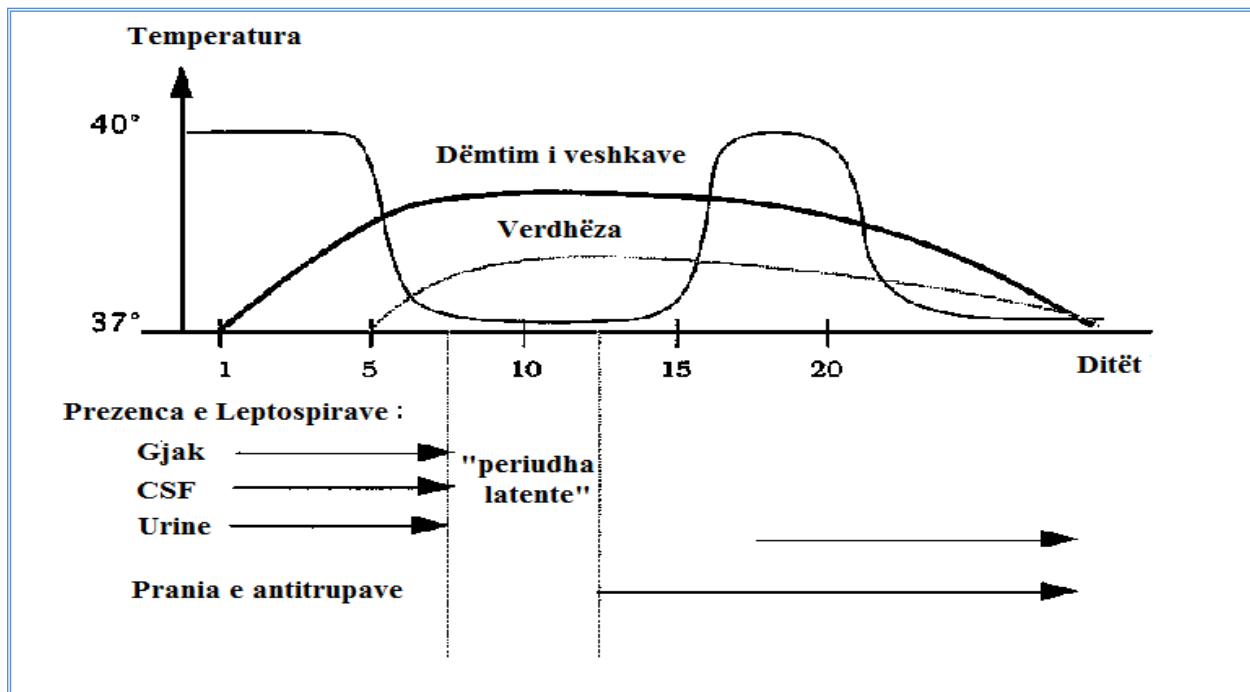


Figura 2.1 Ecuria e sëmundjes dhe përzgjedhja e mostrës për testim

2.2 Paraqitje Mikroskopike

Leptospirat mund ti shohim në materialin klinik me anë të mikroskopisë me fushë të errët, me mikroskop me imunofloreshencë ose mikroskop të thjeshtë me dritë pasi të kemi bërë ngjyrimin e përshtatshëm. Mikroskopia me fushë të errët e lëngjeve trupore si; gjaku, urina, LCS, dhe likididit të dializuar janë përdorur më parë por janë të pandjeshme dhe ju mungon specificiteti. Përqëndrimi i Leptospirave për këto lëngje duhet të jetë $10^4/ml$ që të mund të shikojmë 1 qelizë për fushë me anën e mikroskopit me fushë të errët (124).

Një metodë tjetër është ajo me ekzaminime të përsëritura mikroskopike të gjakut me antikoagulantë të centrifiguar dy herë (125). Mikroskopia e gjakut ka vlerë vetëm në ditët e para të fazës akute të sëmundjes kur kemi leptospiremi. Në vullnetarë të infektuar me serovarin *grippotyphosa* leptospirat u dedektuan 4 ditë më herët se të shfaqeshin simptomat (126).

Shumë autoritete mendojnë se ka shumë pak leptospira në LCS që të mund të zbulohen me mikroskopi me fushë të errët (125,126). Metodat e ngjyimit janë përdorur që të rrisin ndjeshmërinë e ekzaminimit direkt mikroskopik. Për këtë përdoren ngjyime imunofloreshente për ekzaminimin e urinës së gjedhëve (127), ujit e tokës (128) dhe ngjyime me peroksidazë për ekzaminimin e gjakut dhe urinës (129). Për ngjyimin e Leptospirave në inde janë përdorur ngjyime histopatologjike të ndryshme. Fillimisht leptospirat u vunë në dukje nëpërmjet ngjyimeve me argjend (130), dhe ngjyimi Warthin-Starry u përdor gjerësisht në ekzaminimet histologjike. Mikroskopia me imunofluoreshencë përdoret gjerësisht për të demonstruar leptospirat në mostrat veterinare (131). Së fundmi po aplikohen metoda imuno-histokimike (132).

2.3 Kultivimi.

Leptospirat rriten mirë në terrene që përmbajnë serum apo albuminë të pasuruar me polysorbat, por përdoren edhe terrene sintetike pa proteina. Janë përshkruar që herët edhe terrene të lëngëta me përmbajtje serum lepurit nga Fletcher, Korthoff, Noguchi, and Stuart (124). Terreni më i përdorshëm në praktikën e sotme është terreni EMJH me bazë acid oleik-albuminë (133), i cili përmban Tween 80 dhe albumin nga serumi bovin.

Disa shtame janë më të brishtë dhe kërkojnë shtesa piruvati ose serum lepurit (134) për izolimin fillestar. Për të frenuar rritjen e agjentëve kontaminues nga mostra klinike në terren shtohet 5-fluorouracil (135).

Rritja e Leptospirave në izolimin e parë është e ngadaltë, dhe kulturat mbahen rreth 13 javë përpara se të hidhen, por subkulturat e pastra në terrenë të lëngshme në përgjithësi duan 10-14 ditë për tu rritur. Terreneve mund tu shtohet agar në përqendrime të vogla (0.1- 0.2%). Në terrene semisolide, rritja mund të arrijë maksimumin e përqendrimit në zona diskrete në sipërfaqen e terrenit, të cilat me vijimin e inkubimit bëhen të turbullta. Kjo rritje është e lidhur me presionin optimal të oksigjenit (136) dhe njihet si unaza apo disku Dinger (137). Kulturat e Leptospirës mund të ruhen me pasazhime të përsëritura të subkulturave (136) ose preferohet ruajtja në agar semisolid me përmbajtje hemoglobine. Përdoret gjithashtu ruajtja afatgjatë nëpërmjet liofilizimit ose në -70°C (138).

Përdoren edhe terrene të ngurta me agar. Morfologjia e kolonive varet nga përqendrimi i agarit dhe serovari. Terrenet e ngurta përdoren zakonisht për izolimin e leptospirave (139), për të ndarë kulturat e përziera të leptospirave si dhe në zbulimin e prodhimit të hemolizinës (140).

2.3.1 Izolimi i leptospirave

Leptospiremia ndodh gjatë fazës së parë të sëmundjes, pra para se të shfaqen simptomat, dhe përgjithësisht përfundon në fund të javës së parë pra fazës akutetë sëmundjes (141). Megjithatë kulturat e gjakut duhen të merren sa më shpejt që të jetë e mundur që kur paraqitet pacienti. Një ose dy pika gjaku inokulohen në 10 ml terren semisolid që përmban 5-fluorouracil, pranë shtratis të pacientit. Keshillohen të merren disa kultura gjatë dekursit por kjo është shpesh e pamundur. Izolimi i leptospirave nga gjaku disa javë pas shfaqes së simptomave ndodh rrallë (142). Gjatë javës së parë të sëmundjes mund të merren dhe mostra të tjera për kulturë si p.sh, LCS dhe likidi i dializuar. Urina merret për kulturë në fillim të javës së dytë pasi janë shfaqur simptomat e sëmundjes. Kohëzgjatja e ekskretimit urinar të leptospirave varion por mund të shkojë deri në disa javë (143).

Urina humane duhet të përpunohet menjëherë pasi mbijetesa e leptospirave në të është e limituar (124). Kulturat inkubohen në 28- 30°C dhe ekzaminohen çdo javë me mikroskopin me fushë të errët deri 13 javë dhe pastaj hidhen.

2.3.2 Identifikimi i izolateve të Leptospirave

Leptospirat e izoluara mund të identifikohen si me metoda serologjike ashtu dhe me teknika molekulare. Metodatat tradicionale të identifikimit mbështeten në absorbimin e kryqëzuar të aglutinave (144). Numri i laboratorëve që mund të kryejnë këto metoda është shumë i vogël. Përdorimi i paneleve monoklonalë të antitropave (145) për të realizuar testin e aglutinimit makroskopik, i lejon këta laboratorët të identifikojnë këto izolate në një kohë relativisht të shpejtë. Edhe metodatat molekulare kanë marrë një përdorim më të zgjeruar dekadat e fundit (146).

2.3.3 Testet e ndjeshmërisë

Leptospirat janë të ndjeshme ndaj β -lactameve, makrolideve, tetraciklinave, fluoroquinoloneve, dhe streptomycinës (147). Përqendrimi minimal baktericid-MBC (përqendrimi më i vogël i agjentit antimikrobik që duhet për të vrarë 99.9% të organizmave të inokulumit fillestar) është disa herë më i lartë se përqendrimi minimal frenues-MIC (përqendrimi më i vogël i agjentit antimikrobik i cili frenon rritjen in-vitro të mikroorganizmave) (148). Në përcaktimin e ndjeshmërisë hasim disa probleme që përfshijnë periudhën e gjatë të inkubimit, përdorimin e terreneve që përmbajnë serum (149), si dhe vështirësinë për përcaktimin sasiar të rritjes. Këto kufizime ndikojnë në zhvillimin e metodave të standartizuara e të shpejta të testeve të ndjeshmërisë (85)

2.4 Diagnoza serologjike

Shumë prej rasteve të Leptospirozave diagnostikohen me anë të serologjisë. Antitruapat në gjak mund të zbulohen rreth 5-7 ditë pas instalimit të simptomave. Metodët serologjike mund të ndajmë në dy grupe: ato që specifikojnë gjininë (tabela 2.1) dhe ato për specifikimin e serogrupit. Testet aglutinuese janë përdorur shumë shpejt pasi u i`bë izolimi i Leptospirave (150).

Që prej asaj kohe janë përdorur shumë metoda të diagnozës serologjike, por investigimi serologjik definitiv për Leptospirat ngelet testi i aglutinimit mikroskopik (MAT).

Tabela 2.1 Testet serologjike specifike për gjininë

Metoda
Testi i fiksimit të komplementit
Liza e sensitivitetit eritrocitar
Aglutinimi Makroskopik me slide
Imunofloureshenca
Testi Aglutinimit Patoc me slide
Hemaglutinacioni indirekt
Counter-Imunoelektroforezis
ELISA
Aglutinimi me mikrokapsulë
Dot-ELISA
IgM dipstick
Latex aglutinim

2.4.1 Zbulimi i antigenëve

Zbulimi i antigenëve leptospiralë në materialin klinik duhet të ofrojë specificitet më të lartë se mikroskopia me fushë të errët. Një vlerësim i bërë për disa metoda ka arritur në përfundimin se radioimunotesti (RIA) mund të zbulojë 10^4 deri në 10^5 leptospira/ml, ndërsa metoda ELISA mund të zbulojë 10^5 leptospira/ml. Metoda ELISA mund të dedektojë 10^4 leptospira të serovarit *hardjo* por është më pak e ndjeshme për serovaret e tjerë (151 <F:\PHD FOLDER 1\ELA PhD 2018\Documents and Settings\ELA-ALI\My Documents\Leptospirosis.htm - ref-103>). Aplikimi i imunotestit chemiluminishent në gjakun human dhe urinë (152) nuk ka rezultuar më sensitiv se testi ELISA. Së fundmi është përdorur një kombinim i kapjes imunomagnetike të antigenit (immunomagnetic antigen capture) me imunofluoro-teste që kanë dedektuar edhe 10^2 leptospira/ml në urinën e bagëtive të infectuara me serovarin *hardjo* (151).

2.4.2 Testi i aglutinimit mikroskopik (MAT)

Metoda e referencës për diagnozën serologjike të leptospirës është MAT, në të cilën serumi i pacientit vihet në kontakt me suspensione antigjenike të serovaret të gjalla të *Leptospirave*. Pas inkubimit përzierjet serum antigen ekzaminohen mikroskopikisht për aglutinim, si dhe përcaktohen titrat. Ka protokolle për mënyrën e zbatimit të MAT të përshkruara hollësisht (153). MAT është një test kompleks që nga kontrolli, zbatimi apo interpretimi (154). Ky test kërkon mbajtjen e kulturave të gjalla nga të tërë serovaret. Testi vlen njësoj si kur aplikohet antigen i gjallë ashtu dhe antigen i konservuar në formalinë. Kryerja e subkulturave javore të përsëritura për një numër të madh shtamesh, paraqet një rrezikshmëri për personelin. Ka patur raportime për raste të infeksioneve të ndodhura në laborator (155). Difekt tjetër është edhe rreziku i përhershëm i kontaminimit të kryqëzuar të kulturave antigjenike, gjë që sjell nevojën e verifikimit periodik të çdo serovari. Titrati e MAT ndikohen nga terreni i kulturës që përdoret për rritjen e antigenit. Seria e antigenëve që përdoren duhet të përfshijë serovare përfaqësues nga çdo serogrup (154) si dhe nga serovaret që qarkullojnë zakonisht në atë zonë (156). Për të njëjtin serogrup zakonisht kemi titra më të lartë kur përdoren izolate lokale sesa kur përdoren shtamet e fondit nga serovaret që

ruhen në laborator. Është bërë zakon që në serinë e serovareve të përdorur të përfshihet edhe një specie jopatogjene si *L. biflexa* (157).

Për identifikimin e infeksioneve me serovare të pazakonta apo të padedektuara më parë përdoret një seri e gjerë antigenesh (158). MAT është një test specifik për serogrupin. Në shumë raportime ku është synuar të paraqitet specificiteti i serovareve, është testuar vetëm një seri e limituar e sergrupeve dhe për secilin është testuar një serovar i vetëm. Përveç kësaj shumë pak studime janë bërë për të parë nëse serogrupi i përcaktuar me MAT përkon me rezultatin e kulturës. Megjithatë aftësia e titrave MAT gjatë fazës së konvaleshencës për të parashikuar serogrupin infektues mund të jetë më pak se 40%. Realisht MAT është një mikroskopi në fushë të errët. Pika përfundimtare është hollimi më i madh ku aglutinimi i serumit është 50%, por është e vështirë të përcaktohet se kur janë aglutinuar 50% e leptospirave. Për këtë arsye pika finale është përcaktuar nga prezenca e 50% e leptospirave të lira. Leptospirat e paaglutinuara krahasohen me suspensionin e kontrollit (159). Përpjekje të konsiderueshme janë bërë për të reduktuar efektet subjektive prej observuesit apo laboratorit.

Interpretimi i MAT është i komplikuar nga shkalla e lartë e reaksioneve të kryqëzuara që ndodhin mes serogrupeve të ndryshëm, sidomos me mostrat e marra në fazën akute të leptospirozës. Kjo është deri diku e parashikuar pasi pacientët shpesh paraqesin titra të ngjashëm për të tërë serovaret e të njëjtit serogrup. Njihen gjithashtu edhe reaksione paradoksale (figura 2.1), ku titri më i lartë takohet në një serogrup që nuk i përket serogrupit infektues (160).

Nëse në fazën akute kemi një reaktivitet të kryqëzuar të zgjeruar, të ndjekur nga specificiteti i serogrupeve të afërta në fazën e konvaleshencës, kjo rezulton nga zbulimi në MAT i të dy antitropave IgM dhe IgG (161) si dhe nga prezenca e disa antigenëve të përbashkët mes leptospirave (162).

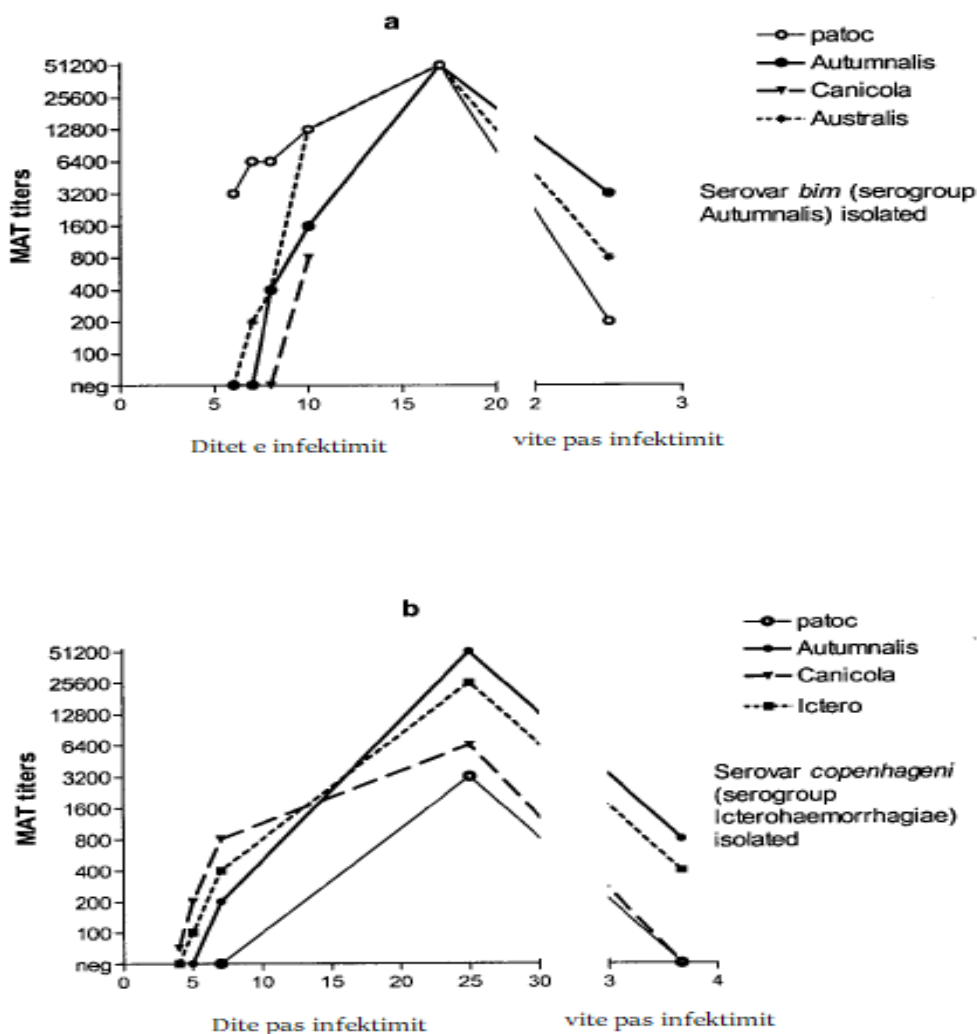


Figura 2.2 Përgjigjja immune paradoksale gjatë infeksionit akut me serovarin bim*

*Përgjigjja imune paradoksale gjatë infeksionit akut me serovarin *bim*, në të cilën gjatë ndjekjes u identifikua serogrupi (*Autumnalis*) (a), dhe *copenhageni* ku serogrupi *Icterohaemorrhagica* nuk u identifikua kurrë si serogrupi predominant (b).

Konfirmimi i sigurt i diagnozës kërkon serume çifte (serume nga i njëjti pacient me një distancë kohore). Një rritje katërfish e titrit nga serumi i parë tek i dyti, pavarësisht intervalit të marrjes, konfirmon diagnozën. Intervali mes dy mostrave varet se kur janë shfaqur simptomat dhe nga gjendja e pacientit. Nëse simptomat e Leptospirozës janë prezente, një interval 3-5 ditë është i mjaftueshëm për të marrë titra të lartë. Megjithatë nëse pacienti paraqitet herët ose nuk referon me

saktësi datën e fillimit të sëmundjes, atëherë intervali prej 10-14 ditësh ndërmjet mostrave është më i përshtatshëm. Rrallë mund të ndodhë që serokonversioni të mos shfaqet kaq shpejt, për këtë arsye nevojitet një interval më i madh kohor ndërmjet mostrave.

Serologjia nëpërmjet MAT është e pandjeshme sidomos për mostrat e marra në fazën akute dhe për më tepër pacientët me leptospirozë fulminante mund të vdesin para se të ndodhë serokonversioni (163).

Një infeksion akut përcaktohet kur kemi një titër të rritur i cili shoqërohet dhe me ethe febrile akute. Një rast i mundshëm bazuar në përkufizimin e rastit nga CDC (Control Diseases Control) përcaktohet kur: titri është ≥ 200 si edhe kemi përputhje me shfaqjen klinike të sëmundjes (164). Kjo mund të jetë e papërshtatshme për tu përdorur në popullata ku ekspozimi ndaj leptospirave është i pazakontë. E kundërta ndodh për vendet tropikale, ku dhe një titër pak më i lartë se vlera e cutt-off paraqet një rast të mundshëm. Në zonat ku Leptospiroza është endemike, në përgjithësi një titër ≥ 800 tek pacientët simptomatikë është tregues i leptospirozës, por gjithësesi rekomandohen vlera të titrave më të lartë se $\geq 1,600$ (165).

Titrat që shoqërojnë infeksionin akut mund të jenë jashtëzakonisht të lartë ($\geq 25,600$) dhe mund të duhen muaj apo vite që këto titra të ulen. Shpesh është e vështirë të dallohet një serogrup predominant disa muaj pas kalimit të infeksionit, pasi titrat në reaksionet e kryqëzuara bien në shkallë të ndryshme (166). Nëse është e mundur marrja e disa serumeve në intervale kohore të ndryshme pas fazës akute të sëmundjeska rëndësi, në mënyrë që të përcaktohet serogrupi shkaktar i infeksionit. Rrallë mund të ndodhë që serokonversioni të shtyhet shumë javë pas shërimit dhe për të konfirmuar diagnozën mund të kërkohet një ndjekje serologjike për një kohë të gjatë. Disa pacientë mund të kenë shenja të infeksioneve të mëparshme me një serogrup tjetër të Leptospirave. Në këto raste diagnoza serologjike është e komplikuar. Vetëm më vonë bëhet identifikimi i serogrupit përgjegjës për infeksionin kur titri i antitrapave ndaj tij rritet.

Reaksione paradoksale mund të ndodhin në pacientë që kanë kaluar infeksione të tilla, interpretimi i serologjisë është edhe më i ndërlikuar. Për kryerjen e MAT-it përdoren antigen në formalinë për të mënjeluar vështirësitë e lidhura me antigenët e gjallë. Titrat që merren nga këto antigene shpesh janë më të ulta si edhe vihen re shumë reaksione të kryqëzuara (210). MAT është testi më i përshtatshëm për të bërë studime epidemiologjike.

Për infeksionet e kaluara merret si evidencë një titër ≥ 100 . Të dhënat e MAT-it mund të japin një pamje të përgjithshme të serogrupeve qarkullues në popullatë (159).

2.4.3 Testet e tjeta serologjike

Meqënëse testi serologjik MAT paraqet shumë kompleksitet, shumë teste skrinuese të shpejta për antigenet leptospirale në infeksionet akute janë përpunuar. Testet e fiksimit të komplementit përdoren gjerësisht (154), por ato nuk janë metoda të standatizuara. Këto teste më së shumti aplikohen në diagnozën veterinare. Testet e fiksimit të komplementit po zëvendësohen me metodën ELISA (167), ku antitruapat IgM vihen në pah në javën e parë të sëmundjes (168). Kjo gjë që lejon konfirmimin e diagnozës dhe ben që trajtimi të filloje herët, atëhere kur ai është edhe më efektiv. Zbulimi i IgM-ve vazhdimisht ka treguar se ky test është më sensitiv se MAT kur mostra e parë është marrë herët në fazën akute të sëmundjes (169).

Në pacientë me Leptospirozë ikterike IgG-të janë dedektuar me ELISA në LCS (171). Në pacientë me meningit pa etiologji të njohur, IgM-të u gjetën në 15% të rasteve. Silva dhe bashkëpunëtorët e tij kanë gjetur prani të antitruapave IgM edhe në pështymë (172).

Metodës ELISA i janë bërë disa modifikime gjatë viteve. Është krijuar një ELISA dot IgM-specifike në të cilën antigenet e leptospirave polivalente janë fiksuar në filtra nitroceluloz në pllakat me gropëza për mikrotitrime. Kjo gjë ka krijuar komoditetin e përdorimit të sasive të vogla të reagentëve të testit ELISA. Gjithashtu janë kryer dhe modifikime të mëtejshme për dedektimin e antitruapave IgG dhe IgA krahas atyre IgM (171).

Një kit komercial dot ELISA për IgM dipstick ka rezultuar se është po aq sensitive sa një pllakë me mikrotitrime IgM-ELISA (173). Një test dot imunoblot përdor konjugat me ar koloidal që lejon përfundimin e testit për 30 minuta (174). Aplikimi i metodës ELISA për diagnozën humane të Leptospirozës është i përhapur gjerësisht dhe përgjithësisht i kënaqshëm, dhe është përshtatur për pak serovare specifike (296). Përshkruhet edhe një test aglutinimi makroskopik në pllakë ku janë kombinuar 12 serovare brenda katër gropëzave që përdoret për screenimin e shpejtë të serumit human dhe të kafshëve gjithashtu (175). Ka edhe metoda që përdorin eritrocite të sensibilizuara. Të tilla teste hemolitike kërkojnë praninë e komplementit, përdoren si dhe teste me hemaglutinim. Këto teste përdoren si për dedektimin e IgM-ve ashtu edhe për IgG-të (176). Një test aglutinimi

indirekt (IHA) është krijuar nga CDC, dhe ka treguar një sensitivitet 92% dhe specificitet 95% krahasuar me MAT-in (177). Ky test ka qënë i vetmi i përdorur në SHBA me miratim të FDA-së për diagnozën serologjike të leptospirozës. Por së fundmi janë bërë studime për të rivlerësuar ndjeshmërinë e tij (176).

Në Japoni dhe Kine, (178) është përdorur gjerësisht një test tjetër aglutinimi me mikrokapsula që përdor një polimer sintetik në vend të rruazave të kuqe të gjakut. Në një vlerësim internacional ka rezultuar që aglutinimi me mikrokapsula të jetë më sensitiv se MAT dhe ELISA për IgM-të e fazës akute të sëmundjes, por nuk mund të zbulojë infeksionet prej disa serovareve).

Avantazhi i kësaj metode qendron në pëdorimin e saj pa modifikime për serumet nga kafshët (179). Teknika të tjera për zbulimin e antitropave ndaj leptospirës janë imunofluoreshenca (180), RIA (181) counter-immunoelectrophoresis (182) dhe thin-layer immunoassay (183). Por këto metoda nuk janë gjerësisht të përdorura.

2.5 Aplikimi i biologjisë molekulare në diagnozën e Leptospirozës

Leptospirat janë të lidhura filogjenetikiisht me spiroketat e tjera (184). Gjenoma e leptospirave është rreth 5,000 kb. Gjenoma është e grupuar në dy rajone; një kromozom 4,400-kb dhe një kromozom tjetër më të vogël 350-kb (185), ndërsa raportime për plazmide të tjera nuk ka (186). Janë ndërtuar harta për serovarin *pomona* subtipin *kennewicki* (188) dhe *icterohaemorrhagiae* (189). Leptospirat përmbajnë dy sekuenca gjenesh 16S dhe 23S rRNA dhe vetëm një gjen 5S rRNA (326), dhe gjenet rRNA zënë një vend të gjerë (190).

Studimet mbi gjenetikën e leptospirave bazuar në sistemit e transformimit kanë çuar në krijimin e një vektori transferues që përdor një bakterofag të zbutur LE1 prej *L. biflexa* (191). Kjo krijon një avantazh në përparimin e njohurive rreth Leptospirave në nivel molekular. Tek serovari *icterohaemorrhagiae* është parë se gjenoma konservohet.

Ky konservim lejon identifikimin e të paktën një serovari të ri nga njohja e profileve të dallueshme me anë të PFGE-së (pulsed-field gel electrophoresis) (192). Megjithatë nga demonstrimet e

heterogjenitetit ndërmjet serovareve lind nevoja e studimeve më të thelluara me më shumë isolate nga i njëjti serovar.

2.5.1 Diagnoza Molekulare

ADN-në e leptospirave mund ta dedektojme në materialin klinik me anë të metodave dot-blot (193) dhe hibridizimit in situ (194). Është pregatitur një sondë rekombinante specifike për serovaret patogjene nga serovari Lai (195), si dhe një sondë për serovarin Hardjobovis për dedektimin e leptospirave në urinën bovine. Por sensitiviteti i tyre është shumë më i ulët se ai i PCR, kështu që nuk para përdoren që prej zhvillimit të PCR-së. Janë përshkruar disa çifte prajmerash që përdoren në PCR për dedektimin e leptospirave, disa prej të cilëve bazohen në gjene target specifike (196), ku më të përdorshmet janë genet 16S or 23S rRNA (197).

Në një krahasim të analizave të bëra me metoda të ndryshme pozitiviteti i kulturave dhe PCR-ja kanë rezultuar respektivisht në 48% dhe 62% të rasteve të konfirmuara pozitive me leptospirozë, ndërsa serologjia ishte pozitive në 97% të rasteve (198). PCR-ja rezultoi gjithashtu pozitive në dy raste kur pacientët vdiqën para se të ndodhte serokonversioni dhe ishte pozitive në 18% të rasteve seronegative në mostrat e marra në fazën akute. Të dy këto metoda kanë kufizime. Por pavarësisht mangësive të mundshme këto dy primera janë përdorur gjerësisht në studimet klinike. ADN-ja e leptospirave është amplifikuar nga serumi, urina, lëngjet trupore LCS (198) si dhe nga inde të mara me autopsy. Një kufizim për diagnozën e leptospirozës me anë të PCR-së është pamundësia e metodës PCR për të identifikuar serovarin infektues. Identifikimi i serovarit ka rëndësi epidemiologjike dhe vlerë për shëndetin publik, ndërsa në menaxhimin e pacientëve nuk është sinjifikante. PCR-ja është përdorur për të dalluar serovaret patogjene nga ato jopatogjene (199) Së fundmi një metodë PCR me sondë fluoreshente 5' exonuclease është përdorur për zbulimin e shpejtë të leptospirave patogjene (200).

2.5.2 Tipizimi Molekular

Meqë identifikimi serologjik i izolateve të Leptospirave paraqet vështirësi, ka patur një interes të madh në metodat molekulare për identifikimin dhe nëntipizimet (201). Metodrat e përdorura përfshijnë digjestionin e ADN-së kromozomale me endonukleaza të restriksionit (REA),

restriction fragment length polymorphism (RFLP), ribotyping, dhe disa metoda me bazë PCR. REA është studiuar intensivisht. Me anë të saj janë demonstruar gjenotipe të ndryshme brenda serovarit *hardjo* (202).

Përdorimi i metodës Ribotyping ka treguar një korrelacion sinjifikant në klasifikimin filogjenetik të leptospirave në 11 gjenomospecie. Shumë serovare kanë profil unik por ka nga ata që nuk dallohen nga njëri-tjetri me ribotyping për shkak të afërsisë së tyre që njihej edhe më parë, psh si në rastin e *icterohaemorrhagicas* and *copenhagenit* (203). Ribotipet e serovareve brenda gjenomospecieve mund të grupohen së bashku në bazë të fragmenteve të përbashkëta që kanë. Një metodë alternative e ribotyping përdor tre enzima restriksioni dhe një sondë 16S rDNA që derivon nga PCR. PFGE ka treguar se është e dobishme në tipizimin e serovareve të leptospirës (204). Në kontrast me aplikimin e saj për tipizimin e shtameve të mikroorganizmave të tjerë, PFGE ka treguar se gjenomat e serovareve të leptospirave janë ruajtur shkëlqyeshëm si në kohë ashtu edhe në shtrirje gjeografike (204). Ka rëndësi pasi izolatet klinike të vona kanë dhënë të njëjtat modele bandash ashtu si shtamet e referencës të të njëjtit serovar të cilat janë ruajtur prej shumë kohësh me anë të subkulturave të përsëritura (204). PFGE është bërë standarti de facto për tipizimin molekular të izolateve të leptospirave.

Metodat që analizojnë ADN-në kromozomale kërkojnë sasi të mëdha ADN-je të purifikuar prandaj disa metoda që përdorin sekuenca të amplifikuara me PCR të AND-së së leptospirës kanë gjetur përdorim.

KAPITULLI III

3. TRAJTIMI DHE IMUNIZIMI

3.1 Trajtimi

Trajtimi i Leptospirozës ndryshon në varësi të ashpërsisë dhe kohëzgjatjes së simptomave në momentin e paraqitjes së pacientit. Pacientët me simptoma të lehta të ngjashme me ato të gripit, kërkojnë mjekim vetëm simptomatik, por gjithësesi duhet patur kujdes që tu ofrohet ndihmë mjekësore në rastet kur ata zhvillojnë ikter. Pacientët me Leptospirozë anikterike por me shenja më të rënda mund të shtrohen në spital për një observim më të mirë. Në qoftëse ata kanë dhimbje koke të fortë, punkcioni lumbar mund të japë një përmirësim të menjëhershëm.

Menaxhimi i leptospirozës ikterike kërkon trajtimin e pacientit në njësitë e kujdesit intensiv. Pacientët me azotemi prerenale fillimisht duhet të rehidrohen dhe të mbahet në mbikëqyrje funksioni renal, ndërsa pacientët me insuficiencë renale akute duhet ti nënshtrohen urgjentisht dializës. Dializa peritoneale e përmbush më së miri këtë nevojë (205). Rekomandohet gjithashtu që gjatë ditëve të para të shtrimit, duhet të bëhet edhe monitorimi kardiak i pacientëve (206). Ka patur pak studime të mirëfillta për përdorimin e antibiotikëve të rasteve pozitive me Leptospirozë. Trajtimi me antibiotikë është raportuar që kur është zbuluar penicilina si medikament, por shpesh rezultatet kanë qënë jo të qarta. Një medikament tjetër i përdorur për trajtimin e këtyre rasteve ka qënë dhe oksitetraciklina (207). Pengesë madhore në vlerësimin e efikasitetit të antibiotikëve është paraqitja vonë e shumë pacientëve me shenja të rënda, atëherë kur leptospirat janë lokalizuar në inde target.

Doxycyclina (100 mg dy herë në ditë për 7 ditë) ka treguar reduktim të kohëzgjatjes dhe ashpërsisë së sëmundjes në leptospirozat anikterike me një mesatare prej 2 ditësh (208). Pacientët me klinikë të rëndë ishin përjashtuar nga ky studim. Dy studime random mbi penicilinën kanë dhënë rezultate kontradiktore. Njëri nga studimet përfshiu 42 pacientë me leptospirozë të rëndë, 19 prej të cilëve me ikter (209); ata nuk patën nevojë për dializë dhe në asnjë rast nuk pati humbje jete. Tek këta u përdor penicilinë intravenoze me dozë 6 MU/ditë për 7 ditë, dhe gjysma e tyre vazhduan me ethe. Në një studim të dytë me 79 pacientë me leptospirozë ikterike, pacientët iu nënshtroan terapisë me penicilinë intravenoze 8 MU/ditë për 5 ditë. Tek ky grup në 4 raste pati humbje jete (210).

Nuk u panë dallime ndërmjet të trajtuarve dhe grupit të kontrollit përse j`u rezultate të përfutuara apo kohëzgjatjen e sëmundjes. Përse i përket trajtimit të leptospirozës me doksicilinë dhe atij me penicilinë, nuk janë raportuar teste kontrolli të kryera në pacientë me Leptospirozë.

Nga këto studime të dhëna të qëndrueshme u morën për parandalimin e leptospirozës apo reduktimin e kohëzgjatjes së saj (210). Këto rezultate janë të mjaftueshme për të justifikuar përdorimin e antibiotikëve. Thelbësore është që çdo terapi me antibiotikë duhet të fillohet sa më shpejt që të jetë e mundur, dhe të mos zëvendësohet me masa të tjera terapeutike. Edhe pse janë raportuar raste me reaksione Jarisch-Herxheimer pas administrimit të penicilinës (211), përsëri ky risk nuk e përjashton përdorimin e penicilinës tek pacientët.

Doxycyclina (200 mg oral, një herë në javë), ka treguar efektivitet në profilaksinë afat shkurtër në mjediset me rrezikshmëri të lartë (212). Në disa teste kontrolli ka rezultuar se doksicilina ka pakësuar dukshëm incidence e shfaqjes klinike të sëmundjes por jo evidencat serologjike të infeksionit (212). Thuhet që doksicilina dhe jo penicilina duhet të përdoret në rastet e ekspozimit aksidental ndaj leptospirozës në laborator (213), gjithashtu ka dhe një publikim bazuar në fakte rreth profilaksisë me antibiotike (214).

Leptospiroza anikterike rrallë përfundon në vdekje, dhe trajtimi me antibiotik brenda 4 ditëve të para të sëmundjes redukton kohëzgjatjen e sëmundjes dhe përmirëson simptomat e saj. Doxacilina orale 100mg dy herë në ditë për 7 ditë apo penicilina 2.4-3.6 milion Unite/ditë e ndarë në doza për 7 ditë është efektive në shkurtimin e dekursit klinik. Një studim in vitro sugjeron se cefotaksima ka një koncentrim minimal inhibitor më të mirë se penicilina dhe mund të jetë trajtim alternative. Nga përdorimi i antibiotikëve mund të kemi shfaqjen e një reaksioni Jarisch-Herxheimer. Por pavarësisht dyshimeve pak raste janë të konfirmuara që në stadin e hershëm pra dhe trajtimi është empirik. Pacientët që shfaqin ikter apo insufiçencë renale klasifikohen si sindromi Weil. Këta pacientë duhet të hospitalizohen dhe ti nënshtrohen një trajtimi metikuloz, balancë elektrolitësh dhe rehidrim për parandalimin e insufiçencës renale anurike. Nëse shihen shenja të insufiçencës renale mund të kemi përfitime duke aplikuar një rehidrim agresiv nën monitorim për 48-72 orë. Nëse kemi një insufiçencë renale atherë I drejtohem i terapive si dializa peritoneale, hemodializa, apo hemofiltrimi venovenoz. Ikteri nuk kërkon trajtim. Pacientët duhet ti nënshtrohen monitorimit me elektrokardigrama. Tek pacientët me miokardit duhet të trajtohet aritmia.

Trajtim agresiv specific duhet të ndërmerret për simptoma të tilla si hemorragjia, hipotensioni, insufiçencë respiratore apo alterime të vetëdijes. Akoma ka qëndrime kontroverse për trajtimin me antibiotik të sindromit Weil. Por pavarësisht dyshimeve këta pacientë trajtohen me penicilinë apo cefotaxime (215).

Penicilin G 4X1.5 MUI/ditw iv; ceftriaxone 1 X 1g/ditw iv; doxycylinw 2 X 100mg/ditë i.v. ose p.o.; apo ampycillinë 4 X 0.5-1 g/ditë i.v./7 ditë; ose azithromicinë (dita I-1g, dita II, III nga 500mg p.o). Duhet patur nën vëzhgim nëse kemi shfaqjen e një reaksioni Jarisch-Herxheimer. Rastet e rënda duhen hospitalizuar dhe kur kemi insufiçencë renale dializa mund të rrisi mundësinë e mbijetesës (216).

3.2 Imuniteti

Imuniteti në leptospirozë është kryesisht me natyrë humorale (217). Imuniteti pasiv mund ti atribuohet vetëm antitropave (218). Një antigen (F4) serovar specifik, i ekstraktuar nga LPS (219) i mungon aktiviteti endotoksik dhe shkakton imunitet mbrojtës në lepuj, guinea pigs dhe minj. Një antigen i ngjashëm (TM), i cili frenon aglutininin me antiserume homologe (374), është parë që dallohet nga F4 por kanë një epitop të përbashkët (220). Ekstrakte të Sodium dodecyl sulfatit nga qelizat e plota nxisin prodhimin e antitropave protetektivë, të cilët gjithashtu aglutinojnë dhe fiksojnë komplementin (221). Imuniteti është i kufizuar ngushtësisht në serovar homolog ose me serovare shumë të afërta. Specificiteti i serovarit i akordohet antigenëve LPS (222). Janë përshkruar gjithashtu antigene specifike të lidhura me gjininë (223). Disa nga OMP-të leptospirale mund të konservohen, dhe falë potencialit të tyre për të prodhuar vaksina ato mund të prodhojnë imunitet mbrojtës të kryqëzuar. Nga studime të fundit është sugjeruar përdorimi i OmpL1 dhe LipL41 (224), mund të çojnë në mbrojtje sinergjike.

Përgjigja immune me ndërmjetësimin qelizor është raportuar edhe në rastet me leptospirozë (225). Megjithatë është parë edhe supresion i përgjigjes imune me ndërmjetësimin qelizor (226), me reduktimin e numrit të limfociteve CD4 si dhe të përgjigjes së tyre ndaj disa mitogjenëve.

Raportohet se tek pacientët me AIDS evidentohet mungesa e një komponenti sinjifikant mediator qelizor i cili ndikon në përgjigjen imune ndaj leptospirës (227).

3.3 Imunizimi

Imuniteti ndaj Leptospirës është kryesisht humoral (217), dhe është serovar specific. Kështu imunizimi krijon mbrojtje ndaj serovarëve homologë ose serovareve të ngjashëm antigjenikisht. Prandaj duhet që vaksinat të përmbajnë serovaret përfaqësuese të pranishme në popullatën që është imunizuar. Imunizimi është përdorur për shumë vjet si një mjet për të nxitur imunitetin tek kafshët dhe njerëzit, por me sukses të kufizuar. Vaksinat e para përmbanin suspension leptospirash të ngordhura të cilat ishin kultivuar në terrene me serum, efektet anësore të të cilave ishin të zakonshme. Vaksinat moderne prodhohen duke përdorur terrene pa proteina dhe përgjithësisht nuk i kanë këto efekte anësore (228). Në shumë vende të zhvilluara imunizohen derrat, macet dhe qentë shtëpiakë, por në vendet në zhvillim vaksinat nuk përmbajnë serovaret lokale. Shumë vaksina kërkojnë doza rikujtese të vaksinave në intervale vjetore. Vaksinat humane nuk kanë një aplikim të gjërë në vendet e perëndimit. Imunizimi me vaksina polivalente është më i praktikuar në lindjen e Largët ku ka shumë raste të sëmundjes në punëtorët e fushave të orizit, si p.sh, në Kinë (229) dhe Japoni. Në Francë vetëm një vaksinë monovalente për serovarën icterohaemorrhagic është liçensuar për përdorim human. Në Kubë është përpunuar një vaksinë që përmban serovaret *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae* dhe *Pomona* (229).

KAPITULLI IV

4 MATERIALI DHE METODAT

4.1 Materiali

Ky *Projekt Doktorat* paraqet një studim epidemiologjik retrospektiv, i cili hulumton rastet e hospitalizura si të suspektuara për *Leptospira spp*, gjatë periudhes 2006-2016. Në këtë studim janë analizuar 702 pacientë të cilët janë testuar për praninë e anti-*Leptospira IgM* dhe anti *Leptospira IgG*.

Kriteret përfshirëse për personat që morën pjesë në studim:

- ❖ Rastet e shtruara me shënjat klinike të Leptospirozës në Qendrën Spitalore Universitare “Nënë Tereza”
 - ❖ Të gjitha rastet e raportuara suspekt nga epidemiologët e rretheve.
 - ❖ Rastet e shtruara me shënjat klinike të Leptospirosis pranë Qëndrave Spitalore të rretheve
- Për çdo person u plotësua një formular me të dhënat individuale, të dhënat për fillimin e sëmundjes, shenjat dhe të dhënat klinike lidhur me këtë infeksion.

Në të dhënat individuale përmendim; moshën, gjinia, vendbanimin, statusin civil, profesionin, nivelin arsimor, etj. Në të dhënat për mënyrën e të sjellurit përmendim, ujin që konsumohet, kontaktet me kafshët, kushtet e jeteses, kontaktet me ujrat, etj.

Në të dhënat dhe shenjat klinike përmendim: dhimbje të forta koke, djersitje, nauzea dhe të vjella, temperaturë 39-40°C, dhimbje muskulare (*veçanërisht muskujt e barkut*), oliguri ose anuri, diarre, ikter.

Personat u grupuan në 6 grup-mosha (15-24vjeç, 25-34 vjeç, 35-44 vjeç, 45-54 vjeç, 55-64 vjeç, ≥65 vjeç) për të parë se në cilën grup-moshë ky infeksion do të hasej më shumë.

Një grupim tjetër u bë sipas profesioneve, për të parë se cili prej profesioneve do të ketë seroprevalencën më të lartë.

Dërgimi i mostrave u krye brenda 24 orëve që nga momenti i marrjes, në përputhje me rregullat e përcaktuara nga Organizata Botërore e Shëndetësisë (OBSH) për transportin dhe ruajtjen e materialeve infekte. Në pamundësi të dërgimit brenda 24 orëve, gjaku u centrifugua, u nxor serumi i cili u ruajt në frigorifer në temperaturën -20°C.

Më pas këto mostra, u dërguan në laborator, të vendosura në termobokse sipas rregullave të përcaktuara nga OBSH.

Më pas mostrat u ruajtën në frigorifer me ngrirje të thellë në temperaturën -70°C deri në momentin e kryerjes së ekzaminimit laboratorik. Është mjaft e rëndësishme të shmangët ngrirja dhe shkrija disa herë e mostrës pasi kjo gjë mund të çoj në uljen e titrit të bakterit spiroket.

Të gjitha mostrat u testuan me anën e metodës imunologjike (metoda imunoenzimatiqe ELISA indirekte Virion Serion dhe NOVATEC kit), për anti-*Leptospira* IgM, IgG.

37.32% e mostrave rezultuan pozitive për praninë e antitropave IgM, 24.25% rezultuan pozitive për antitrupat IgG.

4.2 Metodrat

Detektimi i antitropave

Zbulimi i antitropave specifik IgG dhe IgM të *Leptospira spp* me anë të testeve IFA dhe EIA janë metoda diagnostikuese për përcaktimin e infeksionit. Testet e zbulimit të antitropave të *Leptospira spp* përdoren nga laboratorë të specializuar me anën e kiteve komerciale. Pacienti fillimisht testohet për praninë e antitropave specifikndaj *Leptospira spp* të klasës IgG, duke përcaktuar statusin imun. Një titër pozitiv për IgG tregon që infeksioni ndodhet në organizëm prej disa kohësh. Për një saktësim të njohurive për kohën e infeksionit, nevojitet që një pacient pozitiv për antitrupat IgG duhet të ekzaminohet për antitrupat IgM.

Një test negativ për IgM tregon një infeksion reçent. Një test pozitiv për IgM është i vështirë të interpretohet pasi antitrupat specifik për *Leptospira spp*- IgM mund të detektohen nga EIA për një periudhë më të gjatë se 1-2 muaj pasi ka ndodhur infeksioni akut.

Nëse një pacient ka shenja klinike të përputhshme me Leptospirosën, por titri për IgM është i ulët, një përsëritje e titrit 2-3 javë më vonë duhet të tregojë një rritje të antitropave nëse sëmundja është shkaktur nga Leptospiroza akute.

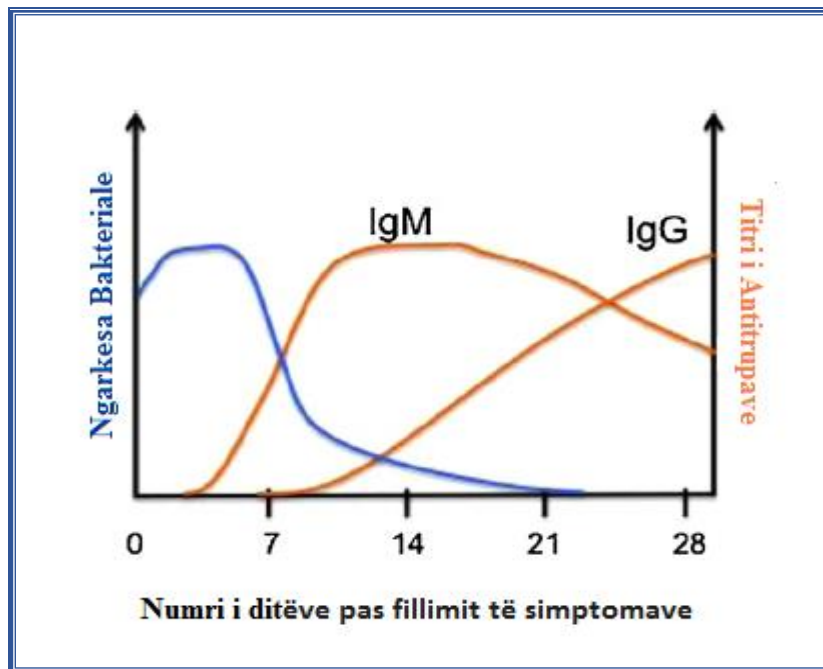


Figura 4.1 Rritja e titrit të IgM dhe IgG nga marrja e infeksionit

Në këtë studim janë përdorur dy teste ELISA (Virion Serion dhe Novatec) për detektimin e antitropave IgM dhe IgG. Më poshtë po japim me detaje protokollet e punës për të dy testet.

Protokolli i procedurës (VIRION SERION: ELISA test) për anti-IgG & IgM

Skema e ekzaminimit

Përgatitja e reagentëve. Reagentët duhet të arrijnë temperaturën e dhomës përpara se të fillohet puna. Duhet të përgatiten reagentët (hollohen) të cilët nuk janë gati për përdorim. Përgatitja e këtyre reagentëve bëhet duke u bazuar në instruksionet e kitit.

Në rastin kur përdoret testimi për antitropat IgM duhet më parë të bëhet përzierja e faktorit reumatoid me holluesin e serumit, i cili bën të mundur bllokimin e antitropave IgG për *Leptospira spp* dhe parandalon reaksionet e kryqezuara (cross-reaction) me shkaktarët e infeksioneve të tjera duke nxjerr në pah vetëm praninë e antitropave IgM në rastet kur ato janë të pranishme.

Bëhet hollimi i serumit për antitruapat IgM me holluesin e serumit në raportin 1µl:101µl (prapakisht përgatitet përzjerja 200µl faktor reumatoid me 800µl hollues serumit) dhe lihet për 15 min në temperaturën e dhomës.

Për antitruapat IgG bëhet hollimi i serumit me holluesin e serumit në raportin 1µl:101µl.

Proçedura në vazhdim është e njëjtë si për antitruapat IgM ashtu dhe për antitruapat IgG.

Shpërndahen reagentët në gropëzat e stripit duke ndjekur skemën e dhënë në instruksionet e kitit (figura 2.2). Gropëza e parë lihet bosh dhe në gropëzat më pas hidhet nga 100 µL kontroll negativ, 100 µL kontroll cut-off (2 herë), 100 µL kontroll pozitiv dhe pastaj hedhim me radhë nga 100 µL për çdo serum të holluar.

Inkubohen për 1 orë në termostatat në temperaturën $37^{\circ}\text{C} \pm 2$, derdhet likidi, bëhet shpëlarja e stripeve (4 herë nga 300µl çdo gropëz) në mënyrë të përsëritur me Wash Buffer.

Hidhet 100µl Working Enzyme Tracer (konjugati) brenda të gjitha gropëzave përveç gropëzës së bardhë. Inkubohet për 30 min ± 5 në termostatat në 37°C , derdhet likidi, bëhet shpëlarja e stripeve (4 herë nga 300µl çdo gropëz) në mënyrë të përsëritur me Wash Buffer.

Hidhet 100µl Chromogen/Substrate brenda të gjitha gropëzave. Inkubohet për 30 ± 5 minuta në temperaturën 37°C .

Hidhet solucioni stopues 100µl brenda të gjitha gropëzave.

Bëhet leximi i vlerave të absorbancës me një Fotometer në 450/630 nm, brenda 30 minutave pasi kemi hedhur solucionin stopues.

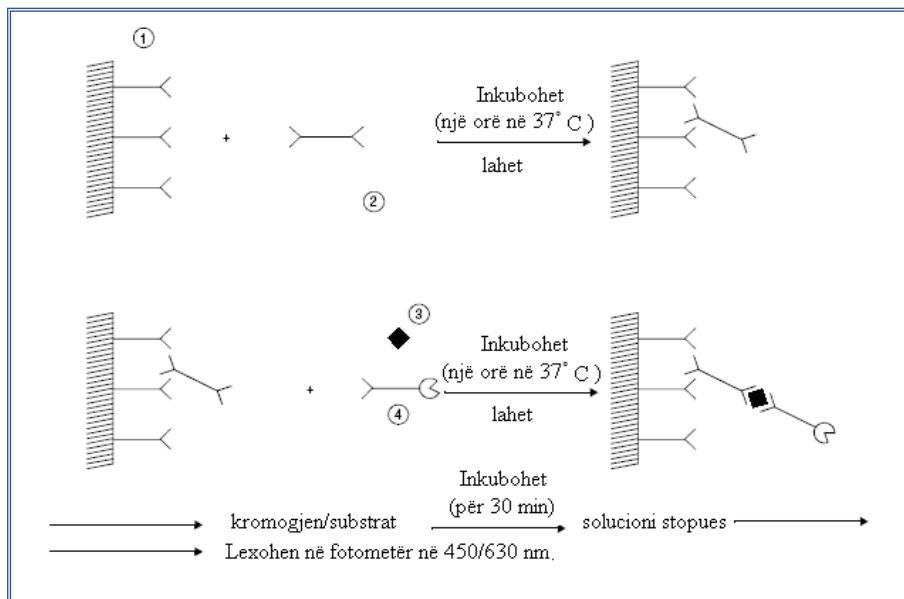


Figura 4.2 Paraqitja skematike e testit ELISA

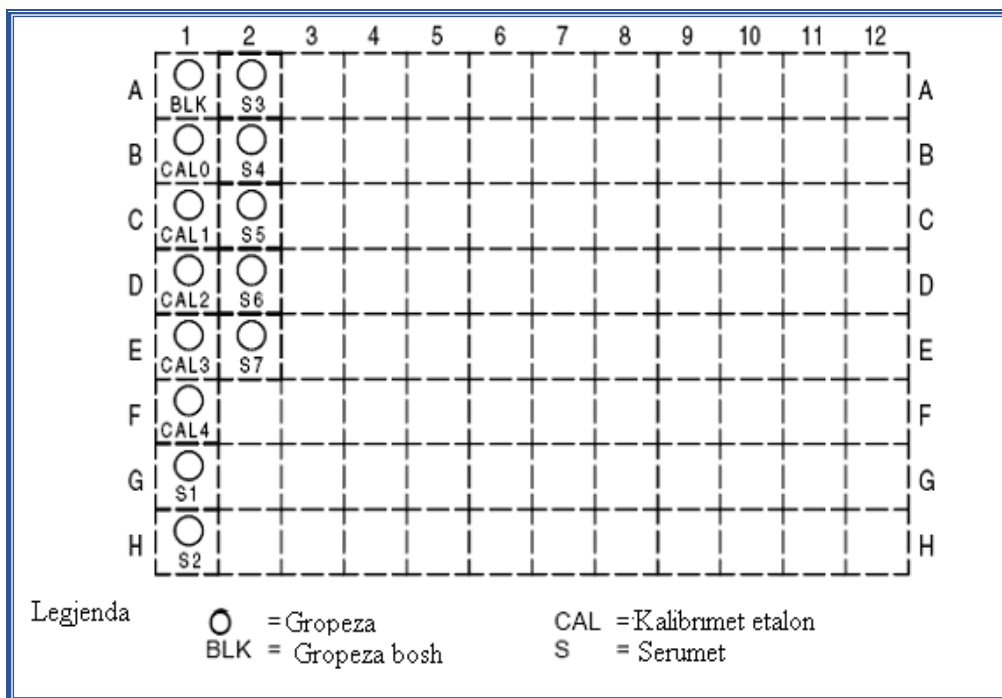


Figura 4.3 Paraqitja skematike e hedhjes së solucioneve dhe serumeve në pllakën ELISA

Kalkulimi rezultateve për kitin ELISA klasike *Leptospira spp* IgG

Rezultati pozitiv	>20 IU/ml
Rezultati i dyshimtë	10-20 IU/ml
Rezultati negativ	<10 UI/ml

Kalkulimi i rezultateve për kitin ELISA klasike *Leptospira spp* IgM

Rezultati pozitiv	>350 U/ml
Rezultati i dyshimtë	300-350 U/ml
Rezultati negativ	<300 U/ml

Përpunimi i vlerave të dalta nga ekzaminimet bëhet duke u bazuar në gjetjen e vlerës së titrit në kurbat standarte të dhëna nga kiti (figura 4.4).

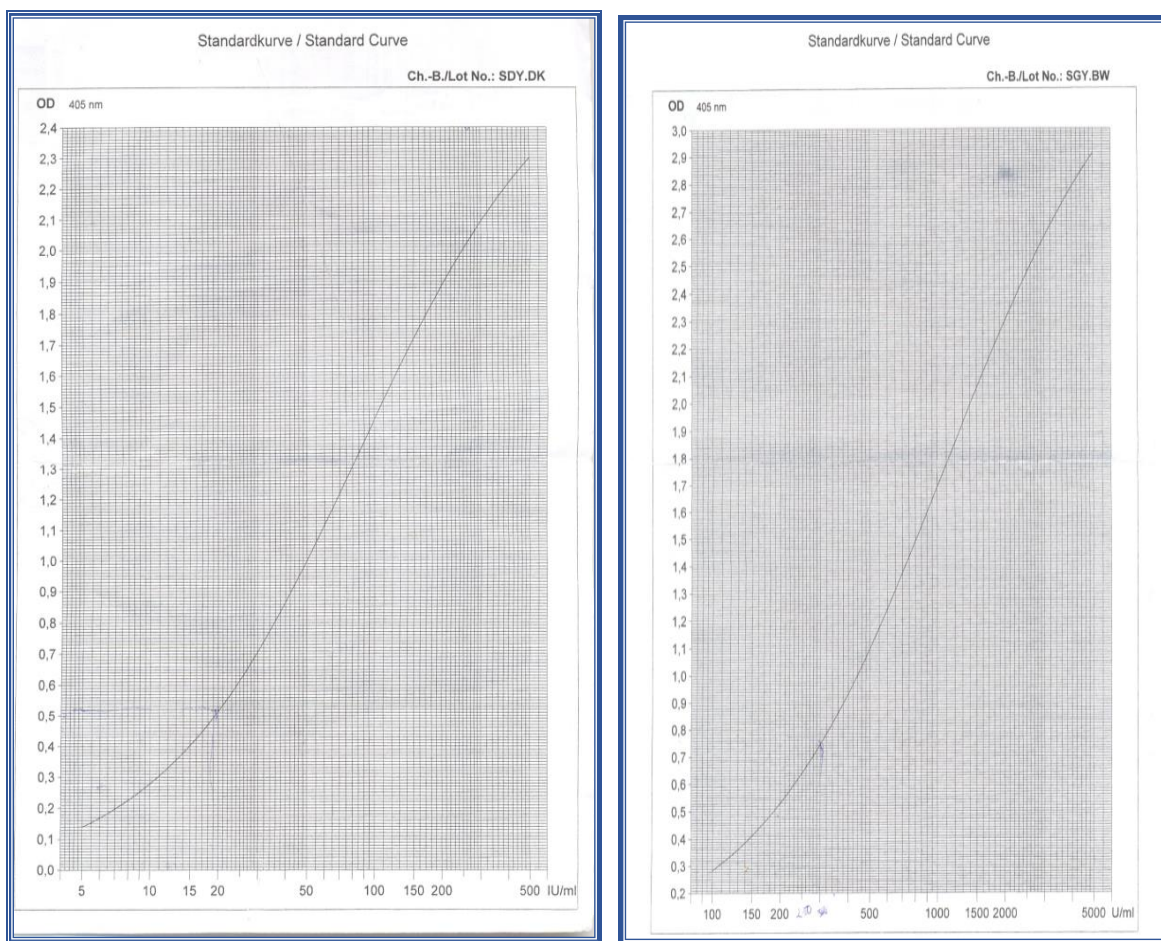


Figura 4.4 Kurbat e leximit për antitruapat IgG & IgM

Protokolli i procedurës (NOVATEC Immunodiagnostica GMBH: ELISA test) për anti-*Leptospira* IgG & IgM

Skema e ekzaminimit

Përgatitja e reagentëve. Reagentët duhet të arrijnë temperaturën e dhomës përpara se të fillohet puna. Duhet të përgatiten reagentët (hollohen), të cilët nuk janë gati për përdorim. Përgatitja e këtyre reagentëve bëhet duke u bazuar në instruksionet e kitit (Fig. 2-1).

Bëhet hollimi i serumit për antitruapat IgM dhe IgG me holluesin e serumit në raportin 1:101 (10µl serum me 1000µl hollues serumi).

Bëhet hedhja e reagentëve në gropëzat e stripit duke ndjekur skemën e dhënë në instruksionet e kitit. Gropëza e parë lihet bosh dhe më pas hedhim 100 µL kontroll negativ, 100 µL Cut-off (dy gropëza), 100 µL kontroll pozitiv dhe më pas hedhim nga 100 µL për çdo serum të holluar (figura 2.4). Pllaka mbulohet me letër adezive.

Inkubohen për 1 orë në termostat në temperaturën $37^{\circ}\text{C}\pm 1$, derdhet likidi, bëhet shplarja e stripeve (4 herë nga 300µl çdo gropëz) në mënyrë të përsëritur me Wash Buffer.

Shmanget derdhja nga gropëzat e reaksionit. Koha e thithjes së solucionit shplarës midis çdo cikli të shplarjes duhet të jetë >5 sekonda. Në fund lëvizim me kujdes fluidin e mbetur duke e prekur me shirita letrash indesh përpara hapit tjetër.

Shënim: Shplarja e pamjaftueshme rezulton në ulje të saktësisë dhe absorbancë me vlera false të rritura.

Hidhet nga 100µl konjugat për *Leptospira spp* anti-IgM dhe anti-igG në gropëzat respektive me përjashtim të gropëzës së Blank Substratit (p.sh. A1).

Mbulohet me adeziv dhe inkubohet për 30 minuta në temperaturë dhome pa e ekspozuar në dritë dielli.

Pas inkubimit ribëhet përsëri shplarja në të njejtën mënyrë si herën e parë.

Hidhet nga 100µl solucion substrat TMB në të gjitha gropëzat dhe inkubohet përsëri në temperaturë dhome ($20-25^{\circ}\text{C}$), në errësirë.

Pas inkubimit pllakëza nxirret nga vendi i errët dhe hidhet nga 100µl solucion stopues në të gjitha gropëzat, në të njejtën radhë dhe në të njejtin ritëm, si për substratin TMB.

Ngjyra blu e formuar gjatë inkubimit kthehet në të verdhë.

Në fund bëhet matja e absorbancës së mostrës në 450/620nm menjëherë ose deri 30 minuta pas shtimit të solucionit stopues.

Interpretimi i Rezultateve

Kriteret e vlefshmërisë së ekzaminimit

Në mënyrë që një ekzaminim të konsiderohet i vlefshëm, duhet të përmbushen kriteret e mëposhtme:

Tabela 4.1 Kriteret e vlefshmërisë së ekzaminimit

	Blank Substrat	Vlera e absorbancës < 0.100
Gropëza B1	Kontroli negativ	Vlera e absorbancës < 0.200 dhe < Cut-off
Gropëza C1dhe D1	Kontroli Cut-off	Vlera e absorbancës 0.150-1.300
Gropëza E1	Kontroli pozitiv	Vlera e absorbancës > Cut-off

Nëse këto kritere nuk përmbushen, testi nuk është i vlefshëm dhe duhet të përsëritet.

Përlllogaritja e rezultateve të përfuara

Cut-off nënkupton vlerën mesatare të absorbancës së kontrollit cut-off të marrë nga leximi i pllakës me ELISA Reader.

Shembull: Pas leximit nëse vlera e absorbancës së kontrollit të parë cut-off (gropëza C1) del 0.44 kjo do të mblidhet me vlerën e dytë të absorbancës së kontrollit cut-off (gropëza D1) që del 0.42 dhe rezultati i përftuar do të jetë i barabartë me $0.86/2 = 0.43$

$$\text{Mesatarja e Cut-off} = 0.43$$

Interpretimi i Rezultateve në Units [NTU]

Vlerat e rezultateve të përfutuara pas ekzaminimit mund të kthehen në Units me anë të formulës.

$$\frac{\text{Vlera (mesatare) e absorbancës së pacientit} \times 10}{\text{Cut - off}} = [\text{Nova tec Units}]$$

Shembull: $(1.591 \times 10)/0.43=37$ NTU (Units).

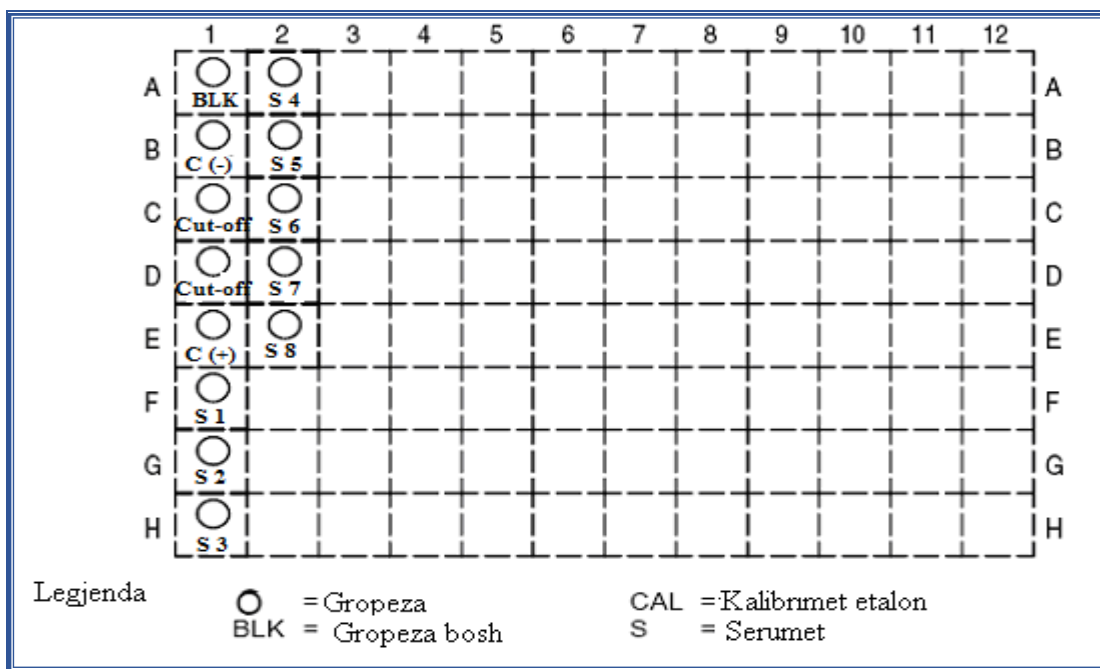


Figura 4.5 Paraqitja skematike e hedhjes së solucioneve dhe serumeve në pllakën ELISA NOVATEC

Më pas bëjmë interpretimin e vlerave të marra nga lexuesi automatik për të dhënë përfundimin e ekzaminimit të rasteve të suspektuara për *Leptospira spp*. Cili rast do të konsiderohet negativ dhe cili pozitiv përcaktohen me ndihmën tabelës së mëposhtme

Tabela 4.2 Interpretimi i rezultateve

Cut-off	10 NTU	-
Pozitive	> 11 NTU	Antitruapat kundrejt patogjenit janë prezente. Ka pasur një kontakt me antigjenin (patogjen respirator, vaksinë).
E dyshimtë	9-11 NTU	Antitruapat kundrejt antigjenit nuk mund të zbulohen qartësisht. Rekomandohet të përsëritet testi me një serum të ri brenda 2-4 javësh.
Negative	< 9 NTU	Serumi nuk përmban antikorpe kundrejt patogjenit. Nuk ka gjasa të ketë ndodhur një kontakt i mëparshëm me antigjenin (patogjen respirator, vaksinë).

Diagnoza e një sëmundjeje infektive nuk duhet të vendoset mbi bazën e rezultateve të një testi të vetëm. Një diagnozë e saktë duhet të marr në konsideratë historinë klinike, simptomatologjinë, si dhe të dhënat serologjike. Vetëm në pacientët e imunokompromentuar dhe të porsalindurit, të dhënat serologjike kanë vlerë të kufizuar.

Specificiteti Diagnostik i këtij kiti është 96.0%, ndërsa Sensitiviteti Diagnostik është >98%.

Kujdes: Shpesh herë në diagnozat serologjike të sëmundjeve infektive mund të kemi dhe raste të reaksioneve të kryqëzuara. Në testin ELISA NOVATEC nuk mund të përjashtohet që mostrat me *Cytomegalovirus*, *Treponema palladium* dhe *Cociella* mund të rezultojnë me rezultate fals positive për antitruapat IgM. Përveç kësaj duhet të shënohet se klasa e antitruapave IgM, prodhuar kundrejt *Leptospira.spp* në përgjithësi qëndron e zbulueshme për muaj ose edhe vite, por me një titër të ulët.

4.3 Testi i aglutinimit mikroskopik (MAT)

Metoda e referencës për diagnozën serologjike të sëmundjes Leptospirozë është Testi i aglutinimit mikroskopik (MAT), ku serumi i pacientit vihet të reagojë me suspensione antigenesh të gjalla të

serovareve të *Leptospira spp* dhe leximi bëhet në mikroskop me fushë të errët. Pika fundore është hollimi më i madh i serumit në të cilin ndodh aglutinimi i Leptospirave në masën 50%.

Për shkak të vështirësisë në interpretim se kur janë aglutinuar 50% të Leptospirave si pikë përfundimtare konsiderohet prania e rreth 50% të Leptospirave të lira të paaglutinuara, e krahasuar kjo me suspensionin e kontrollit. Laboratorë të ndryshëm përdorin nivele të ndryshme cut-off për diganozën që variojnë nga 1/100 deri në 1/800, por këto përfundime mund të rezultojnë në mbi diagnostikim apo mbivlerësim të ngarkesës së sëmundjes. Prandaj është e rëndësishme të përcaktohet një nivel titri bazal për komunitetin që merret në studim.

Në testin MAT, vihet re një shkallë e lartë e reaksioneve të kryqëzuara që ndodhin ndërmjet serogrupeve të ndryshme, veçanërisht në mostrat që analizohen në faza akute të infeksionit. Këto reaksione të kryqëzuara e ndërlikojnë më tepër interpretimin e rezultateve.

Disavantazhet e kësaj teknike janë disa;

Kulturat e gjalla të të gjithë serovarëve që nevojiten për t'u përdorur si antigenë duhet të mirëmbahen, pavarësisht nëse testi kryhet me antigenë të gjallë ose antigenë të vrarë me formalinë.

Testi MAT ka një rrezik të vazhdueshëm të kontaminimit të kryqëzuar të kulturave të antigenit, dhe kërkon një verifikim periodik të çdo serovari.

Titrat MAT ndikohen nga mjedisi i kulturës në të cilin janë rritur antigenet. Për më tepër, subkultura e përsëritur javore e një numri të madh të shtameve paraqet rrezik për punonjësit e laboratorit.

Proçedurat e testit të aglutinimit mikroskopik:

Për të zbuluar praninë e antitropave anti-leptospira përdoret testi i aglutinimit mikroskopik MAT. Kulturat e gjalla të serovareve të zgjedhura për këtë analizë janë: *Grippytyphosa*, *Sejroe*, *Australis*, *Pomona*, *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Ballum*, *Autumnalis*, *Copenhageni*, *Bratislava*, *Hardjo*.

Prej kulturave të gjalla përgatim një suspesion me përqendrim $12 \cdot 10^8$ leptospira/ml që i kemi kultivuar parapakisht në terrenin EMJH (Ellinghausen–McCullough–Johnson–Harris) në 30°C që janë kontrolluar paraprakisht për pastërtinë, motilitetin dhe mungesën e autoaglutinimit.

Nga pacientët e suspektuar, u mor 4 ml gjak në tuba të thjeshtë, u la të koagulohej për 30 minuta dhe më pas u centrifugua në 1300 rpm për 10 minuta. Serumi u nda dhe u përgatitën alikuote me nga 500 µl, të cilët u ruajtën në -20°C dhe -80°C respektivisht për ruajtje afatshkurtër dhe afatgjatë. Procedura e ndarjes dhe ruajtjes së serumit u krye brenda 2 orëve nga mbledhja e mostrës. Një mostër serumi pasues u mblodh tre javë nga fillimi i etheve dhe u përgatit dhe u ruajt në mënyrë të ngjashme.

Procedura e testit diganostik MAT

1. Fillimisht me anë të një mikropipete mbushen me 50 µl solucion PBS pH 7.2 të 96 gropëzat e pllakës së mikrotitrimin. Kolën e parë e lëmë vetëm me solucionin PBS.
2. Në kolonën e dytë të pllakës së mikrotitrimin shtohet dhe 40 µl të tjerë të solucionit PBS.
3. Shtohet 10 µl të serumit që do të testohet tek gropëzat e kolonit të dytë të pllakës së mikrotitrimin (hollimi tani është 1:10).
4. Pasi behet një përzierje me anë të mikropipetës në gropëzat e kolonës së dytë merret 50µl nga kjo përzierje dhe kalohet tek kolona e tretë. Bëhet një përzierje deri në 3 herë dhe vazhdohet të behet e njëjta gjë nga njëra kolonë në tjetrën. Në fund 50µl që kemi shtuar në kolonën e 12 pas përzierjes hidhen jashtë në enën e mbetjeve.
5. Më pas i shtojmë çdo gropëze nga 50µl kulturë Leptospira. Hollimi në kolonën e dytë tashmë arrin në 1:20, në kolonën e tretë arrin në 1:40 e kështu me radhë.
6. Pjata mbulohet me një mbulesë plastike të tejdukshme dhe kalon në cetrifugë mikro-shaker për tu perzier shumë ngadalë për disa minuta.
7. Pllaka më pas vendoset në termostat për rreth 2 orë në temperaturën 30°C. Si alternativë inkubimi mund të relizohet dhe në ambjentet e dhomës përgjatë gjithë natës dhe më pas ti nënshtrohet testimit mikroskopik.

Leximi i rezultateve të testit

Përzierjet serum-antigen ekzaminohen me anë të një mikroskopi me fushë të errët me zmadhim 200X për të parë nëse ka ndodhur aglutinimi. Për të vëzhguar secilën nga gropëzat duhet që me anë të një anse merret një pikë suspension nga gropëza e parë A1 dhe transferohet në një lamë të pastër që e kemi pozicionuar në tavolinën e mikroskopit. Leximi për një shtam bëhet në kolonë

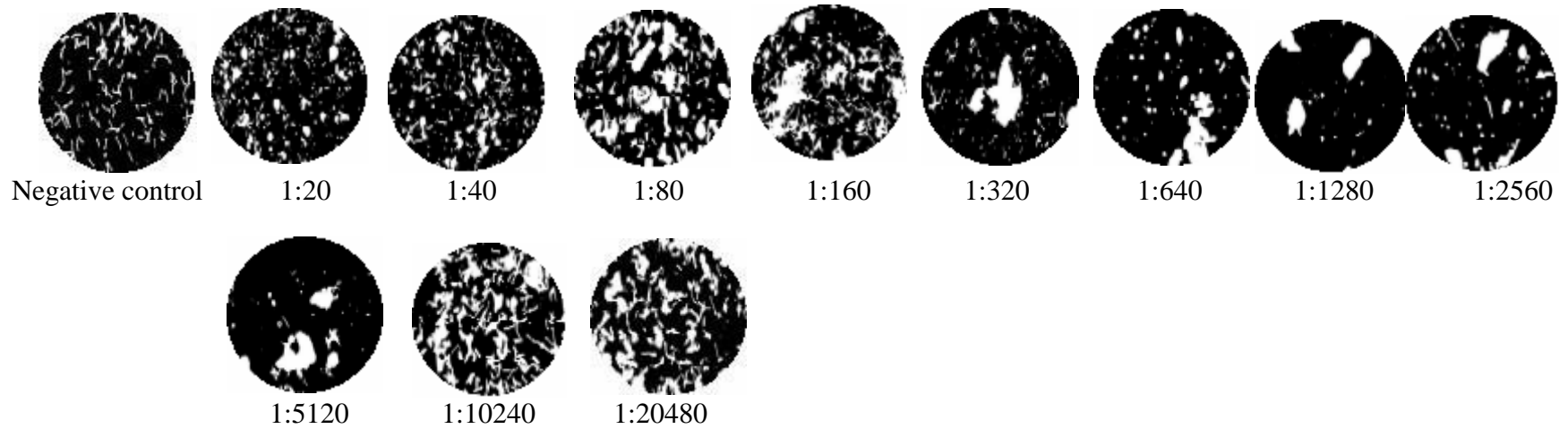
horizontalisht. Titri duhet të përcaktohet nëse hollimi na jep 50% aglutinim, dhe ndërkohë që i lë 50% të qelizave të lira, të lëvizshme. Përcaktimin i titrit bëhet me shumë kujdes. Për këtë ajo duhet të krahasohet me një suspension kontrolli të leptospire të holluar në raportin 1:2 në PBS pa serum. Kujdes në rastet kur përdoren antigjenet e vrarë nga formalina, Titri i pikës fundore duhet të vendoset në hollimin më të lartë që ende jep aglutinim. Kështu rregulli i aglutinimit 50% nuk zbatohet në këtë rast.

Tabela 4.3 Shembull i pllakës së titrimit për testin MAT

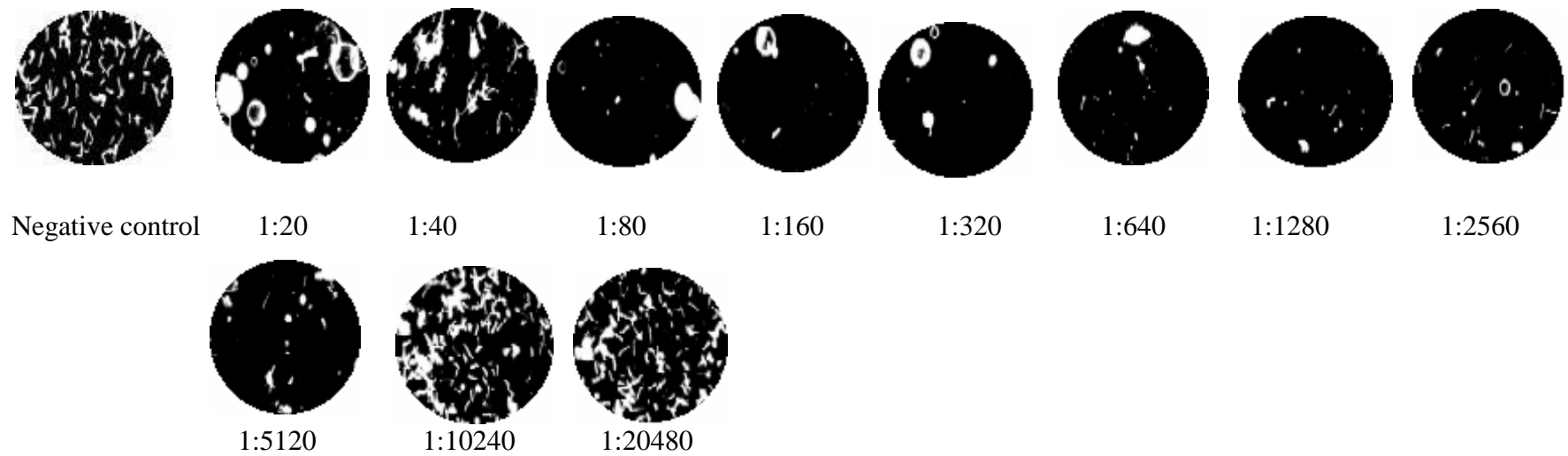
		Kontroll	1:10 Hollimi i serumit	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240
			1:20 Hollimi final	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Shtam 1	A												
Shtam 2	B												
Shtam 3	C												
Shtam 4	D												
Shtam 5	E												
Shtam 6	F												
Shtam 7	G												
Shtam 8	H												

Kujdes! Leptosirat rriten në terren EMJH dhe inkubohen për 5-7 ditë në 30°C dhe më pas kontrollohen me mikroskop me fushë të errët për densitet adekuat dhe mungesë të baktereve kontaminuese. Mostrat që përmbajnë serum duhet të ruhen në -20°C. Përpara ekzaminimit, mostrat e serumit duhet të kontrollohen për praninë e mbeturinave ose baktereve kontaminuese që mund të ndërhyjnë në ndodhjen e aglutinimit. Në disa raste mund të jetë e nevojshme të hiqen mbeturinat ose ndotësit me anë të centrifugimit. Çdo mostër serumi do të hullohet në mënyrë serike dhe do të ekzaminohet për aglutinueshmërinë e antigjeneve të gjalla.

A



B



C

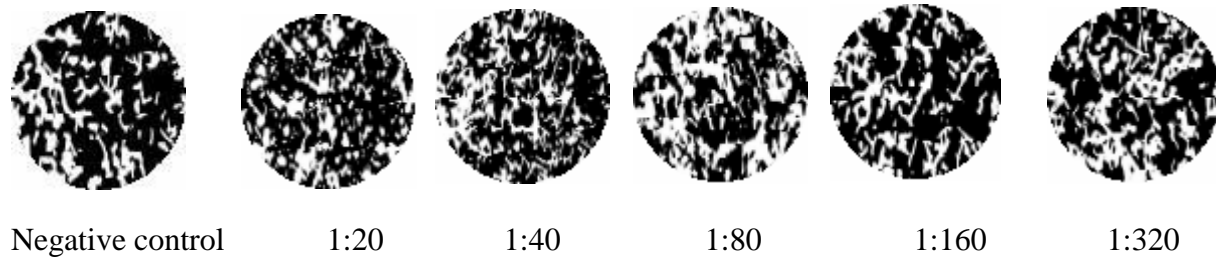


Figura 4.6 Mikroaglutinimi i serumit bazuar në hollime të ndryshme

Përdorimi i MAT

Krahas përdorimit të MAT për serodiagnozë, teknika mund të aplikohet për përcaktimin serologjik të Leptospire. Teknika MAT mund të përdoret dhe për absorbimin cross-aglutinues, e cila konsiston në analizat e aglutinimit të kryqëzuar dhe të përthithjes së kryqëzuar, në analizat e tipizimit me antitropa monoklonale dhe poliklonalë.

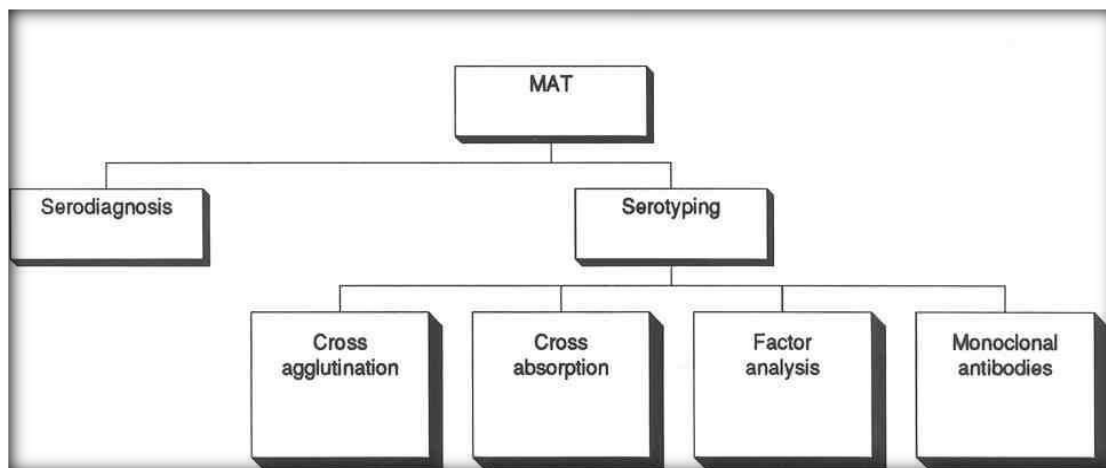


Figura 4.7 Skema e përdorimit të testit MAT

4.4 Analiza Sasiore e të dhënave

Hedhja e të dhënave për secilin pacient dhe analiza e tyre u bë duke përdorur software SPSS version 20.0. Në analizën statistikore të të dhënave të përfthuara u përfshinë disa variabla. Fillimisht të dhënat u analizuan për trendin e prevalencës përgjatë viteve të studimit dhe për dallimet ndërmjet gjinisë dhe moshës.

Normat e vdekshmërisë është llogaritur duke pjestuar numrin e vdekjeve me numrin total të rasteve të konfirmuara laboratorikisht. Të dhënat e përfthuara nga pavionet respektive të Spitalit Universitar ‘Nënë Tereza’ u përdorën për të dhënë një pasqyrë të patologjive, shenjave klinike dhe menaxhimin klinik të rasteve të analizuara.

Moshën është konsideruar variabël sasiore i vazhdueshëm dhe është testuar me Wald χ^2 test, ndërsa gjinia është konsideruar variabël binar (femër/mashkull). Diagnoza, u konsiderua variabël diskret, nominal. Të dhënat deskriptive janë paraqitur me anë të mesatares, frekuencës dhe përqindjes. Për të realizuar ashpërsinë e sëmundjes dhe lidhjen e variablave demografik dhe faktorëve të riskut me diganozën të dhënat u analizuan për çdo vit duke përdorur testin χ^2 , testi i studentit dhe testi ekzakt i Fisher. Krahasimet ndërmjet variablave të vazhdueshëm janë analizuar duke përdorur testet jo-parametrike (Mann-Whitney, t-test).

Burimi i mundshëm i ekspozimit u përcaktua sipas llojit të kontaktit (lidhur me punën, aksidentale, aktivitete rekreative etj) dhe rrugës së infeksionit (ujë, kafshë ose burim tjetër). Analiza e këtyre të dhënave për të përcaktuar lidhjen ndërmjet faktorëve u bë bazuar në regresionin logistic multivariant për odds ratio 95% CI, dhe vlerat e $p \leq 0.05$ janë konsideruar statistikisht sinjifikative.

Paraqitja e të dhënave u krye më anë të tabelave dhe figurave të shoqëruara me shpjegimin përkatës. dhe regresioni logjistik.

Skeda për *Leptospira spp*

Kodi _____	Data: ___/___/_____
Vendi i marrjes së mostrës _____ /Lloji i mostres _____ /	
Diagnoza e pranimit _____	
<u>Pjesa demografike</u>	
Emer Mbiemer _____	
Mosha _____ Seksi M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Profesioni _____ /	
Rrethi _____ / Urban _____ / Rural _____ /	
Komuna _____ / Fshati _____ /	
Arsimimi: Pa arsim <input type="checkbox"/> Fillore <input type="checkbox"/> 8 vjeçar <input type="checkbox"/> I mesem <input type="checkbox"/> I larte <input type="checkbox"/>	
Dita e fillimit të sëmundjes _____ /	
Data vizites së parë mjeksore _____ / Institucioni ku është bërë vizita e parë _____ / Emri i mjekut _____	
Data e shtrimit _____ / Institucioni _____ / Ditët e qëndrimit _____	
Llojet e analizave laboratorike	

<u>Pjesa klinike</u>	
Dhimbje të forta koke	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Djersitje	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Nauza dhe të vjella	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Dhimbje epigastrike	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Temperature 39-40°C	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Dhimbjet muskulare	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
<i>(veçanerisht muskujt e barkut)</i>	
Urënim i paket ose mosurimin	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
<i>(prej disa orësh ose ditësh)</i>	
Urënim me ngjyre të erret	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Diarre	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Ikter	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>
Të tjera	PO <input type="checkbox"/> JO <input type="checkbox"/>

Pjesa epidemiologjike

Faktoret e riskut

Zoteron bageti ne mjediset ku jeton PO JO

Kontakte me kafshe Mace Qen Derra Pula
Lope Dele

Lloji i ujit qe konsumohet Rrjeti Ambalazhuar Lumi

Pusi Burimi

a. Pus i mbyllur ____ Burim i mbyllur ____

b. Pus i hapur ____ Burim i hapur ____

Kontakte me haspira ujore Pishina Kanale Liqene Burime
Lumenj

Kushtet e banimit e mire mesatare e keqe

Shtepi private _____ / Apartament _____

Prania e banjos (WC) PO JO

Nese PO

Jashte shtepise Brenda Shtepise

Kanalizim Grope septike

Distanca ne metra e pusit nga gropa septike ____ | ____

Sasia e ujit te pijshem gjate 24 oreve

c. E mjaftueshme

d. E pa mjaftueshme

Pjesa laboratorike

Jeni ekzaminuar me pare per Leptospiren? PO JO

Nese po si ka dale konfirmimi? Negativ I dyshimte Pozitiv

Jeni ekzaminuar me pare per Ethe hemorragjike? PO JO

Nese po si ka dale konfirmimi? Negativ I dyshimte Pozitiv

Laboratori ku jane kryer ekzaminimet ne se ka dale leptospiroze apo EH:

Privat Emri i laboratorit _____

Publik Emri i laboratorit _____

Ekzaminimi ne Laborator: ELISA IgM _____ / ELISA IgG _____

Diagnoza perfundimtare _____

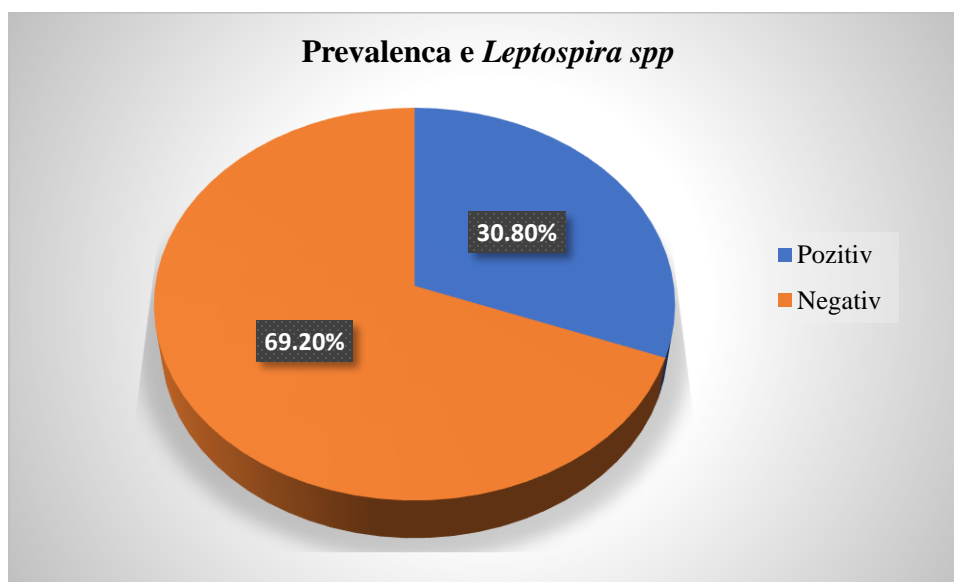
A keni perdorur antibiotike Po Jo

Lloji i antibiotikut te perdorur _____

KAPITULLI V

5. REZULTATE DHE DISKUTIME

Ky është një studim epidemiologjik retrospektiv në të cilin janë analizuar 702 mostra gjaku të suspektuara për *Leptospira spp* për më shumë se një dekadë (viti 2006 deri në vitin 2016). Pacientët kanë qënë të gjithë të hospitalizuar pranë Qendrës Universitare “Nënë Tereza” dhe në disa Spitale të rretheve. Prevalenca e rasteve pozitiv me ELISA për *Leptospira spp*, rezultoi 30.8% (216/702) (grafiku 5.1).



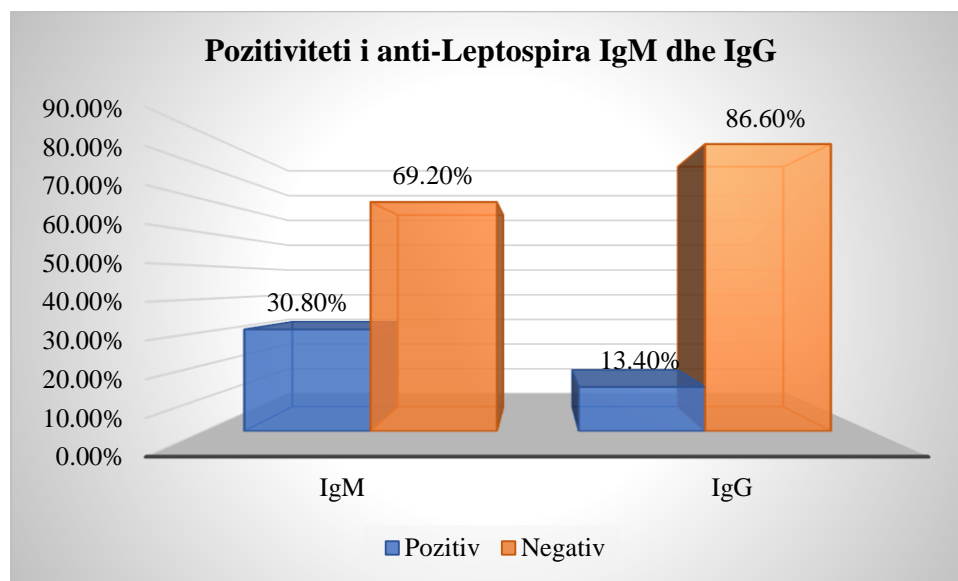
Grafiku 5.1. Prevalenca e *Leptospira spp* në pacientët e hospitalizuar

Ashtu siç kemi shpjeguar në pjesën teorike, që nga momenti i hyrjes së bakterit Spiroket *Leptospira spp*, në organizëm duhen disa ditë derisa të shfaqen vlera të konsiderueshme për antitruapat IgM dhe IgG. Shpesh në rastet e suspektuara bindshëm klinikisht, në momentin e testimit të serumit të përftuar nga këta pacient janë marrë rezultate negative ose të dyshimta për IgM. Për këtë arsye është kërkuar serum i dytë. Vlerat e përftuara mund të na kenë dhënë një rast pozitiv për IgM dhe negativ për IgG, pozitiv për IgM dhe pozitiv për IgG ose pozitiv për IgM dhe i dyshimtë për IgG. Në tabelën e mëposhtme kemi paraqitur numrin e rasteve pozitiv dhe negativ për anti-*Leptospira* IgM dhe anti-*Leptospira* IgG.

Tabela 5.1 Frekuenca e shpërndarjes së anti-*Leptospira* IgM dhe IgG

Anti- <i>Leptospira</i>	IgM pozitiv	IgM negativ	IgG pozitiv	IgG negativ
Frekuenca	216	486	94	608
%	30.8%	69.2%	13.4%	86.6%

Pozitiviteti i antitropave në momentin e testimit rezultuan 30.8% për IgM dhe 13.4% për IgG.



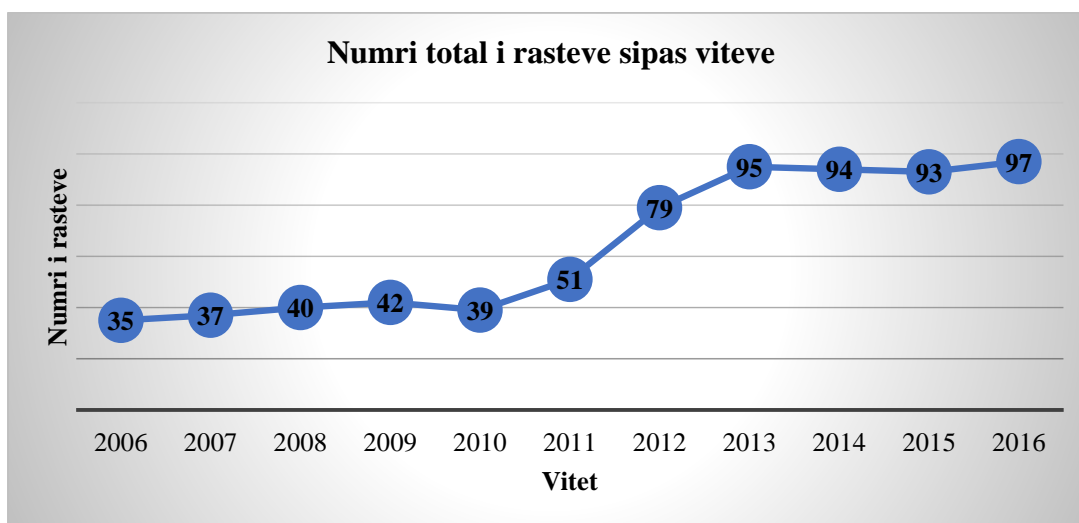
Grafiku 5.2. Përqindja e rasteve pozitive për *Leptospira spp* IgM dhe IgG në pacientët e hospitalizuar

Përgjatë viteve kemi patur një variacion të rasteve të suspektuara. Nga përlllogaritjet mesatarja vjetore e rasteve të analizuarra për të dy antitropat (IgM dhe IgG) ka qenë 63.8 . Minimumi i rasteve ka qenë në vitin 2006 (35 raste në total) ndërsa maksimumi i rasteve të analizuarra ka qenë në 2016 (97 raste në total) (tabela 5.2).

Tabela 5.2 Shpërndarja e numrit të rasteve sipas viteve të marra në studim

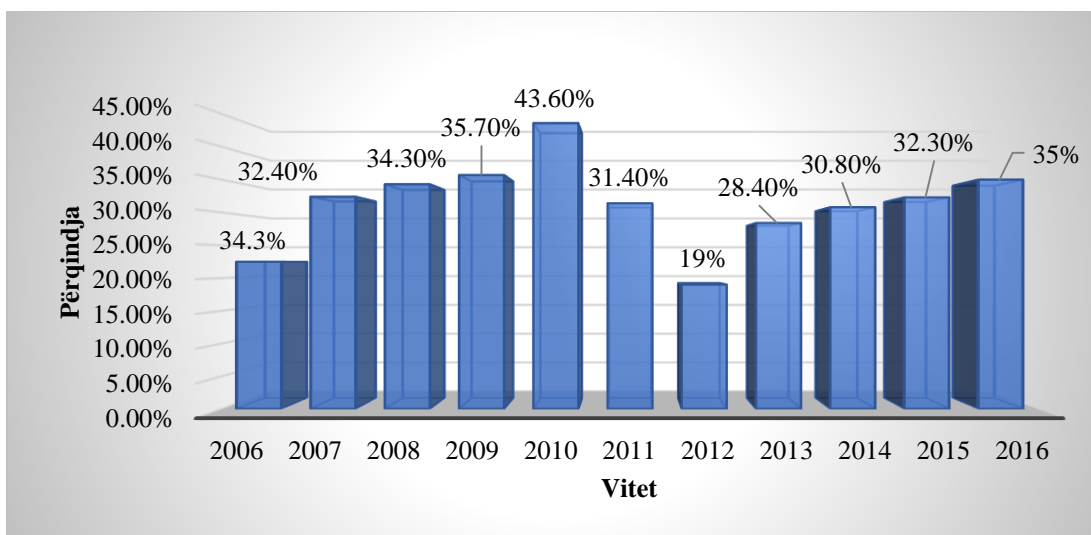
Vitet	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Numri total i rasteve sipas viteve	35	37	40	42	39	51	79	95	94	93	97
Përqindja e rasteve	5%	5.3%	5.7%	6%	5.5%	7.3%	11.3%	13.5%	13.4%	13.2%	13.8%
Pozitiviteti sipas viteve	12	12	9	15	17	16	15	27	29	30	34
Prevalenca	34.3%	32.4%	34.3%	35.7%	43.6%	31.4%	19%	28.4%	30.8%	32.3%	35%

Në grafikun e mëposhtëm kemi paraqitur numrin total të rasteve për secilin vit të marrë në studim. Ashtu siç vihet re dhe në grafik, numri i rasteve të suspektuara për *Leptospira spp* ka ardhur duke u rritur nga viti në vit. Në vitin 2011 kemi një rritje të dukshme të rasteve të analizuara si të suspektuara për *Leptospira spp*. Më pas ky numër vjen në rritje dhe prej vitit 2013 deri në vitin 2016 kemi një numër të përafërt të rasteve të analizuara.



Grafiku 5.3 Shpërndarja e rasteve sipas numrit total të rasteve suspekte për *Leptospira spp*

Përsa i përket pozitivitetit të rasteve të suspektuara, vihet re një luhatje mjaft e madhe e pozitivitetit përgjatë viteve 2006-2016. Vlen të theksojmë se pozitiviteti më i lartë vihet re në vitin 2010 me prevalencë 43.6%, ndërsa pozitiviteti më i ulët vihet re për vitin 2012 me 19%.



Grafiku 5.4 Prevalenca e *Leptospira spp* për vitet 2006-2016

Shërbimet nga të cilat janë referuar rastet pranë ISHP dhe më pas janë sjellë mostrat e gjakut për diagnozë kanë qënë kryesisht nga Shërbimi i Sëmundjeve Infektive me 80.3% (578/702) të rasteve në total. Nga Shërbimi i Gastro-Hepatologjisë rezultuan 1.4% (10/702) e rasteve, nga Shërbimi i Nefrologjisë 4.8% (34/702) e rasteve dhe nga shërbimi i Reanimacionit Qëndror rezultuan 4% (28/702) e rasteve. Gjithashtu 7.4% (52/702) e pacientëve të analizuar janë referuar nga mjekët e spitaleve të rretheve (tabela 5.3).

Tabela 5.3 Shpërndarja e rasteve sipas shërbimeve dhe pozitiviteti për secilin prej tyre

Shërbimet	Frekuenca	Përqindja	Pozitiviteti	P value
Shërbimi i Gastro-Hepatologjisë	10	1.4%	6	P=0.06
Shërbimi Infektiv	578	80.3 %	156	P=0.031
Shërbimi i Nefrologjisë	34	4.8%	19	P=0.0006
Reanimacioni Qëndror	28	4%	11	P=0.15
Referuar nga spitalet e rretheve	52	7.4%	24	P=0.0042

Leptospiroza është një sëmundje infektive, për pasojë numri më i lartë i rasteve të hospitalizuara i përkasin shërbimit infektiv dhe më pak shërbimeve të tjera. Edhe pozitiviteti është më i lartë për shërbimin infektiv. Kështu nga 578 raste të analizuara si të suspektuara nga shërbimi Infektiv, 156 prej tyre rezultuan si pozitive me një ndryshim të fortë sinjifikativ me shërbimet e tjera $p=0.031$.

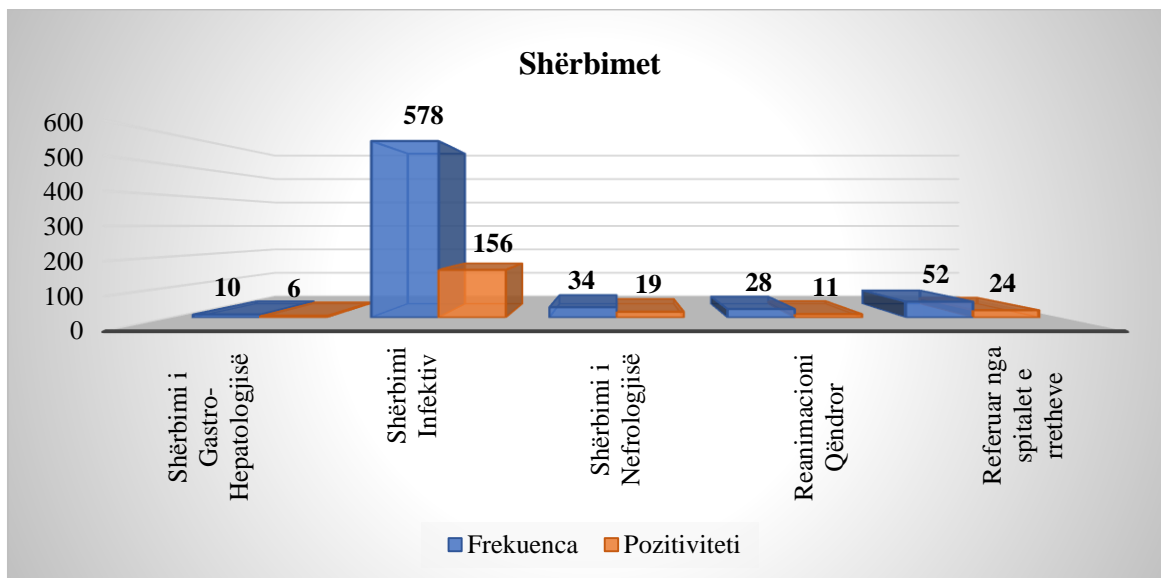
Nga shërbimi i Gastro–Hepatologjisë janë referuar përgjatë këtyre viteve të marrë në studim vetëm 10 raste si të supektuar apër *Leptospira spp*, ku 6 rej tyre rezultuan si pozitive. Në këtë rast nuk u vu re një lidhje sinjifikative ndërmjet numrit të rasteve të analizuara dhe pozitivitetit $p=0.06$.

Shërbimi i Nefrologjisë ka referuar 34 raste si të suspektuara nga të cilat si pozitive rezultuan 19. Lidhja sinjifikante që u vu re në këtë shërbim rezultoi shumë e fortë $p=0.0006$.

Nga Reanimacioni Qëndror u referuan si të suspektura për *Leptospira spp* 28 raste gjithësej nga të cilat rezultuan si pozitive 11 raste. Në këtë rast nuk u vu re një lidhje sinjifikative.

Ashtu siç e përmendëm më sipër, shumë raste të suspektuara na janë referuar nga spitalet e rretheve të ndryshme. Në total janë referuar 52 raste dhe pas analizës laboratorike për anti-leptospira pozitiviteti rezultoi në 24 prej tyre.

Një ndryshim i fortë sinjifikant u vu re në këtë rast për CI 95% p value 0.0042.



Grafiku 5.5 Shpërndarja e rasteve bazuar në shërbimet përkatëse

Leptospiroza mendohet si një sëmundje me sezonalitet. Ajo shfaqet më së shumti në rritjen e intesitetit të reshjeve apo shkaktimit të përmytjeve në zona të ndryshme. Zhvillimi i saj optimal është në klimë tropikale të lagësht.

Vendi ynë ashtu si dhe gjithë vendet e botës po përballlet me ndryshime klimaterike në këto dekadat e fundit. Kjo ka sjellë dhe ndryshim të sezonaliteteve dhe ulje apo ngritje të temperaturave mbi normalen apo dhe sasinë e shumë të reshjeve duke shkaktuar shumë përmytje.

Për këtë arsye të gjitha rastet e suspektuara për *Leptospira spp* ne i kemi ndarë sipas sezonalitetit kur ato janë referuar.

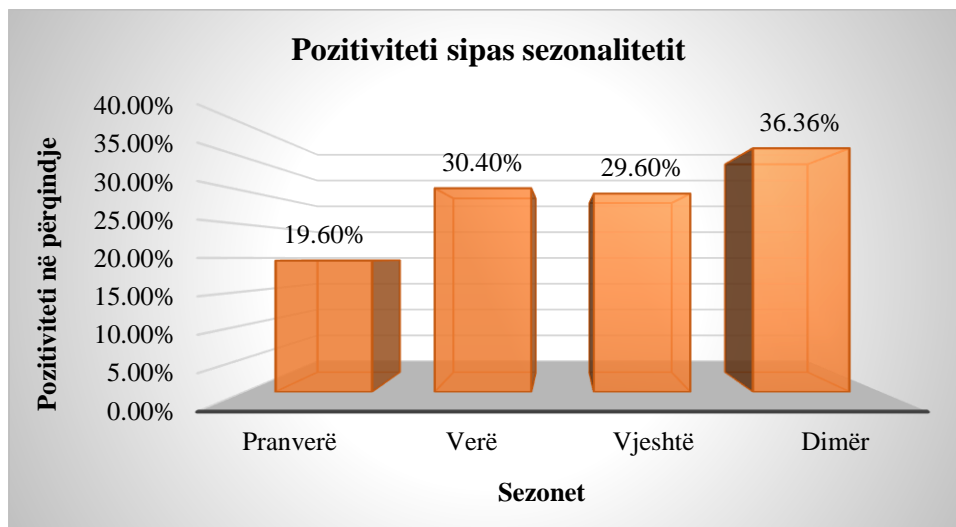
Tabela 5.4 Sezonaliteti i rasteve të testuara

Sezonaliteti	Nr total i rasteve	Rastet Negative	Rastet Pozitive	Odds ratio CI 95%	p value
Pranverë	107	86	21	1 referencë	
Verë	125	87	38	1.78 [0.97-3.29]	0.06
Vjeshtë	206	145	61	1.72 [1.01-3.03]	0.05
Dimër	264	168	96	2.38 [1.36-4.16]	0.002
Total	702	486	216		

Nëse i krahasojmë numrat e rasteve të suspektuara për *Leptospira spp* dhe pozitivitetin, do të shikojmë një rritje të numrit të rasteve (në total dhe pozitiv) nga sezoni i pranverës deri në sezonin e dimrit. Kështu në sezonin e Pranverës janë referuar si të suspektuara 107 raste nga të cilat rezultuan si raste pozitiv 21 (19.6%) prej tyre. Ky sezonalitet është marrë si referencë me sezonet e tjera.

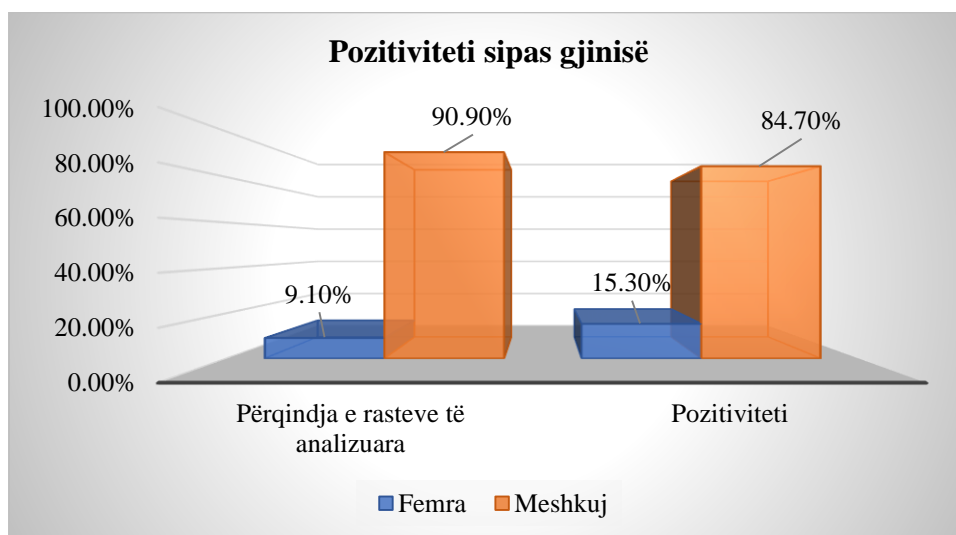
Në sezonin e Verës në përgjithësi mendohet që numri i rasteve të jetë më i ulët, por në çdo vit në kemi raste të suspektuara. Nga 125 raste të suspektuara si raste pozitive rezultuan 38 prej tyre (30.4%). P value në këtë rast rezultoi > 0.05 . në sezonin e Vjeshtës u analizuan 264 raste në total nga të cilat 61 (29.6%) rezultuan pozitive. Rastet në këtë sezon ishin 1.72 herë më të riskuara për të dalë pozitive për CI 95% [1.03-3.03] p value rezultoi 0.05.

Në Dimër janë referuar si të suspektuara 264 raste dhe pas analizës së mostrave pozitiviteti rezultoi në 96 (36.36%) prej tyre. Pacientët e analizuar në sezonin e Dimrit paraqitën një risk 2.38 herë më të lartë për të qenë pozitiv për CI 95% [1.36-4.16] p value rezultoi 0.002.



Grafiku 5.6 Pozitiviteti i Infeksionit të shkaktuar nga *Leptospira spp* sipas sezoneve

Në tabelën e mëposhtme kemi paraqitur të dhënat demografike të popullatës të marrë në studim (tabela 5.5). Ashtu siç vihet re dhe nga përpunimi i të dhënave të 702 rasteve të analizuar, pjesa më e madhe e pacientëve i përket gjinisë mashkullore 90.9% (638/702) në krahasim me gjininë femër 9.1% (64/702). Edhe pozitiviteti ishte më i lartë tek meshkujt me 84.7% (186/216), ndërsa tek femrat ishte 15.3% (33/216) (grafiku 5.7). U vu re një lidhje e fortë sinjifikante ndërmjet gjinisë dhe pozitivitetit. Meshkujt rezultuan 2.63 herë më të riskuar për tu infektuar nga *Leptospira spp* krahasuar me femrët, CI 95% [1.56-4.35], p value rezultoi 0.0003.



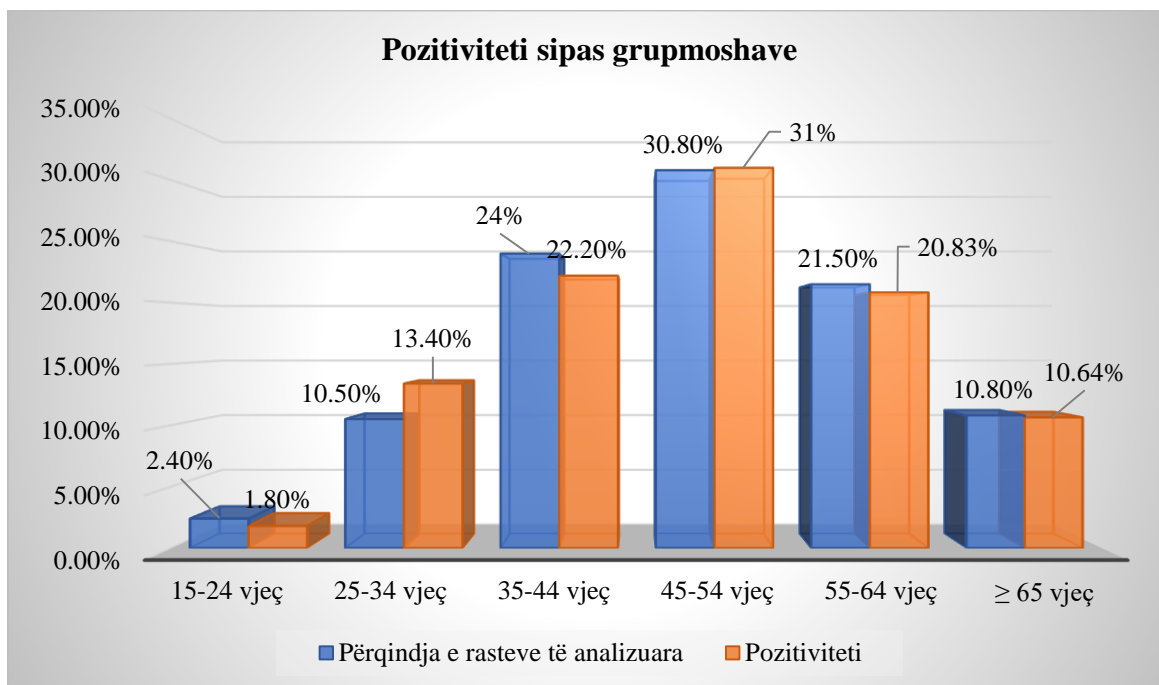
Grafiku 5.7 Pozitiviteti sipas gjinisë

Të gjitha rastet e suspektuara, ne i kemi grupuar në gjashtë grupmosha të ndryshme duke filluar me grupmoshën më të vogël 15-24vjeç dhe atë më të madhen ≥ 65 vjeç. Mosha mesatare rezultoi 51 ± 5.6 , mosha minimale rezultoi 15 vjeç dhe maksimale është 82 vjeç.

Në grupmoshën 15-24 vjeç rezultuan 17 (2.4%) pacient të suspektuar dhe pozitiviteti rezultoi në 4 (1.8%) raste. Për grupmoshën 25-34 vjeç u analizuan 74 (10.5%) pacient ku pozitiviteti rezultoi në 29 (13.4%), në grupmoshën 35-44 vjeç u analizuan 168 (24%) si raste pozitive rezultuan 48 (22.2%). Grupmosha me numrin më të lartë të rasteve dhe me pozitivitetin më të lartë rezultoi mosha aktive e popullatës pikërisht pacientët në moshën nga 45-54 vjeç.

U analizuan 216 (30.8%) pacient dhe pozitiviteti rezultoi në 67 (31%) të tyre. Më pas numri i rasteve dhe pozitiviteti fillon dhe ulet për grupmoshat 55-64 vjeç dhe për ata ≥ 65 vjeç. Kështu për grupmoshën 55-64 vjeç u analizuan 151 (21.5%) pacient dhe pozitiviteti rezultoi në 45 (20.83%), ndërsa për ata ≥ 65 vjeç u analizuan 76 (10.8%) pacient dhe pozitiviteti rezultoi në 23 (10.64%) raste.

Në të gjitha rastet nuk u vu re një lidhje sinjifikante ndërmjet grupmoshave dhe pozitivitetit.



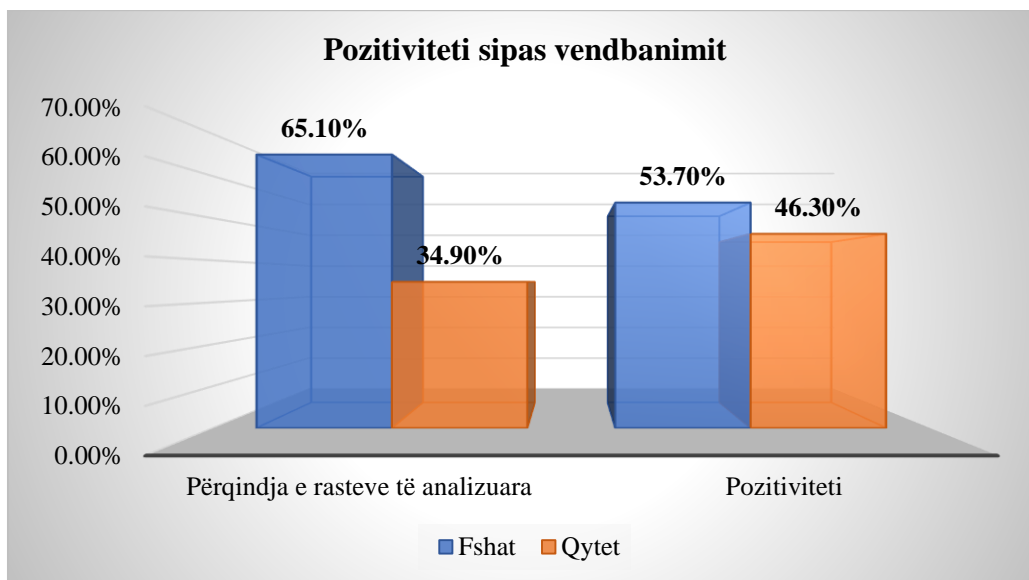
Grafiku 5.8 Pozitiviteti sipas grupmoshave

Tabela 5.5 Informacioni lidhur me të dhënat demografike të rasteve të suspektuara dhe atyre pozitive të marra në studim

Të dhënat demografike	Numri i rasteve	Pozitiviteti	Odds ratio CI 95%	<i>p value</i>
Gjinia				
Femra	64 (9.1%)	33	1 referencë	
Meshkuj	638 (90.9%)	186	2.63 1.56-4.35	0.0003
Grup-mosha				
15-24 vjeç	17 (2.4%)	4	1 referencë	
25-34 vjeç	74 (10.5%)	29	2.09 0.6-7.05	0.2
35-44 vjeç	168 (24%)	48	1.3 0.4-4.1	0.66
45-54 vjeç	216 (30.8%)	67	1.46 0.4-4.6	0.5
55-64 vjeç	151 (21.5%)	45	1.37 0.42-4.46	0.59
≥ 65 vjeç	76 (10.8%)	23	1.4 0.41-4.79	0.58
Vendbanimi				
Fshat	457 (65.1%)	116	2.04 1.47-2.85	<0.0001
Qytet	245 (34.9%)	100	1 referencë	
Niveli Arsimor				
Pa arsim	26 (3.7%)	23	58.77 16.02-78.57	<0.0001
Fillor	19 (2.7%)	14	21.46 6.9-66.6	<0.0001
8-9 vjeçar	102 (14.5%)	79	26.3 13.4-51.7	<0.0001
I mesëm	401 (57.1%)	82	1.97 1.13-3.4	0.01
I lartë	156 (22.2%)	18	1 referencë	
Punësimi				
Invalid	67 (9.5%)	9	1 referencë	
Pa punë	170 (24.2%)	75	5.08 2.36-10.9	<0.0001
Pensionist	129 (18.4%)	35	2.39 1.07-5.35	0.03
Nxënës/Student	11 (1.6%)	4	3.68 0.89-15.1	0.07
I punësuar	325 (46.3%)	93	2.6 1.2-5.4	0.01

Lidhur me vendbanimin që pacientët tanë kanë referuar në pyetësin e tyre, pjesa më e madhe e këtyre pacientëve rezultuan me vendbanim në zonat rurale (fshat) 457 (65.1%) ndërsa pacientët e tjerë i përkasin vendbanimi zonë urbane 245 (34.9%). Pozitiviteti i *Leptospira spp* për zonën rurale rezultoi 53.7% ndërsa në zonat urbane rezultoi 46.3%.

Pacientët të cilët banojnë në zonat rurale rezultojnë 2.04 herë më të rrisuar për tu infektuar me këtë infeksion bakterial kundrejt pacientëve që jetojnë në zonat urbane për CI 95% 1.47-2.85 p value <0.0001

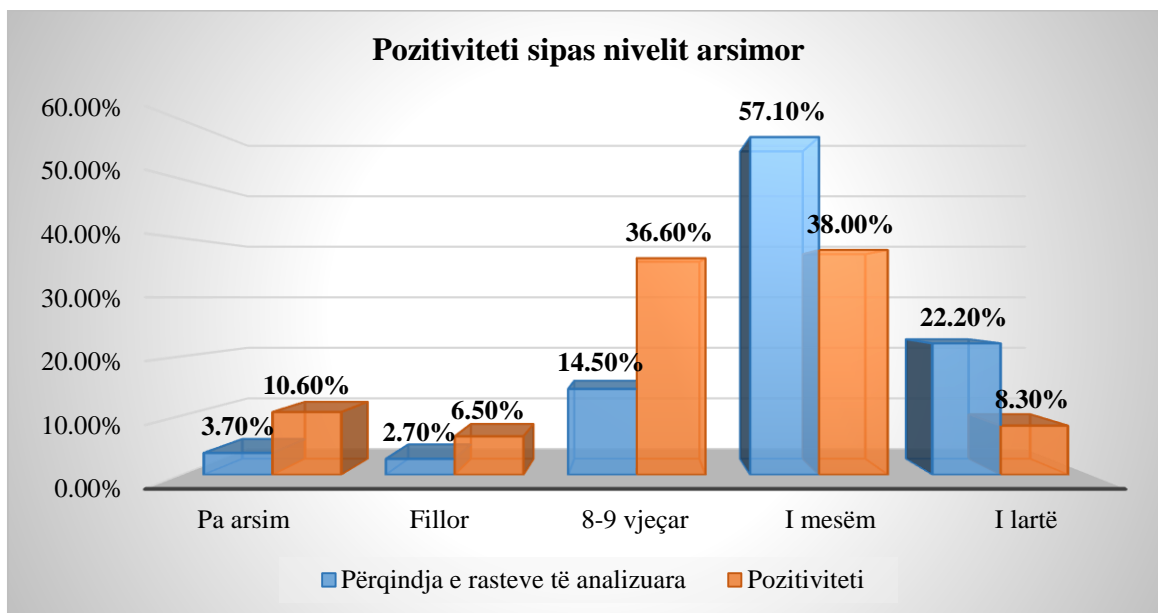


Grafiku 5.9 Pozitiviteti sipas vendbanimit të pacientëve

Pacientët janë pyetur lidhur me nivelin e tyre arsimor. Sipas referimeve të tyre, 3.7% (26/702) ishin pa arsim, dhe pozitiviteti në këtë kategori rezultoi 10.6% (23/216). Me arsim fillor referuan 2.7% (19/702) e pacientëve dhe pozitiviteti rezultoi 6.5% (14/216). Me arsim 8-9 vjeçar rezultuan 14.5% (102/702) e pacientëve dhe pozitiviteti rezultoi 36.6% (79/216). Me arsim të mesëm rezultuan pjesa më e madhe e pacientëve të suspektuar 57.1% (401/702) dhe pozitiviteti rezultoi 38% (82/216). Ata me arsim të lartë rezultuan 22.2% (156/702) dhe pozitivitetet 8.3% (18/216).

Ky është një infeksion që lidhet shumë me punët që kryhen në mjedise dhe ambiente të ndotura. Lidhur me këtë fakt, pacientët me arsim të lartë janë marrë si një grup reference për shkak të punës në ambiente të mbyllura larg zonave me kontaminim të lartë.

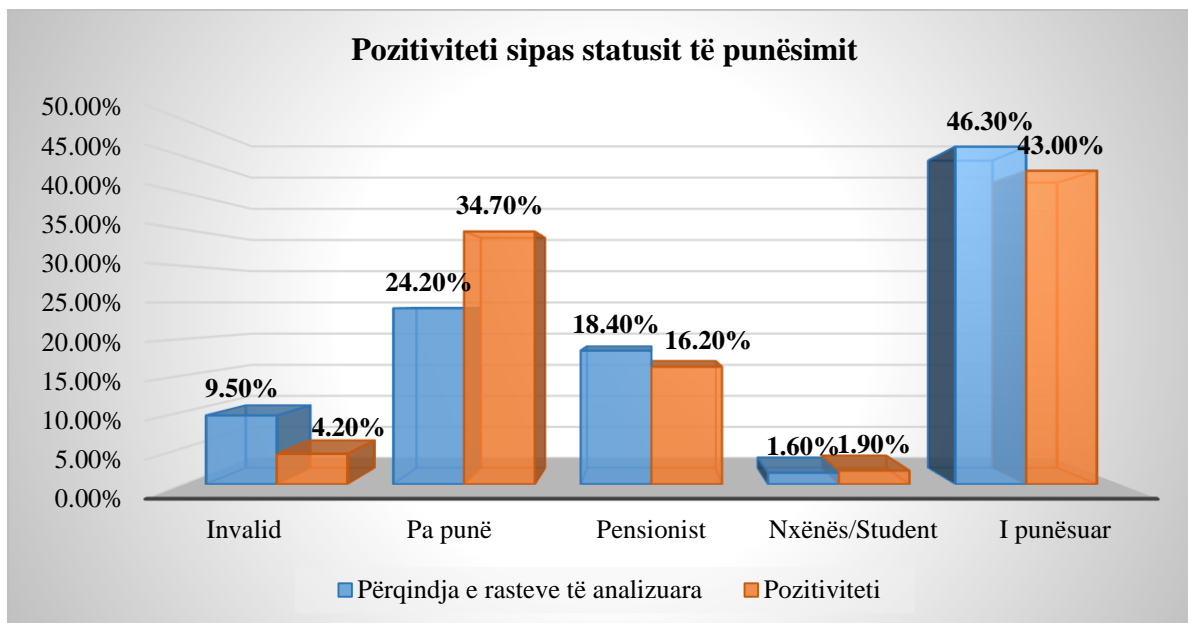
Bazuar në analizën statistikore multivariante të regresionit logjistik lidhur me pozitivitetin dhe nivelin arsimor të referuar nga ana e pacientëve, rezultoi që pacientët pa arsim shfaqën një risk për tu infektuar 58.77 herë më të lartë krahasuar me pacientët me arsim të lartë për CI 95% vlera e p rezultoi <0.0001. ata me arsim fillor shfaqën një risk për tu infektuar 21.46 herë më të lartë krahasuar me pacientët me arsim të lartë për CI 95% vlera e p rezultoi <0.0001. Pacientët me arsim 8-9 vjeçar shfaqën një risk për tu infektuar 26.3 herë më të lartë krahasuar me pacientët me arsim të lartë për CI 95% vlera e p rezultoi <0.0001 dhe ata me nivel arsimor të mesëm shfaqën një risk për tu infektuar 1.97 herë më të lartë krahasuar me pacientët me arsim të lartë për CI 95% vlera e p rezultoi 0.01.



Grafiku 5.10 Pozitiviteti sipas nivelit arsimor

Statusi i punësimit është një nga pikat e tjera që ne kemi përdorur në mbledhjen e të dhënave të përgjithshme socio-demografike të pacientëve tanë. Bazuar në referimet e tyre 9.5% (67/702) e pacientëve kanë referuar se kishin statusin e invalidit dhe pozitiviteti në këtë kategori rezultoi 4.2% (9/216), si të papunë referuan 24.2% (170/702) dhe pozitiviteti rezultoi 34.7% (75/216), në kategorinë pensionist referuan 18.4%(129/702) e pacientëve dhe pozitiviteti rezultoi 16.2% (35/216), në kategorinë nxënës student kemi dhe numrin më të vogël të rasteve të suspektuara ku u referuan 1.6% (11/702) e pacientëve dhe pozitiviteti rezultoi 1.9% (4/216), në kategorinë i punësuar u referuan 46.3% (325/702) e pacientëve dhe pozitiviteti rezultoi 43% (93/216).

Pacientët me statusin e pa punë shfaqën një rrisht 5.08 herë më të lartë për CI 95% [2.36-10.9] vlera e p rezultoi <0.0001. Pacientët me statusin pensionist shfaqën një rrisht 2.39 herë më të lartë për tu infektuar nga *Leptospira spp* [1.07-5.35] vlera e p rezultoi 0.03. Kategoria Nxënës/Student shfaqën një rrisht 3.68 herë më të lartë për tu infektuar por nuk u vu re një lidhje sinjifikante për CI 95% [0.89-15.1] p value 0.07. Në kategorinë I punësuar rrishtu për tu infektuar rezultoi 2.6 herë për CI 95% [1.2-5.4] vlera e p rezultoi 0.01.



Grafiku 5.11 Pozitiviteti sipas statusit të punësimit

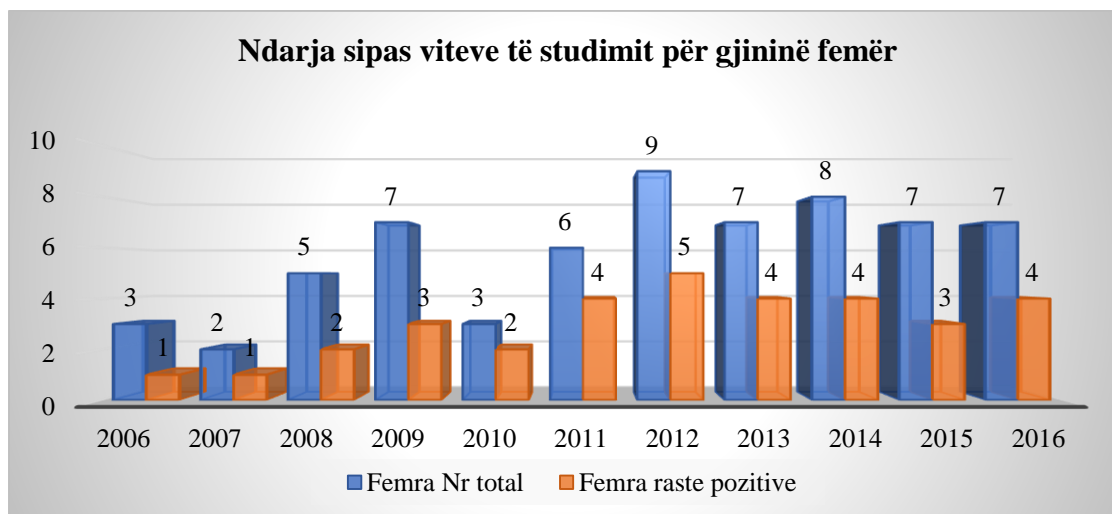
Ndarjen sipas gjinisë e kemi parë dhe në kohëzgjatjen e studimit tonë. Për secilin vit ne kemi analizuar numrin në total të secilës gjini dhe më pas kemi analizuar pozitivitetin e tyre. Predominim të gjinisë mashkull vihat re për secilin vit si për numrin total të tyre ashtu dhe për pozitivitetin (tabela 5.6).

Numri i femrave për secilin vit është relativisht i vogël dhe varion nga 2 paciente të analizuar në 2007 deri në 9 paciente në vitin 2012. Ndërsa pozitiviteti luhetet nga 1 paciente në vitin 2006 dhe 2007 në 5 paciente pozitive në vitin 2012 (grafiku 5.12).

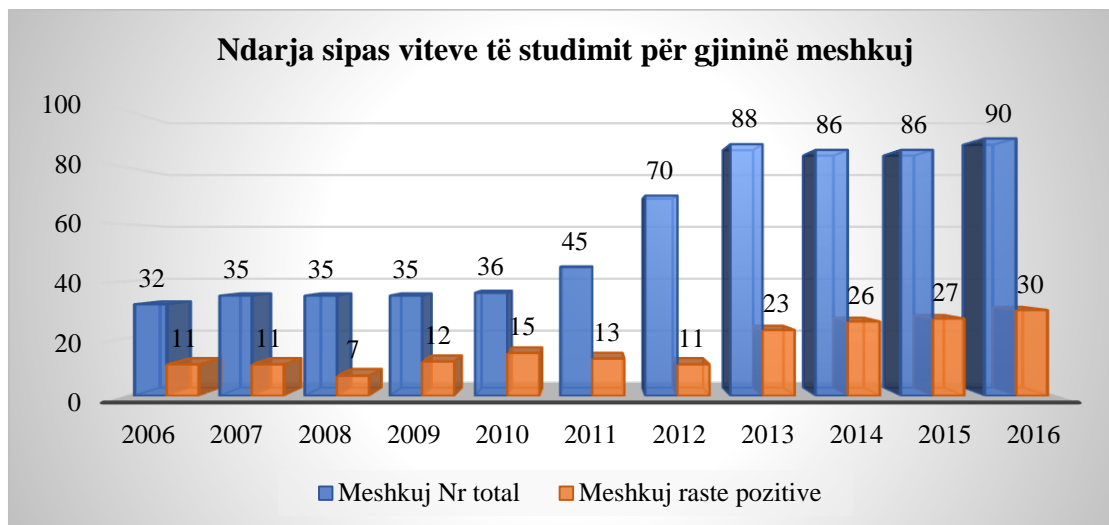
Tabela 5.6 Numri i rasteve sipas viteve 2006-2016 për meshkujt dhe femrat

Ndarja sipas gjinisë	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Nr total i rasteve	35	37	40	42	39	51	79	95	94	93	97
Femra Nr total	3	2	5	7	3	6	9	7	8	7	7
Femra raste pozitive	1	1	2	3	2	4	5	4	4	3	4
Meshkuj Nr total	32	35	35	35	36	45	70	88	86	86	90
Meshkuj raste pozitive	11	11	7	12	15	13	11	23	26	27	30

Për meshkujt luhatja e rasteve të suspektuara për *Leptospira spp* është mjaft e larmishme. Numri më i vogël i pacientëve meshkuj të analizuar i përket vitit 2006 dhe më pas kemi një rritje shumë të ngadaltë të tyre duke u rritur pothuajse me 40% në vitin 2012 e më pas rritja është akoma më e lartë në vitet pasardhëse duke arritur në 90 pacient meshkuj të analizuar në 2016. Edhe pozitiviteti ka një larmishmëri duke filluar nga 11 raste në 2006 dhe 30 raste pozitive në 2016 (grafiku 5.13).



Grafiku 5.12 Numri i rasteve në total dhe pozitiviteti për vitet 2006-2016 për femrat



Grafiku 5.13 Numri i rasteve dhe pozitiviteti për vitet 2006-2016 për meshkujt

Burimet e infeksionit për *Leptospira spp* janë të shumëllojshme. Në tabelën e mëposhtme ne kemi paraqitur një përmbledhje të karakteristikave të burimit të infeksionit në mesin e pacientëve tanë. Në tipin e kontaktit ne kemi cilësuar 4 rrugë të ndryshme të cilat janë; a) të lidhura me punën (274 raste); b) kanë ndodhur në rrugë aksidentale (187 raste); c) kanë ndodhur nga aktivitete argëtuese (89 raste) dhe d) kanë ndodhur nga burime të panjohura nga ana e pacientëve (152 raste) (tabela 5.7).

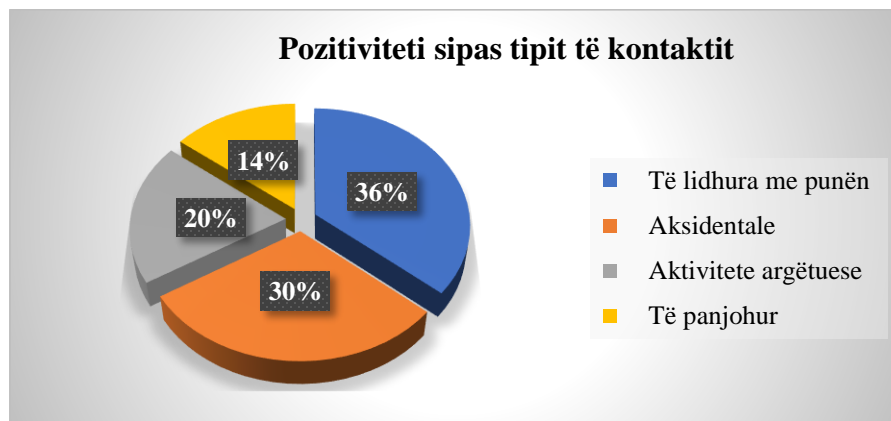
Prania e kafshëve si burim infeksioni është parë në 321 referime të pacientëve nga të cilët, 38% (122/321) kanë parë rodent (brejtës /minj) pranë vendbanimit ose ambjenteve të punës, 15.9% (51/321) kanë referuar se kanë lopë në shtëpi, 20.2% (65/321) kanë qen dhe 25.9% (83/321) kanë referuar se kanë patur kontakt me kafshë të tjera.

Tabela 5.7 Karakteristikat e burimit të infeksionit

Burimi i infeksionit	Numri i rasteve	Përqindja	Pozitiviteti	P value
Tipi i kontaktit	702	100%	216	
Të lidhura me punën	274	39.03%	78	0.4
Aksidentale	187	26.64%	65	0.3
Aktivitete argëtuese	89	12.68%	42	0.01
Të panjohur	152	21.65%	31	0.019
Rrugët e mundshme të infeksionit	702	100%	216	
Ujëra të ndotura	122	17.4%	57	0.0037
Kafshët	321	45.7%	82	0.04
Ambient i kontaminuar	107	15.2%	46	0.037
Të panjohur	152	21.7%	31	0.019
Kafshët si burim ekspozimi	321	100%	117	
Rodentë (Brejtsë/ Minjtë)	122	38%	41	0.02
Lopë	51	15.9%	20	0.76
Qen	65	20.2%	19	0.47
Kafshë të tjera	83	25.9%	37	0.023

Pozitiviteti për secilin rast rezultoi; 36%, (78/216) të lidhura me punën; të ndodhura në mënyrë aksidentale rezultuan 30% (65/216); në aktivitete argëtuese pozitiviteti rezultoi 20% (42/216) dhe ata që nuk referojnë asnjë mënyrë kontakti të njohur rezultuan 14% (31/216).

Pwr infeksionet të lidhura me punën personat rezultuan 1.13 herë më të të riskuar ndaj *Leptospira spp* për CI 95% [0.82-1.55] vlera e p rezultoi 0.4, për infeksionet që mendohet se kanë ndodhur në rrugë aksidentale, rreziku rezultoi 1.18 më i lartë për CI 95% [0.84-1.65] vlera e p rezultoi 0.3, për infeksionet që mendohet se kanë ndodhur si pasojë e aktiviteteve argëtuese rreziku rezultoi 1.66 herë më i lartë për CI 95% [1.11-2.48] vlera e p rezultoi 0.01, ndërsa për ata që nuk kishin djene se ku mund të ishin infektuar rreziku rezultoi 1.64 herë më i lartë për CI 95% [1.08-2.51] vlera e p rezultoi 0.019.



Grafiku 5.14 Pozitiviteti sipas tipit të kontaktit

Pozitiviteti rezultoi më i lartë në pacientët të cilët kanë referuar si rrugë të mundshme praninë e kafshëve të ndryshme 38% (57/216); për pacientët të cilët kanë referuar praninë e ujërave të ndotura pranë vendit ku jetojnë ose punojnë, pozitiviteti rezultoi 27% (82/216), për ata që kanë referuar një ambient të kontaminuar, pozitiviteti rezultoi 21% dhe për ata që nuk e dinin nga mund të ishin kontaminuar, pozitiviteti rezultoi 14%.

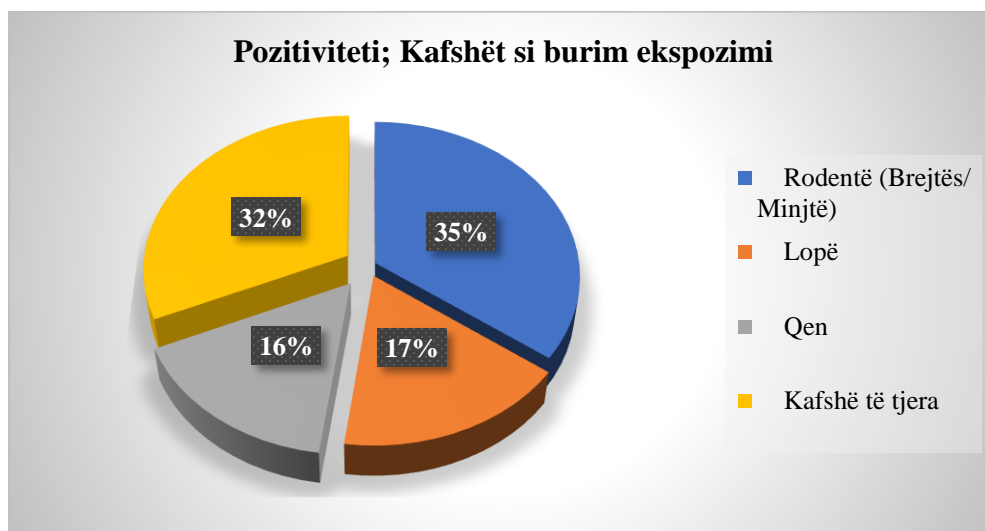
Infeksionet të lidhura me praninë e mundshme të *Leptospira spp* në ujërat e ndotura rezultoi 1.7 herë më të lartë për CI 95% [1.18-2.44] vlera e p rezultoi 0.0037, për infeksionet që mendohet se kanë ndodhur nga kontakti me kafshët rreziku rezultoi 1.37 më i lartë për CI 95% [1.00-1.88] vlera e p rezultoi 0.044, për infeksionet që mendohet se kanë ndodhur si pasojë ambjenteve të tjera të kontaminuara rreziku rezultoi 1.5 herë më i lartë për CI 95% [1.02-2.21] vlera e p rezultoi 0.037, ndërsa për ata ku rruga e infektimit ishte e panjohur rreziku rezultoi 1.64 herë më i lartë për CI 95% [1.08-2.51] vlera e p rezultoi 0.019.



Grafiku 5.15 Pozitiviteti sipas rrugëve të mundshme të infesionit

Kafshët janë parë si burimi kryesor i transmetimit apo mënyrës së infektimit në mësin e pacientëve të cilët janë diagnostikuar me bakterin *Leptospira spp*. Kjo pasi siç dihet Rodentët (minj/brejtës) janë rezervuari kryesor i këtij infeksioni.

Të gjithë pacientët janë pyetur nëse kanë kafshë në ambientet ku punojnë apo jetojnë. Ata që kanë referuar praninë e kafshëve të ndryshme pranë ambienteve të tyre rezultuan 321 (45.7%). Nga këta individë rezultuan si pozitiv 117/216. Tek ata që referuan praninë e Rodentëve pranë ambienteve të tyre pozitiviteti rezultoi 52%, tek ata që kanë referuar praninë e kafshëve (lopë dhe/ose qen) pozitiviteti rezultoi nga 8% për secilin. Tek pacientët që kanë referuar prani të kafshëve të tjera pranë ambienteve të tyre, pozitiviteti rezultoi 32%.



Grafiku 5.16 Pozitiviteti; Kafshët si burim ekspozimi

Nga sa më sipër ne kemi analizuar dhe faktorët e rrishtit që kanë si burim llojet e ndryshme të kafshëve. Infeksionet të lidhura me praninë e rodentëve (brejtës/minjtë) pranë ambienteve ku jetojnë apo punojnë rezultoi me një rrezik 1.13 herë më të lartë për CI 95% [0.73-1.76] vlera e p rezultoi 0.02, për infeksionet që mendohet se kanë ndodhur nga kontakti me lopë rreziku rezultoi 1.09 më i lartë për CI 95% [0.61-1.92] vlera e p rezultoi 0.76, për infeksionet që mendohet se kanë ndodhur si pasojë kontaktit me qentë rreziku rezultoi 1.22 herë më i lartë për CI 95% [0.69-2.16] vlera e p rezultoi 0.47, ndërsa për ata ku rruga e infektimit mendohet nga kontaktet me kafshë të

tjera (si pula, bagëtitë e imta, mace etj) rreziku i infektimit rezultoi 1.32 herë më i lartë për CI 95% [0.83-2.10] vlera e p rezultoi 0.00023.

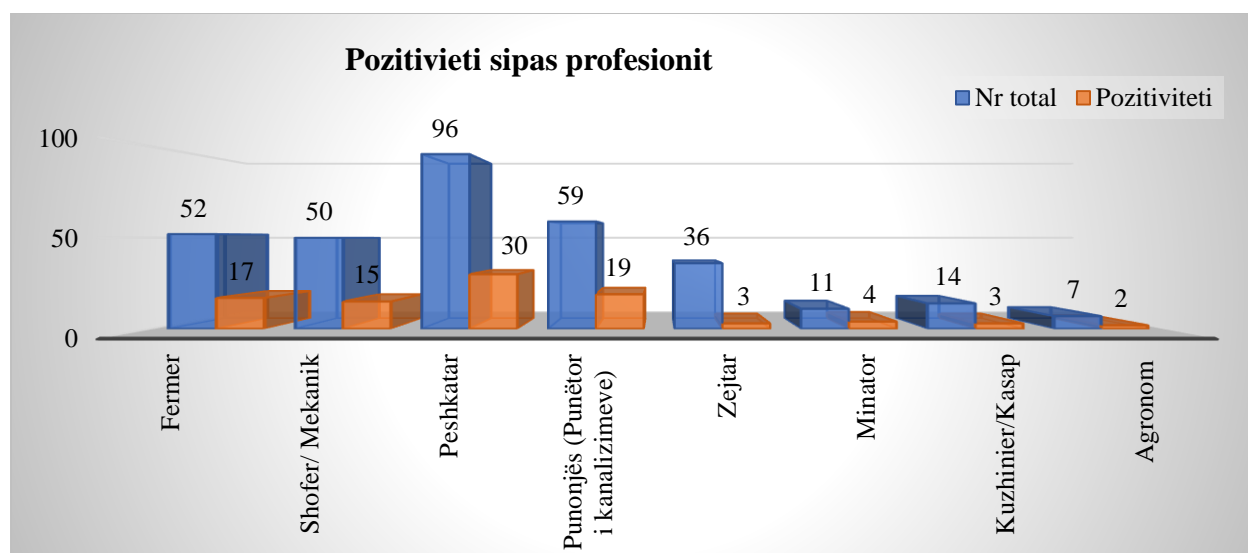
Në tabelën 5.8 ne kemi paraqitur të dhënat lidhur me shpërndarjen e rasteve sipas profesionit që pacientët tanë kanë referuar në momentin e paraqitjes pranë shërbimeve spitalore. Ashtu siç e kemi shprehur në tabelën 5.5 që paraqet të dhenat demografike të pacientëve tanë, 46.3% (325/702) e tyre kanë referuar se ishin të punësuar. Nga këta 325 të punësuar pozitiviteti rezultoi vetëm në 93 prej tyre.

Bazuar në përpunimin e të dhënave 16% (52/325) e pacientëve kanë referuar si profesion të tyre të qënurit fermer; 15.4% (50/325) kanë referuar shofer ose mekanik si profesion; 29.5% (96/325) kanë referuar se janë peshkatar në profesion; 18.1% (59/325) kanë referuar se janë punonjës të pastrimit të kanalizimeve; 11.1% (36/325) kanë referuar se janë zejtar; 3.4% (11/325) kanë referuar se janë minator; 4.3% (14/325) kanë referuar se janë kuzhinier/kasap dhe si agronom kanë referuar vetëm 2.1% (7/325) e tyre.

Tabela 5.8 Shpërndarja e rasteve sipas profesionit të pacientëve

Llojet e profesioneve	Numri i rasteve (325)	Përqindja %	Pozitiviteti (93)	<i>p value</i>
Fermer	52	16%	17	0.00012
Shofer/Mekanik	50	15.4%	15	0.003
Peshkatar	96	29.5%	30	0.001
Punonjës (Punëtor i kanalizimeve)	59	18.1%	19	0.02
Zejtar	36	11.1%	3	0.03
Minator	11	3.4%	4	0.047
Kuzhinier/Kasap	14	4.3%	3	0.64
Agronom	7	2.1%	2	0.99

Pozitiviteti bazuar në të gjitha profesionet e referuara nga ana e pacientëve të marrë në studim rezultoi 43.05% (93/216), ndërsa pozitiviteti sipas secilit profesion është si më poshtë: fermerët 18.3% (17/93); shofer/mekanik 16.1% (15/93); peshkatar 32.2% (30/93) punonjës kanalizime 20.4% (19/93); zejtar 3.2% (3/93); minator 4.3% (4/93); kuzhinier/kasap 3.2% (3/93) dhe agronom 2.1% (2/93). Bazuar në analizën statistikore u vu re një lidhje e fortë sinjifikante për profesionet si fermer, shofer/mekani, peshkatar, punonjës i kanalizimeve, zejtar dhe minator për p value rezultoi më e vogël se 0.05. Për profesionet kuzhinier/kasap dhe agronom nuk u vu re lidhje sinjifikante ndërmjet këtyre profesioneve dhe ndodhjes së këtij infeksioni, p value në këto raste rezultoi më e lartë se 0.05.



Grafiku 5.17 Pozitiviteti sipas profesionit

Ashtu siç e kemi përmendur edhe më parë, faktorët e rrishtit për ndodhjen apo transmetimin e infeksionit të shkaktuar nga bakteri spiroket *Leptospira spp* janë të shumta dhe variojnë nga njëri vend në tjetrin. Edhe më parë ne e shprehëm që 45.7% (321/702) e pacientëve tanë kanë referuar prani të kafshëve të ndryshme në ambientet ku jetojnë apo punojnë, ndërsa pjesa 54.3% (381/702) nuk kanë asnjë kontakt.

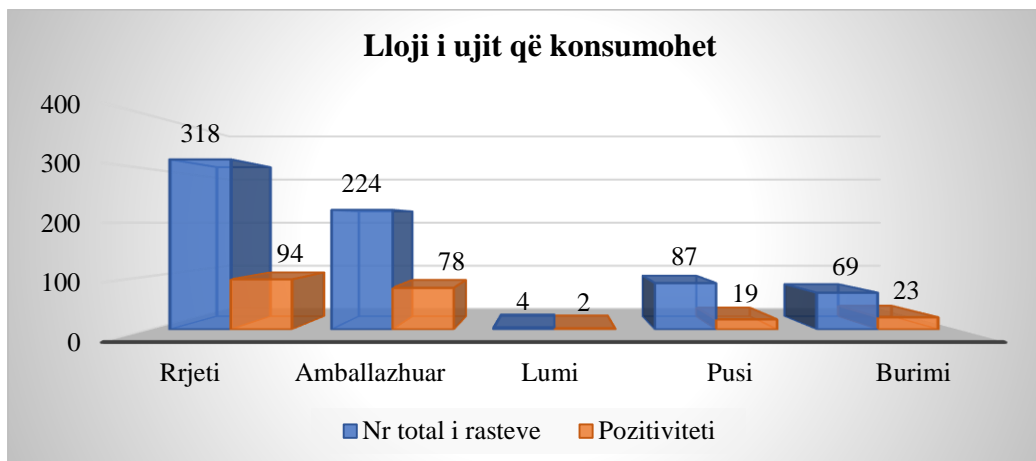
Nga pacientët që referuan si burim të mundshëm praninë e kafsëve të ndryshëm, 62% (199/321) zotërojnë të paktën një nga bagetitë ose kafshët shtëpiake të listuara më poshtë ndërsa pjesa tjetër kanë vërejtur prani të rodenetve pranë ambjenteve të tyre 38% (122/321). Sipas referimit të tyre, 10% (20/199) kanë pasur kontakte me macet e shtëpisë; 32.7% (65/199) kanë patur kontakt me qentë; 8.5% (17/199) kanë patur kontakt me derrat; 15.6% (31/199) kanë patur kontakt me pulat; 25.6% (51/199) kanë patur kontakt me lopë dhe 7.5% (15/199) kanë patur kontakt me dele.

Tabela 5.9 Lloji i ujit që konsumohet

Variablat (=702)	Nr total i rasteve	Përqindja	Pozitiviteti	P value
Rrjeti	318	45.1%	94	0.0047
Amballazhuar	224	31.8%	78	0.35
Lumi	4	0.6%	2	0.88
Pusi	87	12.3%	19	0.0040
Burimi	69	9.8%	23	0.028

Përsa i përket burimit të ujit të kontaminuar ne i kemi përfshirë të gjitha llojet e ndryshme të kontakteve të ujit që secili nga pacientët mund të përdorte në përditshmërinë e tyre. Kështu nga analiza e të dhënave pjesa më e madhe e pacientëve kanë referuar se konsumojnë ujin e rrjetit 45.1% (318/702), ujë të amballazhuar konsumojnë 31.8% (224/702) e pacientëve, ujë lumi konsumojnë 0.6% (4/702) e pacientëve, ujë pusi konsumojnë 12.3% (87/702) e pacientëve, ujë burimi konsumojnë 9.8% (69/702) e pacientëve.

U vu re një lidhje e fortë sinjifikative për pacientët që kanë referuar se konsumonin ujë rrjeti, ujë pusi dhe ujë burimi. Për të tre këto burime të ndryshme të konsumit të ujit p value rezultoi më e vogël se 0.05, ndërsa për ujin e amballazhuar dhe ujin e lumit nuk u vu re një lidhje sinjifikative, p value rezultoi më e madhe se 0.05.



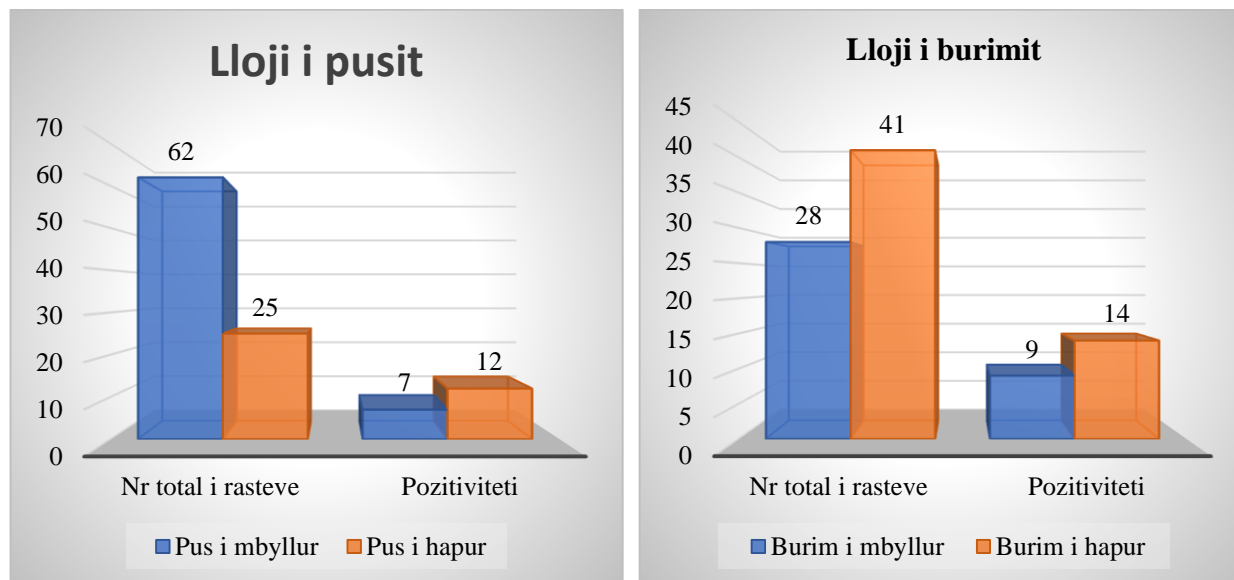
Grafiku 5.18 Lloji i ujit që konsumohet

Për pacientët të cilët kanë referuar se konsumojnë në përditshmërinë e tyre apo kanë kontakte me ujërat e puseve apo burime ne kemi vazhduar me pyetjet e mëposhtme. Kemi pyetur nëse pusi apo burimi janë të hapur apo të mbyllur. Bazuar në atë çka pacientët kanë referuar lidhur mbi këto pyetje ne kemi paraqitur të dhënat e përftuara në tabelën e mëposhtme.

Nga 87 pacient që kanë referuar ujin e pusit, 71.3% (62/87) kanë kontakte me ujë pusi të mbyllur, ndërsa 28.7% (25/87) kanë kontakte me ujë pusi të hapur. Për ata që kanë referuar ujë burimi 69 pacient në total, 40.6% (28/69) kanë kontakt me ujë burimi të mbyllur dhe 59.4% (41/69) kanë kontakt me ujë burimi të hapur.

Tabela 5.10 Llojet e puseve dhe burimeve

Variablat	Nr total i rasteve	Përqindja	Pozitiviteti
Pusi	87		19
Pus i mbyllur	62	71.3%	7
Pus i hapur	25	28.7%	12
Burimi	69		23
Burim i mbyllur	28	40.6%	9
Burim i hapur	41	59.4%	14



Grafiku 5.19 Llojet e puseve dhe burimeve të përdorur

Në tabelën e mëposhtme ne kemi paraqitur faktorë të tjerë të mundshëm të infektimit me këtë bakter. Kështu, një nga pyetjet e formularit të tonë ka qenë nëse kanë patur kontakt javët e fundit me një nga hapësirat ujore. Pacientët të cilët kanë referuar kontakt me këto hapësira rezultuan 34.5% (242/702). Nga këtë pacient ata që kanë patur kontakte me pishina kanë qenë 10.3% (25/242); ata që kanë patur kontakte me kanale kanë qenë 24.4% (59/242); pacientët që kanë qenë në kontakt me liqene rezultuan 35.1% (85/242); me burimet rezultuan 28.5% (69/242) dhe ata që ishin në kontakt me lumenj 1.7% (4/242).

Lidhur me kushtet e banimit, 15.2% (107/702) referuan kushte të mira banimi, 42.9% (301/702) referuan kushte mesatare dhe 41.9% (294/702) referuan kushte të këqija. Ndërsa për ambientin ku banonin, 70.8% (497/702) kanë referuar shtëpi private dhe 29.2% apartamente (205/702).

Për praninë e tualeteve vetëm 3.6% (25/702) e pacientëve referuan që tualetin e kishin jashtë ambienteve të shtëpisë dhe 96.4% (677/702) e kishin në hapësirën e brendshme. Kurse për trajtimin e ujërave të ndotura, 99.3% (697/702) i kishin nëpërmjet kanizimeve të rregullta dhe 0.7% (5/702) i kishin në gropë septike.

Tabela 5.11 Faktorët e rriskut (vazhdim)

Faktorët e rriskut (vazhdim)	Numri i rasteve	Përqindja	Pozitiviteti	Odds Ratio	P value
Kontakte me haspira ujore (=242)			91		
Pishina	25	10.3%	7	1.33 [0.57-3.31]	P=0.46
Kanale	59	24.4%	19	0.8 [0.4-1.46]	P=0.5
Liqene	85	35.1%	42	3.4 [2.12-5.5]	P<0.0001
Burime	69	28.5%	23	0.84 [0.48-1.46]	P=0.55
Lumenj	4	1.7%	2	1.33 [0.24-7.4]	P=0.7
Kushtet e banimit (=702)			216		
E mirë	107	15.2%	47	1.54 [1.05-2.26]	P=0.02
Mesatare	301	42.9%	112	1.43 [1-1.9]	P=0.02
E keqe	294	41.9%	57	0.49 [0.35-0.69]	P=0.0001
Ambjenti ku banon (=702)			216		
Shtëpi private	497	70.8%	142	1.26 [0.91-1.74]	P=0.15
Apartament	205	29.2%	74	1 referencë	
Prania e tualeteve (WC) (=702)		%	216		
Jashtë shtëpisë	25	3.6%	9	1.17 [0.54-2.56]	P=0.68
Brenda Shtëpisë	677	96.4%	207	1 referencë	
Kanalizimi i ujërave të ndotura (=702)			216		
Kanalizim	697	99.3%	214	1 referencë	
Gropë septike	5	0.7%	2	1.3 [0.25-6.7]	P=0.7

Nga 216 pacient që ne na kanë rezultuar si raste pozitiv me *Leptospira spp* në këtë studim, 42.1% (91/216) prej tyre kanë referuar se kanë patur kontakte me hapsira ujore gjatë javëve të fundit. Nga këta 91 pacient pozitiv, 45% (42/91) e tyre kanë patur kontakt me ujërat e liqeneve, 25% (23/91)

kanë patur kontakte me burime, 20% (19/91) kanë patur kontakte me kanale, 8% (7/91) kanë patur kontakt me pishinat dhe 2% (2/91) kanë patur kontakt me lumenjtë.



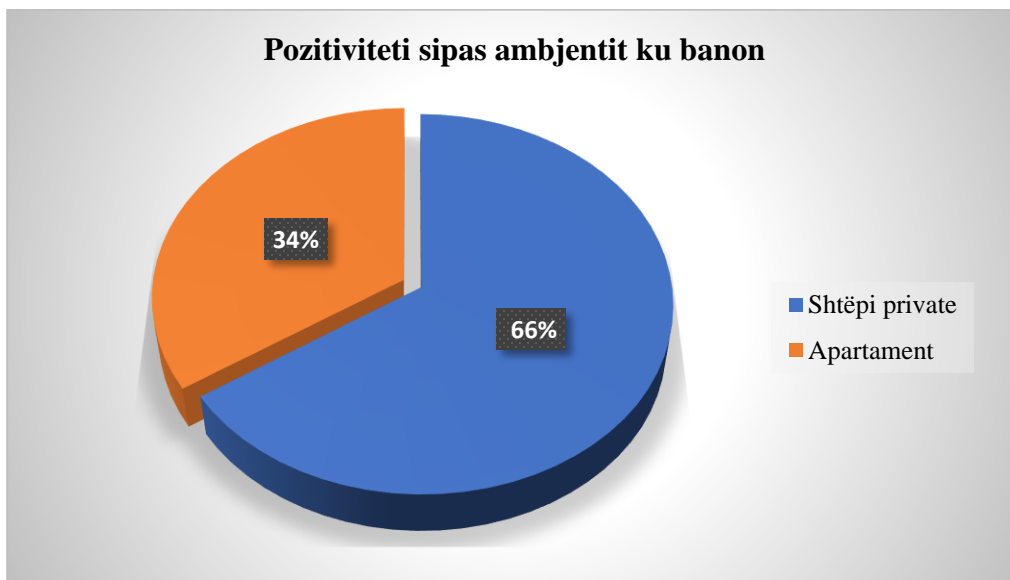
Grafiku 5.20 Pozitiviteti për kontaktet me hapësirat ujore

Sipas kushteve të banimit, pjesa më e madhe e rasteve pozitive rezultoi për kushtet e këqija të banimit 52% (112/216), ata me kushte të mira renditen në vend të dytë me 26% (57/216) dhe ata me kushte mesatare në vend të tretë me 22% (47/216).



Grafiku 5.21 Pozitiviteti sipas kushteve të banimit

Pozitiviteti sipas ambientit ku banojnë pacientët tanë, 66% (142/216) na referojnë se jetojnë në shtëpi private dhe 34% (74/216) jetojnë në apartamente.



Grafiku 5.22 Pozitiviteti sipas ambjentit ku banon

Përsa i përket pranisë së tualeteve në ambjentet e shtëpisë, 96% (207/216) kanë tualete në hapësirat e brendshme të shtëpisë dhe vetëm 4% (9/216) i kanë tualetet në ambjentet e jashtme. Gjithashtu 99% (214/216) kanalizimet i kanë të rregullta ndërsa 1% (2/216) referojnë se kanë gropë septike.



Grafiku 5.23 Pozitiviteti sipas pranisë së tualeteve



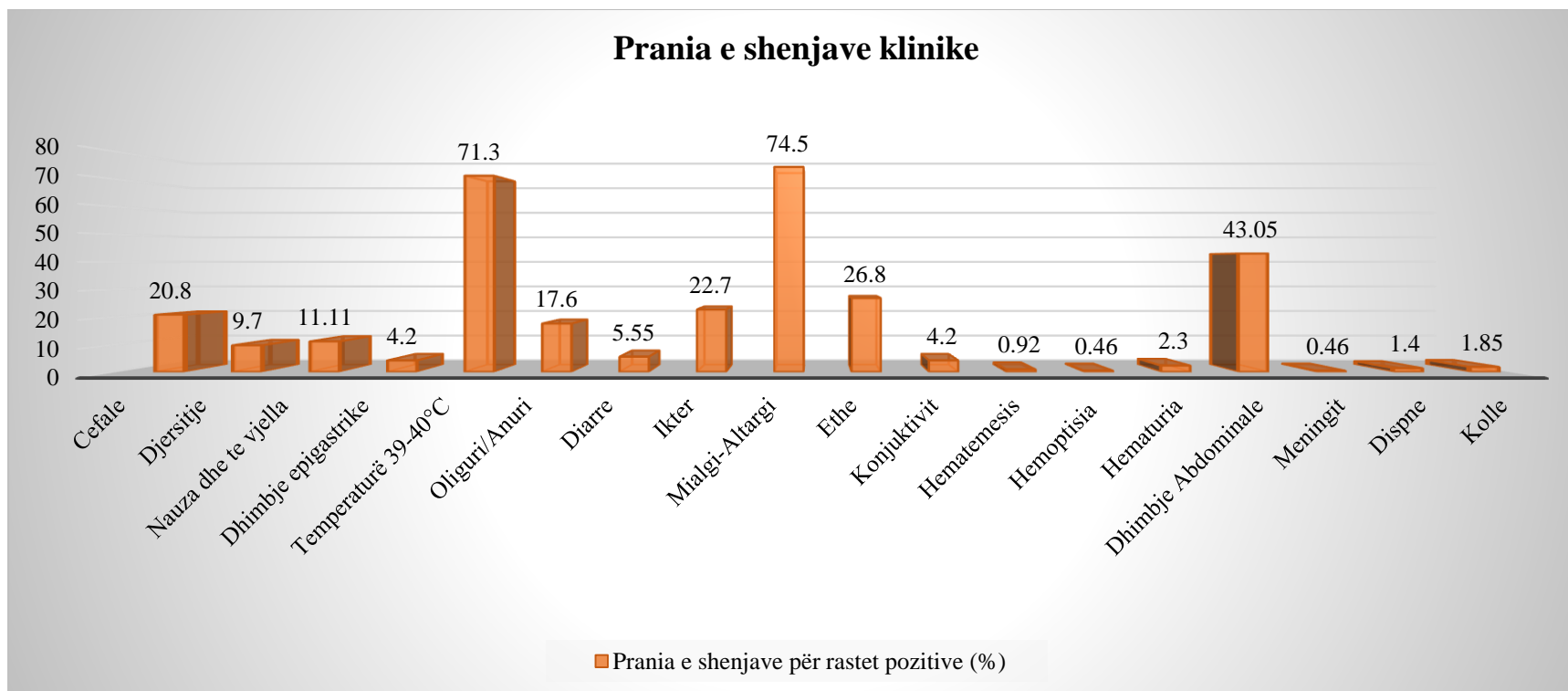
Grafiku 5.24 Pozitiviteti sipas kanalizimeve

Leptospiroza si sëmundje shkakton shumë shenja klinike nga ato me të lehtat deri në rastet e komplikuara apo problemet më madhore. Në tabelën e mëposhtme ne kemi praqitur të dhënat mbi shenjat klinike që pacientët kanë referuar në momentin e shtrimit pranë spitalit Universitar Nënë Tereza apo ata që janë hospitalizuar në spitalet e rretheve të ndryshme. Diapazoni i këtyre shenjave është mjaft i gjerë në këtë studim, si shenja më tipike apo që është referuar më së shumti përmendim temperaturën 39-40°C me 631 raste të referuara dhe ankesa mialgi-artralgi me 486 raste të referuara. Si shenjë më pak të hasura përmendim haemoptysia me 9 raste të referuara dhe meningit me 10 raste.

Tabela 5.12 Të dhënat lidhur me shenjat klinike të referuara nga pacientët

Të dhënat klinike	Prania e shenjave klinike Nr total		Prania e shenjave klinike në pacientët e konfirmuar me Leptospirosis pozitiv	
	N	%	N	%
Cefale	546	77.8	45	20.8
Djersitje	298	42.45	12	9.7
Nauza dhe te vjella	103	14.67	24	11.11
Dhimbje epigastrike	84	12	9	4.2
Temperaturë 39-40°C	631	89.9	154	71.3
Oliguri/Anuri	193	27.5	38	17.6
Diarre	67	9.5	12	5.55
Ikter	187	26.6	49	22.7
Mialgi-Artarlgji	594	84.6	161	74.5
Ethe	486	69.2	58	26.8
Konjuktivit	56	8	9	4.2
Hematemesis	12	1.7	2	0.92
Hemoptisia	9	1.3	1	0.46
Hematuria	54	7.7	5	2.3
Dhimbje Abdominale	237	33.7	93	43.05
Meningit	10	1.4	1	0.46
Dispne	36	5.1	3	1.4
Kolle	57	8.1	4	1.85

Grafiku 5.25 Shpërndarja e shenjave klinike në pacientët që kanë rezultuar pozitiv me *Leptospira spp*

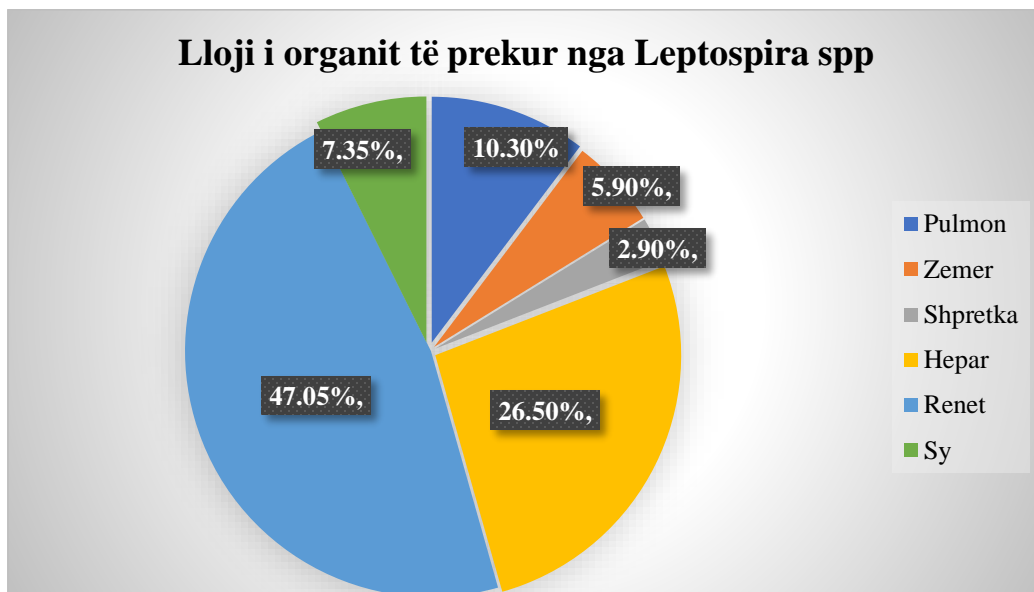


Ashtu siç e kemi shprehur edhe në pjesën teorike në disa raste ky infeksion paraqitet me shenja të lehta duke mimetizuar shenjat e sëmundjeve të tjera si një gripi të thjeshtë apo sëmundjeve të tjera me natyre infekte. Në disa raste ky infeksion shfaqet me probleme mjaft madhore pasi prek sisteme dhe organe të ndryshëm ose shkakton njëkohësisht dëmtim multiorganor. Bazuar në organin që ky infeksion ka prekur në 216 pacientët që rezultojnë si raste positive, në 68 raste kemi evidentuar prekje të organeve të poshtëshënuar. Rastet e tjera kanë shfaqur një klinike më të lehtë dhe për këtë arsye nuk kanë pasur komplikacione organore.

Tabela 5.13 Shpërndarja e rasteve sipas llojit të organit të prekur në mesin e pacientëve *Leptospira spp* pozitiv

Lloji i organit të prekur	Numri i rasteve pozitive	Përqindja
Pulmon	7	10.3%
Zemer	4	5.9%
Shpretka	2	2.9%
Hepar	18	26.5%
Rene	32	47.05%
Sy	5	7.35%

Lidhur me shpërndarjen e rasteve sipas organeve të prekura nga *Leptospira spp* në mesin e pacientëve tanë mund të themi se: me prekje të pulmonit rezultuan 10.3% (7/68) pacient, me prekje të zemrës rezultuan 5.9% (4/68) e pacientëve, me prekje të heparit rezultuan 26.5% (18/68) e pacientëve me prekje të shpretkës rezultuan 2.9% (2/68) e pacientëve me prekje të reneve rezultuan 47.05% (32/68) e pacientëve dhe me prekje okulare (sytë) rezultuan 7.35% (5/68) e pacientëve.



Grafiku 5.26 Shpërndarja e rasteve sipas organit të prekur nga *Leptospira spp*

Në varësi të dekursit të sëmundshmërisë pacientët me prekje të organeve dhe jo vetëm, kanë pasur dhe ndryshueshmëri të parametrave të tyre biokimikë-klinikë. Në pacientët simptomatikë, shihet eritrosediment i rritur dhe leukocitozë periferike me një shmangie të majtë të formulës leukocitare (neutrofile të rritura). Janë konstatuar anemi, si pasojë e fenomeneve hemorragjike. Personat me anemi të lehtë ($Hb < 12.5 \text{ g/dL}$ për gratë dhe $< 13.5 \text{ g/dL}$ për burrat) rezultuan 102, kurse me anemi severe ($Hb < 11 \text{ g/dL}$) u konstatuan 63 persona.

Niveli i trombociteve në disa pacientë është parë i ulur si pasojë e koagulimit intravascular të disseminuar (49/216). Implikimi renal rezultoi nga nivele të rritura të uremisë dhe kreatininës serike që u konstatuan tek pacientët në stadin oligourik ose anurik, ku me uremi rezultuan 109 pacientë dhe me creatinemi 106 prej rasteve pozitive.

Nivelet serike të kreatinkinazës shihen të rritura tek disa nga pacientët të konfirmuar me Leptospirozë, në 53 prej tyre.

Parametrat që tregojnë për prekje të heparit si nivelit të bilirubinës, LDH, ALT u gjetën të ndryshuara përkatësisht në 165/258; 106/190 dhe 95/177 pacientë.

Në rastet pozitive me Leptospirozë 173 pacientë paraqitën rritje të PCR (proteina C reaktive).

Tabela 5.14 paraqet disa nga parametrat e analizave biokimike të pacientëve të cilët kanë rezultuar si të alteruar.

Tabela 5.14 Analizat biokimike

Parametrat Biokimik	Nr total i rasteve	Nr i rasteve per pacientët pozitiv për Leptospirosis
Anemi (Hb<12.5g/dL për gratë dhe <13.5g/dL për burrat)	175	102
Anemi severe (Hb<11 g/dL)	96	63
Trombocitopeni (<150.000 µL)	136	49
Leukocitozë (>10.000 mm³)	364	187
Neutrofili (>7mmol/L)	359	187
Bilurubin Totale e lartë >20µmol/L	258	165
Sodium (mmol/L)	291	105
Potassium (mmol/L)	261	104
Bicarbonat (mmol/L)	285	104
Urea (mg/dL)	250	109
Creatinine (mg/dL)	236	102
Glucose (mg/dL)	210	112
ALT (U/L)	190	106
LDH (U/L)	177	95
Creatine kinase (U/L)	109	53
Prothrombin (s)	70	35
C-reactive protein	426	173
CXR abnormal	142	32

Rastet me prekje multiorganore kanë një dekurs problematik të sëmundjeve. Në studim kemi evidentuar 25 humbje jetë të pacientëve, ku pjesa më e madhe e tyre kanë humbur jetën në vitet 2010-2011 dhe në vitet 2018-2019.

Tabela 5.15 Vdekshmëria e rasteve me *Leptospira spp*

Rastet	Nr i rasteve	Përqindja
Raste fatale	25	11.6%
Raste jo fatale	191	88.4%

Prevalenca e rasteve të cilat kanë humbur jetën si pasojë e infektimit me një nga speciet e *Leptospira spp* rezultoi 11.6%, ndërsa 88.4% janë shëruar plotësisht.



Grafiku 5.27 Vdekshmëria e rasteve të infektuara me *Leptospira spp*

Ashtu siç e kemi përmendur edhe më parë, nga 216 rasteve pozitive me *Leptospira spp*. 15.3% të rasteve janë femra dhe 84.7% janë meshkuj. Raste fatale të diagnostikuara si positive me *Leptospira spp* përgjatë viteve 2006-2016 rezultuan 25, nga të cilat 8% (2/25) janë femra dhe 92% (23/25) janë meshkuj.

Tabela 5.16 Vdekshmëria sipas gjinisë

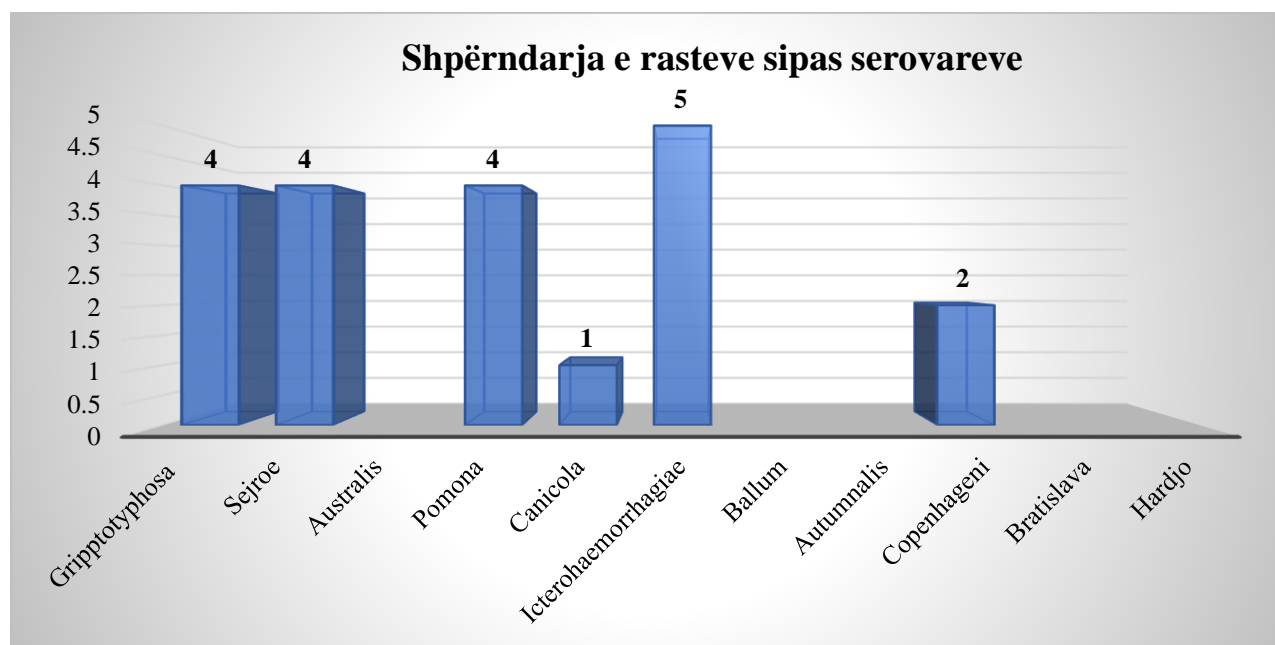
Gjinia	Numri i rasteve pozitive në total	Përqindja	Numri i rasteve pozitive me humbje jete	Përqindja
Femra	33	15.3%	2	8%
Meshkuj	183	84.7%	23	92%

Një numër prej 20 serumesh çift janë analizuar me anë të testit të aglutinimit mikroskopik për serotipizimin. Nga analiza me MAT për një panel me 10 serovare, në 20 serumet tona u vunë re disa nga këto serovare. Tabela 5.17 paraqet tipet e serovareve të evidentuara me MAT në vlerat e titrit nga 1:100 deri në 1:800.

Tabela 5.17 Tipet e serovareve të evidentuara në vlera titrimi të ndryshme

Serovaret	Titrimi 1:100	Titrimi 1:200	Titrimi 1:400	Titrimi 1:800
Gripptotyphosa		2	1	1
Sejroe		1	1	2
Australis				
Pomona		2	1	1
Canicola		1		
Icterohaemorrhagiae		2	2	1
Ballum				
Autumnalis				
Copenhageni		1	1	
Bratislava				
Hardjo				

Grafiku 5.28 paraqet shpërndarjen e rasteve sipas serovareve të gjetura në serumet sero-pozitive për *Leptospira spp*. Serovari *Icterohaemorrhagiae* është hasur në 5 serume, Serovaret *Grippityphosa*, *Sejroe* edhe *Pomona* janë evidentuar në 4 pacient respektivisht secila. *Copenhageni* është evidentuar në 2 pacient kurse *Canicola* në 1 pacient.



Grafiku 5.28 Shpërndarja e rasteve sipas serovareve

Rastet pozitive të analizuara në laborator për prani të IgM dhe IgG anti-*Leptospira* janë paraqitur në hartën e mëposhtme ku Tirana, Durrësi, Shkodra dhe Fieri paraqesin dhe numrin më të lartë të rasteve pozitive.



Figura 5.1 Harta e shpërndarjes së rasteve pozitive sipas qyteteve

KAPITULLI VI

6. DISKUTIMET

Leptospiroza është një infeksion shumë i përhapur në mbarë botën dhe haset më shpesh në rajonet me klimë tropikale apo në rajonet ku intesiteti i rreshjeve është mbi normalen. Për shkak të rritjes së rasteve gjatë dekadës së fundit në vendit tonë u ndërmor ky studim sero-epidemiologjik me qëllim përcaktimin e sero-prevalencës së Leptospirozës dhe faktorëve bashkëshoqërues që konsiderohen si faktorë rrisht në pacientët e suspektuar me këtë infeksion.

Leptospiroza është një sëmundje potencialisht serioze, dhe e trajtueshme në stadet e pakomplikuara, por diagnoza laboratorike dhe testet nuk janë gjithmonë të disponueshme, veçanërisht në vendet në zhvillim. Janë zhvilluar teste të shumta, por gadishmëria e mbështetjes së duhur laboratorike është ende një problem (231). Nga ana tjetër, gjetjet laboratorike janë thelbësore për të konfirmuar një rast të Leptospirozës pasi manifestimi klinik i Leptospirozës është jospecifik (232).

Përkufizimet e rasteve të leptospirozës si: të dyshuar, të mundshme, dhe të konfirmuara, janë ndjekur për menaxhimin e rastit në spitalet tona. Rastet e konfirmuara janë ata të dyshuar klinikisht të cilët vërtetohen edhe laboratorikisht.

Në këtë studim u përfshinë 702 pacientë të hospitalizuar të suspektuar si raste me Leptospirozë, kjo pasi diagnoza diferenciale bëhet me një grup të gjerë sëmundjesh si bakteriale ashtu edhe virale por duke mbajtur gjithmonë parasysh faktorër specifikë që kanë lidhje me këtë sëmundje. Prevalenca e rasteve të konfirmuara rezultoi 30.8% (216/702). Kjo prevalencë është parë dhe në studime të tjera në botë të bëra në pacientë të paraqitur pranë strukturave spitalore (233, 234).

Serologjikisht rastet e suspektuara klinikisht, janë konfirmuan pranë Institutit të Shëndetit Publik duke iu nënshtruar testit anti Lepto -IgM ELISA dhe anti Lepto -IgG ELISA. Kjo metodë është mjaft e thjeshtë, shumë e ndjeshëm dhe përdoret për të diagnostikuar infeksionet akute të shkaktuara nga bakteri spiroket *Leptospira spp*, me shfaqje klinike nga format më të lehta deri në ato më të rënda.

Analizat që zbulojnë antitruapat anti-IgM janë më të ndjeshme se MAT dhe japin rezultate pozitive më herët në fazën akute të sëmundjes (235, 236) ndërsa testet për antitruapat anti-IgG duhet të zhvillohen në një moment më të vonë në dekursin e sëmundjes për të patur një rezultat të saktë, dhe kjo kërkon që pacientit ti merret një serum i dytë (çift) pas disa ditësh nga fillimi i shenjave. Marrja e vendimeve për trajtimin e pacientëve me Leptospirozë duhet të bëhet sa më shpejt pasi ndërlikimet e kësaj sëmundjeje mund të jenë fatale dhe rezultatet laboratorike duhet të jenë të shpejta, gjë që shpesh nuk lejon mundësinë e pritjes së rezultateve një serumi të dytë (çift) (237, 238) Pozitiviteti për antitruapat Anti-Lepto IgM rezultoi 30.8% kurse negativ për IgM-në rezultuan 486 serume nga 702 serume të testuara në total. Për antitruapat e klasës IgG anti-Lepto rezultuan pozitiv 94 kurse negative 608 mostra. Imunoglobulinat G shfaqen pas fazës akute të infeksionit dhe mund të persistojnë për kohë të gjatë edhe me vite.

Mosha mesatare e pacientëve të testuar/prekur rezultoi 51 ± 5.6 , ku mosha minimale rezultoi 15 vjeç dhe maksimale ishte 82 vjeç. Gjetje të përafërta pasqyron edhe një studim i kryer nga Carmen et al, në Rumani në vitin 2018 ku mosha mesatare ka rezultuar 45 vjeç me min dhe max 25 dhe 80 vjeç respektivisht (239), ndërkohë që në shumë studime të tjera mosha mesatare rezulton më e ulët dhe intervali moshor më i vogël (240). Gjithashtu në këtë studim u vu re një rritje e numrit të rasteve në moshën aktive 35-44 me prevalencë 24% dhe 45-54 me prevalencë 30.8%. Me rritjen e moshës numri i rasteve dhe pozitiviteti fillon dhe ulet siç shihet edhe në përqindjet që rezultojnë në grupmoshat 55-64 vjeç, dhe ato mbi 65 vjeç. Ky trend u vu re dhe në studimet e Ramesh dhe Rafizah (241, 242).

Ajo që të bie në sy është mungesa e rasteve për moshat nën 18 vjeç. Kjo e dhënë përputhet dhe me të dhënat e literaturës ku raportohet një incidencë më e ulët e infeksionit tek fëmijët siç shihet edhe në studime bërë nga Becirovic A. në Bosnje dhe një tjetër studim në Mbretërinë e Bashkuar (243, 244). Ndryshimi ka të ngjarë për shkak të rritjes së ekspozimit mjedisor për arsye okupacionale dhe rekreacionale ndaj bakteve tek të rriturit (245).

Pacientë pozitiv për Leptospirozë rezultuan meshkuj 84.7% (186/216), ndërsa femrat 15.3% (33/216). Pacientët meshkuj kishin më shumë gjasa se pacientet femra të kenë një shtrim në spital të lidhur me leptospirozën. Ky dallim ndërmjet gjinisë meshkuj-femra nuk është i qartë dhe shpesh i është atribuar normave më të larta të ekspozimit ndaj *Leptospira spp* në mesin e popullatës së meshkujve (245).

Gjithashtu ky ekspozim më i lartë i meshkujve reflektohet në të dhënat rreth aktiviteteve që kryhen në ambiente të jashtme që janë të kontaminuara si për punësim ashtu edhe argëtim, aktivitete këto të lidhura me shpërthimet e Leptospirozës (246). Pak studime kanë treguar rritje të shkallës së shtrimit në spital, ashpërsi të sëmundjes dhe leptospiremi tek pacientët meshkuj, të cilat mund të tregojnë një ndjeshmëri më të madhe për zhvillimin e sëmundjeve të rënda në pacientët meshkuj (245, 247). Për këtë arsye nevojiten më shumë kërkime për të përcaktuar arsyen e kësaj pabarazie edhe pse ka gjasa multifaktoriale.

Në studimin tonë pacientët tanë paraqesin një ndryshueshmëri të dukshme midis vendbanimit qytet (34.9%) dhe atij në fshat (65.1%), gjë që u shpreh dhe nga një lidhje e fortë sinjifikante p më e vogël se 0.0001. Kjo gjë është vënë re dhe në një punim të kryer në Itali (248) dhe në Iran (249). Megjithatë, nga studime të ndryshme Leptospiroza urbane ose peri-urbane është rishfaqur në Evropë kohët e fundit, me raporte nga Greqia dhe jugu i Francës (Marsejë) (250, 251).

Bazuar në nivelin e arsimimit, shumica e personave që rezultuan pozitiv me leptospirozë nuk kanë nivel të lartë arsimor. Vetëm 8.3% e tyre rezultuan me arsim të lartë. Shumica e personave kishin arsim 8/9-vjeçar dhe të mesëm. Niveli i ulët i arsimimit lidhet me nivelin e njohurive të pakta për rrezikun nga Leptospiroza. Ky nivel i ulët i njohurive dhe edukimit për rreziqet e leptospirozës mund të çojë në uljen e nivelit të ndërgjegjësimit për leptospirozën, gjë që pasqyrohet edhe në praktika të dobëta lidhur me parandalimin e leptospirozës duke e nënvlehtësuar rrezikshmërinë e saj. Gjithashtu një nivel i ulët i njohurive mund të shkaktojë një nivel të ulët të ndërgjegjësimit të publikut për leptospirozën (252).

Niveli arsimor mund të ndikojë në higjienën personale të një individi dhe ndërgjegjësimin për sëmundjet. Studimi ynë zbuloi se niveli arsimor ishte një faktor i rëndësishëm për leptospirozën seropozitive. Gjasat tek pacientët që ishin pa arsim dhe ato me arsim fillor e 8 vjeçar paraqitën një rrisht shumë më të lartë për tu infektuar kundrejt atyre me nivel arsimor të mesëm dhe atyre të lartë. U vu re një lidhje shumë e fortë ndërmjet nivelit arsimor dhe infeksionit. Kjo gjetje nuk ishte në përputhje me studimin e bërë në Salvador, Brazil i cili raportoi një korrelacion pozitiv midis seroprevalencës së leptospirozës dhe nivelit të ulët arsimor (253). Niveli arsimor dhe lidhja e tij me arsimimin e pakët paraqitet edhe në studimin e bërë në Indonezi (254).

Leptospiroza shpesh konsiderohej si sëmundje e lidhur me profesionin. Pozitiviteti bazuar në të gjitha profesionet e referuara nga ana e pacientëve të marrë në studim rezultoi 43.05% (93/216), ndërsa pozitiviteti sipas secilit profesion është si më poshtë: fermerët 18.3% (17/93); shofer/mekanik 16.1% (15/93); peshkatar 32.2% (30/93) punonjës kanalizime 20.4% (19/93); zejtar 3.2% (3/93); minator 4.3% (4/93); kuzhinier/kasap 3.2% (3/93) dhe agronom 2.1% (2/93). Siç tregohet nga një studim i rastit të kontrollit në Singapor, studiuesit zbuluan se subjektet e studimit (profesioni me rrezik të lartë) kishin gjashtë herë më të lartë seroprevalencë sesa subjektet e kontrollit (254). Ndërsa në një studim epidemiologjik të bërë në Haai (255), u raportua se ekspozimet profesionale përbënin 44% të të gjitha rasteve, kryesisht të lidhura me bujqësinë. Edhe një studim i bërë në Poloni solli në vëmendje lidhjet e Leptospirozës me aktivitetin e kryer në ambjentin e jashtëm. (256).

Leptospiroza është një sëmundje e mjedisit; transmetimi varet nga ndërveprimi midis njeriut dhe gjitarëve që shërbejnë si rezervuar. Studimet e mëparshme zbuluan se leptospiroza ishte e lidhur me faktorë mjedisorë, veçanërisht faktorë mjedisorë shtëpiakë (257). Në studimin tonë peshkatarët kanë rezultuar si profesioni me numër më të lartë rastesh pozitive. Këtë përfundim e gjejmë edhe në studimin spanjoll (258). Kjo situatë përforcon modelin epidemiologjik të transmetimit të *Leptospirave* nëpërmjet ujrave të ndotura.

Gjithashtu edhe bujqit rezultuan me përqindje të lartë, përfundim që pasqyrohet edhe në studimin të kryer nga Mwanajaa et al., në 2015 (259). Studime të shumta kanë treguar se aktivitetet e lidhura me profesionet bujqësore në mjedisin e jashtëm kanë lidhje sinjifikante me transmetimin dhe infeksionin nga *Leptospira* (260-262).

Transmetimi i këtij infeksioni bëhet nëpërmjet kontaktit me ujin dhe ushqimin e kontaminuar nga urina e minjve apo bartësve të infektuar, ndërsa transmetimi nga njeriu te nga njeriu është i rrallë (39, 46). Për sa i përket rezervuarëve të kafshëve, brejtësit janë identifikuar si një rezervuar kyç dhe fokusi kryesor për kontrollin e leptospirozës. Prania e brejtësve u identifikua gjithashtu si rreziku kryesor për marrjen e *Leptospirave* në mjedise të tjera, të tilla si lagjet e varfëra të zonave urbane (263). Kohët e fundit, janë identifikuar edhe lloje të tjera kafshësh që luajnë një rol potencialisht të rëndësishëm në transmetimin e leptospirozës tek njerëzit (264).

Në studimet e mëparshme që kanë hetuar qentë në zona të ndryshme të Tajlandës, ndërveprimi me kafshë që nuk kanë lidhje me punën, si qentë, është parë si një kontribues potencialisht i rëndësishëm në transmetimin e leptospirozës, veçanërisht në jug të Tajlandës (265-267). Në variablin e të paturit kontakt me urinën e miut, në një punim të kryer në Indonezi raportuan se ekziston një korrelacion domethënës ndërmjet variablit të kontaktit me urinën e miut dhe shfaqjes së leptospirozës (268).

Të gjithë pacientët tanë janë pyetur nëse kanë kafshë në ambjentet ku punojnë apo jetojnë, ku 45.7% referuan praninë e kafshëve të ndryshme pranë ambienteve. Infeksionet e lidhura me praninë e rodentëve (brejtës/minjtë) pranë ambienteve ku jetojnë apo punojnë rezultoi me një rrezik 1.13 herë më të lartë për CI 95% [0.73-1.76] vlera e p rezultoi 0.02, ndërsa për ata ku rruga e infektimit mendohet nga kontaktet me kafshë të tjera (si pula, bagëtitë e imta, mace etj) rreziku i infektimit rezultoi 1.32 herë më i lartë për CI 95% [0.83-2.10] vlera e p rezultoi 0.00023. nuk u vu re në studimin tonë një lidhje ndërmjet kafshëve si lopë dhe qen dhe infektimit me *Leptospira spp.*

Sezonaliteti i këtij infeksioni është i lidhur edhe me reshjet maksimale në muajin më të lagësht (39, 52). Duke marrë parasysh që *Leptospira* mund të mbijetojë për javë deri në muaj në ujë të freskët, kjo çon në mundësinë që ato të barten dhe të shpërndahen në mënyrë efikase nga uji (p.sh. përmytjet, rrjedhat përgjatë lumenjve). Në studimin tonë rritja e numrit të rasteve ka ndodhur nga sezoni i pranverës deri në sezonin e dimrit. Rastet në sezonin e vjeshtës rezultuan 1.72 herë më të riskuara për të dalë pozitive për CI 95% [1.03-3.03] p value rezultoi 0.05, ndërsa rastet në sezonin e Dimrit paraqitën një rrisht 2.38 herë më të lartë për të qenë pozitiv për CI 95% [1.36-4.16] p value rezultoi 0.002.

Në studim u përfshinë dhe të dhëna për burimin e ujit të pijshëm apo për përdorim higjeno-sanitar dhe vlen të përmendet se rastet me Leptospirozë janë të lidhura gjithashtu dhe me ujin: Përdorimi i ujit të trajtuar (uji që vjen nga rrjeti) jo vetëm për pirje apo përdorim higjeno-sanitar në shtëpi, si dhe kontaktit me ujin e grumbulluar (si në rastet e përmytjeve) ashtu dhe nga ujrat e rrjedhshëm burime apo përrua dhe lumë ka rëndësinë e tij. Kontakti me ujrat e ndotura rezultoi si shkaku kryesor i infeksionit në punimin italian të Ciceroni L. et al. (269).

Mungesa e ujit të rrjetit në shtëpi dhe afërsia me lumenjtë ka të ngjarë të shoqërohet me nivele më të larta të kontaktit me ujërat e ëmbla të patrajuara, p.sh. përdorimi i ujit të lumenjve për larje, pastrim, për not dhe aktivitete argëtuese mund të shërbejë si burim infektimi. Për më tepër, qasja e dobët ndaj furnizimit me ujë rrjeti në shtëpi është përgjithësisht e lidhur me varfërinë dhe gjithashtu ndikon në higjienën personale, si p.sh. aftësia për tu pastruar dhe për tu larë pas punës në natyrë, ose pas kontaktit me baltën, ujin e ndotur ose kafshët. Dy nga faktorët e lidhur me ujin (distanca nga lumi ose përroi kryesor dhe reshjet maksimale në muajin më të lagësht) janë gjithashtu tregues të përafërt të rrezikut nga përmbytjet. Gjatë periudhës së marrë në shqyrtim në këtë studim shihen edhe shpërthimet e Leptospirozës pas përmbytjeve të 2010-2011 që shoqërohen dhe me pozitivitetin më të lartë. Pra përmbytjet janë parë si një faktor i rëndësishëm i transmetimit. Këto gjetje janë raportuar në shumë pjesë të botës si edhe në një studim i kryer në Fixhi nga Lau et al (270).

Prezantimi klasik i leptospirozës shfaqet si një sëmundje bifazike ku komplikacionet ndodhin në fazën e dytë të infeksionit. Shkaqet që çojnë në vdekje përfshijnë insufiçencën renale, insufiçencën kardio-pulmonare insufiçencën hepatike dhe hemorragjinë e përhapur. Leptospiroza me përfshirje të shumë organeve në mënyrë uniforme mbart një prognozë të keqe dhe është më e zakonshme tek pacientët të cilët ka pasur një vonesë në fillimin e terapisë me antibiotikë pasi, përfitimi i antibiotikëve pas ditës së pestë të sëmundjes është i diskutueshëm (271, 272).

Leptospiroza është një sindrom infekt febril me paraqitje të shumta klinike. Shenja klinike më e hasur rezultoi temperatura e pasuar nga dhimbjet abdominale mialgja dhe cefaleja, shenja që referohen edhe në studime të tjera me shpeshtësi të përafërt (273, 274). Ikteri është një tjetër simptom që tregon për ahpërsinë e sëmundjes. Përqindja e rasteve pozitive me ikter në studimin rezultoi 22.7%. Prania e ikterit tek personat e hospitalizuar u pa edhe në studime të tjera në të njëjtat përqindje si në studimin tonë u paraqit edhe nga studimi në Austri (275) në përqindje më të ulët në studimin e Rusell et al., në 2018 (276), kurse në përqindje më të lartë në studimin në Indi dhe në Bosnje (243, 277).

Parametrat biokimikë tek pacientët me leptospirozë pësojnë një ndryshim të dukshëm krahasuar tek individët e shëndetshëm. Pacientët paraqitën anemi, rritje e shkallës së sedimentimit të eritrociteve (ESR), leukocitozë, të shoqëruar me neutrofil, monocitoza dhe trombocitopeni.

Testet për funksionet hepatike rezultuan gjithashtu të alteruara, Në mënyrë të ngjashme, parametrat e funksionit të veshkave, p.sh., urea në gjak, dhe kreatinina në serum ishte rritur ndjeshëm. Në pacientët tanë, hemoglobina ishte dukshëm e ulët krahasuar me një individ të shëndetshëm. Kjo gjë u vu re dhe në dy studime të tjera nga Da Silva et al. në 2014 dhe Craig et al në 2009 (278, 279). Si gjithë infeksionet bakteriale edhe Leptospiroza shkakton një ndryshim të formulës leukocitare duke u paraqitur si leukocitozë dhe neutrofili. Shumë studime kanë referuar një Trombocitopeni si pasojë të fenomeneve hemorragjike (280-284). Kjo gjë u evdientua dhe në të dhënat e studimit tonë. Nga ana tjetër, në shumë studime janë vërejtur dhe ndryshime të funksioneve hepatike në pacienëtët me prekje organore (285-289). Edhe në studimin tonë u vunë re ndryshime në parametrat që tregojnë implikim hepatic, e shprehur në nivelet e rritura të enzimave hepatike në pacientët e hospitalizuar me leptospirozë. Pacientët kishin nivele të rritura të enzimave të mëlçisë dhe nivele të rritura të bilirubinës,

Prania e oligurisë si një variabël parashikues për vdekjen shkaktuar nga insuficiencia renale akute për shkak të nekrozës akute tubulare. Studimet e fundit kanë treguar përfitimin e dializës së hershme në leptospirozë, me një ulje të normës së vdekshmërisë (290). Gjithashtu në studimin tonë u vu re dhe disfunksioni renal bazuar në rritjen e uresë së gjakut dhe kreatininës në serum, gjë që është raportuar edhe në studime të tjera (280, 286).

Sipas Organizatës Botërore të Shëndetësisë, shkalla e vdekshmërisë për leptospirozën mund të arrijë deri në 30% (291). Studimet aktuale kanë tregoi se shumica e pacientëve shërohen pa asnjë ndërlikim ndërsa shkalla e vdekshmërisë së rastit varion sipas rajoneve e bazuar kjo në ashpërsinë e sëmundjes (292). Vdekshmëria në studimin tonë rezultoi 11.6%. Në studimet e tjera rezultoi e ndryshme. 5.9% (291), 15.41% (290), 2,5% (293) 12.9% (243). Niveli më i vogël i shkallës së vdekshmërisë në studimin aktual mund t'i atribuohet dializës për pacientët me insuficiencë renale dhe kujdes të mirë spitalor.

KONKLUSIONE

Ky studimit ishte një përpjekje për të identifikuar *Leptospira spp* si shkaktarin e gjëndjeve febrile tek pacientët e hospitalizuar klinikisht të dyshuar për këtë infeksion.

Në studim u përfshinë 702 pacientë febrilë të shtruar në QSUT, si dhe nga spitalet e disa rretheve përgjatë periudhës kohore 2006-2016.

Për çdo pacient u analizua serumi i sjellë në ISHP nga shërbimet spitalore, si dhe u mbledhën informacione për paraqitjen klinike (simptomat), parametrat laboratorikë dhe të dhëna socio-demografike. Këto të dhëna u shqyrtuan me qëllim identifikimin e faktorëve të riskut për këtë infeksion.

Serumet u testuan me metodën ELISA dhe pozitiv me prani të IgM-antileptospira rezultuan 2016 pacientë. Prevalenca e rasteve të konfirmuara me *Leptospira spp* rezultoi 30.8% (216/702). Pozitiv për IgG-antileptospira rezultuan vetëm 94 pacientë.

Gjatë kohështrirjes së studimit viti me më pak raste të testuara ka qënë viti 2006 (35 raste) kurse viti me numrin më të lartë ishte viti 2016 (97 raste).

Pozitiviteti i rasteve të dyshuara ka luhajte përgjatë periudhës kohore të marrë në studim. Pozitiviteti më i lartë rezulton në vitin 2010 me prevalencë 43.6% dhe ai më i ulti në vitin 2006 me prevalencë 22.5%.

Shërbimet që kanë referuar rastet e dyshuara për konfirmim laboratorik kryesohen nga Shërbimi Infektiv me 80.3% (578/702) të rasteve ndjekur nga Spitalet e rretheve me 7.4% të rasteve, Shërbimi i Nefrologjisë me 4.8%, Reanimacioni Qëndror me 4% dhe i fundit rradhitet Shërbimi i Gastro-Hepatologjisë me 1.4% të rasteve.

Analizuar në lidhje me sezonalitetin numri i rasteve të suspektuara të sjella për konfirmim vjen duke u rritur nga pranvera në dimër. Raste pozitive rezultuan më shumë në dimër 36.36% dhe më pak në pranverë 19.6%. Pacientët e analizuar në sezonin dimëror paraqitën një risk 2.38 herë më të lartë për të qënë pozitiv.

Nga numri total i testeve numri i pacientëve meshkujë të testuar është 638, që përbën 90.3% të numrit të personave të testuar, kurse femra janë vetëm 9.1% (64/702 pacientë). Ndër personat

pozitivë meshkujt përbënin 84.7% (186/216) dhe femrat 15.3% (33/216). U vu re lidhje sinjifikante ndërmjet gjinisë dhe pozitivitetit. Meshkujt rezultuan 2.63 herë më të rrezikuar për tu infektuar me *Leptospira spp* krahasuar me femrat. Numri i femrave të testuara varion nga 2 në vitin 2007 deri në 9 paciente në vitin 2012 ku numri i rasteve pozitive varion nga 1 në 2006 dhe 5 pozitive në vitin 2012. Meshkujt paraqesin numrin më të lartë të personave të testuar me një variacion nga 32 persona në vitin 2006 deri në 90 persona në vitin 2016, ku rastet pozitive janë më të ultat (7) në vitin 2008 dhe më të lartat 30 në vitin 2016.

Pacientët e testuar ishin nga moshja 15 vjeç deri në moshën 82 vjeç, me moshë mesatare 51 ± 5.6 vjeç. Në studim pacientët u grupuan në gjashtë grupmosha. Grupmosha me numrin më të lartë të rasteve të suspektuara për tu konfirmuar rezultoi ajo 45-54 vjeç me pozitivitet 31%, i cili rezultoi gjithashtu më i larti. Grupmosha 15-24 vjeç rezultoi me numrin më të ulët të rasteve të suspektuara ku dhe pozitiviteti në mes saj ishte më i ulëti 1.8%. Pozitiviteti në grupmoshat 35-44 vjeç dhe 55-64 vjeç u llogarit 22.2% dhe 21.5%. Kurse grupmoshat 25-34 vjeç dhe ajo ≥ 65 vjeç rezultuan me numër të përafërt pacientësh 74 dhe 76 persona, si dhe me pozitivitet po të përafërt 10.5% dhe 10.8%.

Me vendbanim në zonat rurale u konstatuan 65.1% e pacientëve dhe pozitiv rezultuan 53.7% e tyre. Pacientët me vendbanim në qytet ishin 34.9% dhe pozitiviteti i tyre ishte 46.3%. Pacientët e zonave rurale rezultojnë 2.04 herë më të rriskuar nga infeksioni me *Leptospira spp*.

Sipas nivelit arsimor u pa që personat me arsim të mesëm përbënin pjesën më të madhe të pacientëve të testuar 57.1% (401/702) dhe pozitiviteti mes tyre rezultoi gjithashtu më i larti me 38%. Pacientët pa arsim ishin 3.7% me një pozitivitet 10.6%, kurse ata me arsim të lartë përbënin 22.2% të pacientëve të testuar me pozitivitet 8.3%. Pacientët pa arsim shfaqën një risk 58.77 herë më të lartë krahasuar me ata me arsim të lartë për këtë infeksion. Risku për ata me arsim 8-9 vjeçar ishte 26.3 herë më i lartë ndjekur nga ata me arsim fillor me risk 21.46 herë më i lartë krahasuar gjithashtu edhe këta me pacientët me arsim të lartë.

Lidhur me statusin e punësimit personat e punësuar përbënin 46.3% të pacientëve të testuar dhe pozitiviteti rezultoi 43% mes tyre. Pacientët e papunë (24.2%) rezultuan me një pozitivitet 34.7% dhe me një risk 5.08 herë më të lartë për infeksionin me *Leptospira spp*.

Bazuar në referimin e pacientëve se infeksioni me *Leptospira spp.* rezultoi i lidhur me punën në 78/216 prej tyre që përbënin 36% të rasteve pozitive. Infektimet aksidentale rezultuan 26.6%, nga aktivitete argëtuese 20% dhe të panjohura 14%. Risku për infektim të lidhura me punën ishte 1.13 herë më i lartë, për aktivitete argëtuese 1.66 herë, për ato aksidentale 1.18 herë, kurse infektimet pa dijeni të pacientit rezultuan 1.64 herë më të larta.

Kontakti me kafshët referohet nga 38% e pacientëve që rezultuan pozitivë. Kurse 27% e tyre referuan kontaktin me ujra të ndotura dhe ambjente të kontaminuara 21% e pacientëve pozitivë. Riskun më të lartë e kishin pacientët që nuk kishin njohuri për rrugën e infektimit 1.64 herë më të lartë.

Kontakt me kafshët referuan 45.7% e të gjithë pacientëve dhe 117 pacientë rezultuan pozitiv. Praninë e rodentëve e referuan 52% e pacientëve pozitiv për *Leptospira spp.* ku risku për këtë burim infeksioni rezultoi 1.13 herë më i lartë. Risku për infeksion nga kontakti me qentë u llogarit 1.22 herë më i lartë dhe kafshë të tjera 1.32 herë më i lartë.

Sipas profesionit të personave që referuan si të punësuar, përqindjen më të lartë e përbëjnë peshkatarët (29.9%) dhe atë më të ultën agronomët (2.1%). Pozitivitet më të lartë kanë peshkatarët 32.2% të ndjekur nga punonjësit e kanalizimeve me 20.4% të rasteve pozitive. Bazuar në analizën statistikore u vu re një lidhje e fortë sinjifikante për profesionet si fermer, shofer/mekani, peshkatar, punonjës i kanalizimeve, zejtar dhe minator.

Për sa i përket origjinës së llojit të ujit që përdorin pacientët u vu re se shumica e tyre 45.1% përdorin ujë rrjeti, duke u pasuar nga ata që përdorin ujë të ambalazhuar me 31.8%. një pjesë fare e vogël përdorin ujë lumi 0.6%. U vu re një lidhje e fortë sinjifikative për pacientët që kanë referuar se kosnumonin ujë rrjeti, ujë pusi dhe ujë burimi.

Në lidhje me kushtet e banimit 52% (112/216) referuan kushte të këqija banimi dhe 26% (57/216) kushte të mira banimi. Në banesa private jetonin 66% e pacientëve pozitivë dhe në apartamente 34% e tyre. Tualetet i kishin jashtë shtëpisë vetëm 4%. Gropë septike përdornin vetëm 1% (2/216) prej tyre.

Pacientët që kanë rezultuar pozitiv për infeksionin nga *Leptospira spp* që kanë patur kontakte me hapësira ujore gjatë javëve të fundit para se tu shfaqeshin shenjat klinike kishin 41% (91/216). Nga

këta persona 45% kishin kontakte me ujin e liqeneve, 25% me ujin e burimeve, 20% me ujin e kanaleve dhe 2% me ujin e lumenjve.

Ankesat dhe shenjat klinike që pacientët paraqitën në shtrim ishin të shumëllojshme. Shenja më e shprehur ishte temperatura e lartë 39-40°C me 631 raste (84.6%) e ndjekur me ankesën cefale me 546 raste (77.8%). Ndërsa shenjat më pak të hasura ishin haemoptysia në 1.3% të rasteve dhe meningiti 10 persona nga 702 të testuar (1.4%). Ndër pacientët pozitiv si shenjat më të shpeshta ishin temperatura e lartë në 71.3% të tyre, shenja mialgji-artralgi në 74.5% të tyre dhe dhimbjet abdominale në 43% të tyre.

Me prekje organore nga pacientët pozitiv rezultuan 68 persona, ku organi më i prekur rezultuan veshkat me 47.05% të rasteve pasuar nga ata me prekje hepatike me 10.3% të rasteve. Raste më të pakta ishin ata me prekje kardiake dhe të lienit ku rezultuan vetëm 5.9% dhe 2.9%.

Parametrat biokomik-klinikë që shoqërojnë infeksionin me *Leptospira spp* rezultuan me alternime që orientojnë për dëmtimet që ka shkaktuar ky infeksion si anemi, leukocitozë, trombocitopeni, ndryshime në enzimën hepatike, rritje të bilirubinës, ndryshime të nivelit të uremisë, kreatinemisë që tregojnë për prekje organore (heparit, veshkave).

Infeksioni me *Leptospira spp* është bërë shkak për 25 fatalitete në periudhën 2006-2016 që është marrë në studim. Periudha me numrin më të lartë të fataliteteve është ajo 2010-2011. Rastet fatale përbëjnë 11.6% të rasteve pozitive. Femrat që humbën jetën rezultuan 8% (2/25) kurse meshkuj 92% (23/25).

Me anë të testit MAT u analizuan 20 çifte serumesh për serotipizim. Serovari *Icterohaemorrhagiae* është hasur në 5 serume, Serovaret *Grippotyphosa*, *Sejroe* edhe *Pomona* janë evidentuar në 4 pacient respektivisht secila. *Copenhageni* është evidentuar në 2 pacient kurse *Canicola* në 1 pacient.

REKOMANDIMET

Përmirësimi i kapaciteteve raportuese dhe depistuese për rastet me infeksione të shkaktuara nga specie të *Leptospira spp* në rang vendi.

Edukimi dhe promovimi shëndetsor për personat që kryejnë aktivitete të rrezikuara për tu ndeshur me patogjenin *Leptospira spp*.

Të inkurajohet përdorimi i veshjeve mbrojtëse nga personat që kryejnë aktivitete në mjedise ujore.

Mbajtja e një higjence të lartë kryesisht në habitatet e njohura për këtë infeksion.

Shmangia e frekuentimit të zonave apo mjediseve të ndotura nga kafshët bartëse të këtij infeksioni.

Kontrolli i rodentëve dhe drenimi i ujrave të ndenjura shërbejnë si masa prandaluese.

Kryerja e depistimeve në rastet e përbytyjeve në zonat endemike për këtë patogjen me qëllim parandalimin e rasteve të rënda.

Implementimi i metodave të reja dhe bashkohore për diagnozën laboratorike të Leptospirozës, të cilat rrisin kapacitetin diagnostik dhe ulin kohën e diagnozës e cila përketet në menaxhimin më të mirë dhe efikas të rasteve duke ulur nivelin e rasteve fatale.

REFERENCAT

1. Adler B., Faine S. The genus *Leptospira*. The Prokaryotes. M. Döorkin, S. Falkoë, E. Rosenberg, K. Schleifer and E. Stackebrandt. 2006 New York, Springer 7 294-317.
2. Faine S. Stallman N. D. Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the species *L. interrogans* (Stimson 1907). Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Eölbach and Binger 1914) Noguchi 1918. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 32:1982-461-463.
3. Stimson AM. Note on an organism found in yellow-fever tissue. *Pub Health Rep* (Eashington 1907; 22:541.
4. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira* and leptospirosis. 2nd ed. Melbourne. 1999. Australia: MedSci.
5. Swain R H A. The electron-microscopical anatomy of *Leptospira canicola*. *J Pathol Bacteriol.* 1957; 73:155–158.
6. Trueba G A, Bolin C A, Zuerner R L. Characterization of the periplasmic flagellum proteins of *Leptospira interrogans*. *J Bacteriol.* 1992; 174:4761–4768.
7. Byku B, Fuga L, Andoni R. *Mikrobiologjia mjeksore*. Tirane SHBLU, 2002: 287-289.
8. Haake D A. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. *Microbiology.* 2000; 146:1491–1504.
9. Vinh T, Adler B, Faine S. Ultrastructure and chemical composition of lipopolysaccharide extracted from *Leptospira interrogans* serovar copenhageni. *J Gen Microbiol.* 1986; 132:103–7.
10. Faine S. *Leptospira* and leptospirosis. 1994. Boca Raton, Fla: CRC Press.
11. Johnson R C, Faine S. *Leptospira*. In: Krieg N R, Holt J G, editors. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 1. Baltimore, Md: Williams & Wilkins; 1984. pp. 62–67.
12. Greenwood D, Slack R C B, Barer M R., Irving W.L; *Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control*; Elsevier Health Sciences, 2012; 379-380
13. Faine S, Stallman N D. Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Eölbach and Binger 1914) Noguchi 1918. *Int J Syst Bacteriol.* 1982; 32:461–463.
14. Dikken H, Kmety E. Serological typing methods of leptospire. In: Bergan T, Norris J R, editors. *Methods in Microbiology*. Vol. 11. London, U.K: Academic Press; 1978. pp. 259–307.

15. Kmety E. and Dikken H. *Classification of the species Leptospira interrogans and history of its serovars*. 1993 University Press Groningen Groningen, The Netherlands
16. Brendle J J, Rogul M, Alexander A D. Deoxyribonucleic acid hybridization among selected leptospiral serotypes. *Int J Syst Bacteriol*. 1974; 24:205–214.
17. Yasuda P H, SteigerWalt A G, Sulzer K R, Kaufmann A F, Rogers F, Brenner D J. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new Leptospira species. *Int J Syst Bacteriol*. 1987; 37:407–415.
18. Ramadass P, Jarvis B D W, Corner R J, Penny D, Marshall R B. Genetic characterization of pathogenic Leptospira species by DNA hybridization. *Int J Syst Bacteriol*. 1992; 42:215–219
19. Pérolat P, Chappel R J, Adler B, Baranton G, Bulach D M, Billingham M L, Letocart M, Merien F, Serrano M S. *Leptospira fainei* sp. nov., isolated from pigs in Australia. *Int J Syst Bacteriol*. 1998; 48:851–858.
20. Letocart M, Boerlin P, Boerlin-Petzold F, Goudet J, Baranton G, Perolat P. Genetic structure of the genus Leptospira by multilocus enzyme electrophoresis. *Int J Syst Bacteriol*. 1999; 49:231–238.
21. Brenner D J, Kaufmann A F, Sulzer K R, Steigerwält A G, Rogers F C, Weyant R S. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new Leptospira genomospecies. *Int J Syst Bacteriol*. 1999; 49:839–858.
22. Feresu S. B., Steigerwält A. G., and Brenner D. J. DNA relatedness of Leptospira strains isolated from beef cattle in Zimbabwe. *Int. J. Syst. Bacteriol*.
23. World Health Organization. Leptospirosis worldwide, 1999. *Wkly Epidemiol Rec*. 1999; 74:237–242.
24. Everard J D, Everard C O R. Leptospirosis in the Caribbean. *Rev Med Microbiol*. 1993; 4:114–122.
25. Ratnam S. Leptospirosis: an Indian perspective. *Indian J Med Microbiol*. 1994; 12:228–239.
26. Vinetz J M, Glass G E, Flexner C E, Mueller P, Kasloë D C. Sporadic urban leptospirosis. *Ann Intern Med*. 1996; 125:794–798.
27. WHO. Report of the second meeting of the leptospirosis burden epidemiology reference group. 2011.

28. Organization WH. Leptospirosis burden epidemiology reference group (IERG) 2015 <http://www.who.int/zoonoses/diseases/IERG/en/index2.html>.
29. Estimating the burden of human leptospirosis. Abela-Ridder B, Sikkema R, Hartskeerl RA. Int J Antimicrob Agents. 2010 Nov; 36 Suppl: S5-7
30. Pappas G, Papadimitriou Ph, et al. The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. International journal of infectious Disease. 2008;12:351-357
31. Abdulkader RC. Acute renal failure in leptospirosis. Renal Fail. 1997 Mar;19(2):191-8.
32. World Health Organization. Human leptospirosis: guidance for diagnosis surveillance and control. Geneva: World Health Organization; 2003.
33. Jevon T R, Knudson M P, Smith P A, Hitecar P S, Blake R L. A point-source epidemic of leptospirosis: description of cases, cause, and prevention. Postgrad Med. 1986; 80:121–129.
34. Global health impacts of floods: epidemiologic evidence. Ahern M, Kovats RS, Wilkinson P, Few R, Matthies F Epidemiol Rev. 2005; 27:36-46.
35. Leptospirosis Annual Epidemiological Report for 2014. ECDC. Surveillance report. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/leptospirosis-annual-epidemiological-report-2014>
36. Institut Pasteur. Rapport annuel d'activité. Centre National de Référence de la Leptospire. Année d'exercice 2014. France: IP, 2015.
37. Hoffmeister B, Peyerl-Hoffmann G, Pischke S, et al.: Differences in clinical manifestations of imported versus autochthonous leptospirosis in Austria and Germany. Am J Trop Med Hyg. 2010, 83: 326-335.
38. <https://www.salute.gov.it/pianoNazionaleIntegrato2015/dettaglioPianoNazionaleIntegrato2015.jsp?cap=capitolo2&sez=pni-cap2-lnr&id=69>
39. Mwachui MA, Crump L, Hartskeerl R, Zinsstag J, Hattendorf J. Environmental and Behavioural Determinants of Leptospirosis Transmission: A Systematic Review. PLoS Negl Trop Dis. 2015 Sep;9 (9): e0003843.
40. Evans, M., and G. Baranton. 2000. Leptospirosis outbreak in Eco Challenge 2000 participants, Eurosurveillance Weekly 4:000921. [Online.] <http://www.eurosurv.org/2000/000921.htm>.
41. Shaw R D. Kayaking as a risk factor for leptospirosis. Mo Med. 1992; 89:354–357.

42. Reisberg B E, Wurtz R, Diaz P, Francis B, Zakowski P, Fannin S, Sesline D, Waterman S, Sanderson R, McChesney T, Boddie R, Levy M, Miller G, Herrera G. Outbreak of leptospirosis among white-water rafters Costa Rica, 1996. *Morb Mortal Wkly Rep.* 1997; 46:577–579.
43. Evans, M., and G. Baranton. 2000. Leptospirosis outbreak in Eco Challenge 2000 participants, *Eurosurveillance Weekly* 4:000921. [Online.] <http://www.eurosurv.org/2000/000921.htm>
44. Vanasco N B, Sequeira G, Fontana M L D, Fusco S, Sequeira M D, Enria D. Descripción d’un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fe, Argentina, marzo–abril de 1998. *Rev Panam Salud Publica.* 2000; 7:35–40.
45. Luzzi G A, Milne L M, Waitkins S A. Rat-bite acquired leptospirosis. *J Infect.* 1987; 15:57–60.
46. Harrison N A, Fitzgerald W R. Leptospirosis—can it be a sexually transmitted disease? *Postgrad Med J.* 1988; 64:163–164.
47. Bal A. E., Gravekamp C., Hartskeerl R. A., de Meza-Brewster J., Korver H., and Terpstra W. J. Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. *J. Clin. Microbiol.* 32199418941898
48. Babudieri B.. Animal reservoirs of leptospirosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 70:393–413
49. Gordon Smith C E, Turner L H. The effect of pH on the survival of leptospires in water. *Bull WHO.* 1961; 24:35–43.
50. Chang, S. L., M. Buckingham, and M. P. Taylor. 1948. Studies on *Leptospira icterohaemorrhagiae*. IV. Survival in water and sewage: destruction in water by halogen compounds, synthetic detergents, and heat. *J. Infect. Dis.*
51. Smith, D. J. W., and H. R. M. Self. Observations on the survival of *Leptospira australis* A in soil and water. 1955. *J. Hyg.* 53:436–444.
52. Karaseva E V, Chernukha Y G, Piskunova L A. Results of studying the time of survival of pathogenic leptospira under natural conditions. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol.* 1973; 17:339–345.
53. Douglin, C. P., C. Jordan, R. Rock, A. Hurley, and P. N. Levett. Risk factors for severe leptospirosis in the parish of St. Andrew, Barbados. 1997. *Emerg. Infect. Dis.* 3:78–80.
54. Areán V M. The pathologic anatomy and pathogenesis of fatal human leptospirosis (Weil's disease) *Am J Pathol.* 1962; 40:393–423.

55. Pierce P F, Utz J P, Lack E E. Leptospirosis. In: Connor D H, Chandler F W, Schwartz D A, Manz H J, Lack E E, editors. Pathology of infectious diseases. Stamford, Conn: Appleton & Lange; Vol. 1. 1997. pp. 615–619.
56. Zaki S R, Spiegel R A. Leptospirosis. In: Nelson A M, Horsburgh C R, editors. Pathology of emerging infections 2. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1998. pp. 73–92.
57. Dooley, J. R., and K. G. Ishak. Leptospirosis, 1976. p. 101–106. In C. H. Binford and D. H. Connor (ed.), Pathology of tropical and extraordinary diseases, vol. 1. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C.
58. Penna, D., T. de Brito, A. A. Pupo, M. M. Machado, P. A. A. Galvão, and S. Soares de Almeida. 1963. Kidney biopsy in human leptospirosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 12:896–901.
59. Estavoyer J-M, Marquelet D, Baufle G-H, Becque O, Michel-Briand Y, Pageaut G. Leptospirose grave avec localisation cardiaque. Presse Med. 1980 ;9:2579.
60. Zaki S R, Shieh W-J. the Epidemic Working Group. Leptospirosis associated with outbreak of acute febrile illness and pulmonary haemorrhage, Nicaragua, 1995. Lancet. 1996 ;347 :535
61. Nicodemo A C, Duarte M I S, Alves V A F, Takakura C F H, Santos R T M, Nicodemo E L. Lung lesions in human leptospirosis: microscopic, immunohistochemical, and ultrastructural features related to thrombocytopenia. Am J Trop Med Hyg. 1997; 56:181–187.
62. Uip, D. E., V. Amato Neto, and M. S. Duarte. Diagnostico precoce da leptospirose por demonstracia ~o de antigenos atraves de exame imuno-histoquimino em musculo da panturrilha. 1992. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 34:375–381.
63. de Souza L, Koury M C. Chemical and biological properties of endotoxin from *Leptospira interrogans* serovars canicola and icterohaemorrhagiae. Braz J Med Biol Res. 1992; 25:467–475.
64. del Real G, Segers R P, van der Zeijst B A, Gaastra W. Cloning of a hemolysin gene from *Leptospira interrogans* serovar hardjo. Infect Immun. 1989; 57:2588–2590.
65. Yuri K, Takamoto Y, Okada M, Hiramune T, Kikuchi N, Yanagawa R. Chemotaxis of leptospire to hemoglobin in relation to virulence. Infect Immun. 1993; 61:2270–2272.
66. Lee S H, Kim K A, Park Y G, Seong I W, Kim M J, Lee Y J. Identification and partial characterization of a novel hemolysin from *Leptospira interrogans* serovar lai. Gene. 2000; 254:19–28.
67. Yam P A, Miller N G, White R J. A leptospiral factor producing a cytopathic effect on L cells. J Infect Dis. 1970; 122:310–317.

68. Vinh T, Adler B, Faine S. Glycolipoprotein cytotoxin from *Leptospira interrogans* serovar copenhageni. *J Gen Microbiol.* 1986;132:111–123.
69. Burth P, Younes-Ibrahim M, Gonçalez F H F S, Costa E R, Castro Faria M V. Purification and characterization of a Na⁺, K⁺ ATPase inhibitor found in an endotoxin of *Leptospira interrogans*. *Infect Immun.* 1997; 65:157–1560.
70. Ballard S A, Williamson M, Adler B, Vinh T, Faine S. Interactions of virulent and avirulent leptospires with primary cultures of renal epithelial cells. *J Med Microbiol.* 1986;21:59–67.
71. Isogai E, Hirose K, Kimura K, Hayashi S, Kubota T, Fujii N, Isogai H. Role of platelet-activating-factor (PAF) on cellular responses after stimulation with leptospire lipopolysaccharide. *Microbiol Immunol.* 1997; 41:271–275.
72. Dobrina A, Nardon E, Vecile E, Cinco M, Patriarca P. *Leptospira icterohemorrhagiae* and leptospire peptidoglycans induce endothelial cell adhesiveness for polymorphonuclear leukocytes. *Infect Immun.* 1995; 63:2995–2999.
73. Galli M, Esposito R, Crocchiolo P, Chemotti M, Gasparro M, Dall'Aglio P P. Immune complexes in leptospirosis. *Infection.* 1985; 13:156.
74. Yasuda P H, Hoshino-Shimizu S, Yamashiro E H, de Brito T. Experimental leptospirosis (*L. interrogans* serovar icterohaemorrhagiae) of the guinea pig: leptospiral antigen, gamma globulin and complement C3 detection in the kidney. *Exp Pathol.* 1986; 29:35–43.
75. Yasuda P H, Hoshino-Shimizu S, Yamashiro E H, de Brito T. Experimental leptospirosis (*L. interrogans* serovar icterohaemorrhagiae) of the guinea pig: leptospiral antigen, gamma globulin and complement C3 detection in the kidney. *Exp Pathol.* 1986; 29:35–43.
76. Abdulkader R, Sabbaga E, Meireles L, Radu A. Vascular injury in acute renal failure due to leptospirosis is not associated with antineutrophil cytoplasmic antibody. *Nephron.* 1993; 65:156.
77. Merien F, Baranton G, Perolat P. Invasion of Vero cells and induction of apoptosis in macrophages by pathogenic *Leptospira interrogans* are correlated with virulence. *Infect Immun.* 1997; 65:729–738.
78. Estavoyer J M, Racadot E, Couetdic G, Leroy J, Grosperin L. Tumor necrosis factor in patients with leptospirosis. *Rev Infect Dis.* 1991; 13:1245–1246.
79. Haake D A, Walker E M, Blanco D R, Bolin C A, Miller M N, Lovett M A. Changes in the surface of *Leptospira interrogans* serovar grippotyphosa during in vitro cultivation. *Infect Immun.* 1991; 59:1131–1140.

80. Barnett J K, Barnett D, Bolin C A, Summers T A, Wagar E A, Cheville N F, Hartskeerl R A, Haake D A. Expression and distribution of leptospiral outer membrane components during renal infection of hamsters. *Infect Immun.* 1999; 67:853–861.
81. Haake D A, Chao G, Zuerner R L, Barnett J K, Barnett D, Mazel M, Matsunaga J, Levett P N, Bolin C A. The leptospiral major outer membrane protein LipL32 is a lipoprotein expressed during mammalian infection. *Infect Immun.* 2000; 68:2276–2285.
82. Woodward T. Symposium on the leptospiroses. U.S. Washington, D.C.: Government Printing Office; 1953. The protean manifestations of leptospirosis; pp. 57–68.
83. van Thiel P H. The leptospiroses. Leiden, The Netherlands: University of Leiden; 1948
84. Feigin R D, Anderson D C. Human leptospirosis. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1975; 5:413–467.
85. Levett P N. Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev.* 2001 Apr; 14 (2):296-326.
86. Kelley P W. Leptospirosis. In: Gorbach S L, Bartlett J G, Blacklow N R, editors. *Infectious diseases.* 2nd ed. Philadelphia, Pa: W. B. Saunders; 1998. pp. 1580–1587.102
87. Turner L H. Leptospirosis II. Serology. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1968; 62:880–889.
88. Alexander A D, Benenson A S, Byrne R J, Díaz-Rivera R S, Evans L B, Gochenour W S, Hall H E, Hightower J A, Jeffries H, de Jesús J, Martínez E, Paniagua M, Pons J A, Ramos-Morales F, Rodríguez-Molina R, Swisher K Y, Woodward T E, Yager R H. Leptospirosis in Puerto Rico. *Zoonoses Res.* 1963; 2:152–227.
89. King S D, Urquhart A E. Laboratory investigation on four cases of leptospiral meningitis in Jamaica. *West Indian Med J.* 1975; 24:196–201.
90. Edwards G A, Domm B M. Human leptospirosis. *Medicine (Baltimore).* 1960 Feb; 39:117-56.
91. Hudson C P, Levett P N, Edwards C N, Moosai R, Roach T C. Severe primary HIV-1 infection among black persons in Barbados. *Int J STD AIDS.* 1997; 8:393–397. [PubMed]
92. Levett P N, Branch S L, Edwards C N. Detection of dengue infection in patients investigated for leptospirosis in Barbados. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62:112–114.
93. Antoniadis A, Alexiou-Daniel S, Fidani L, Bautz E F K. Comparison of the clinical and serologic diagnosis of haemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) and leptospirosis. *Eur J Epidemiol.* 1995; 11:91–92.
94. Heron L G, Reiss-Levy E A, Jacques T C, Dickeson D J, Smythe L D, Sorrell T C. Leptospirosis presenting as a haemorrhagic fever in a traveller from Africa. *Med J Aust.* 1997; 167:477–479.

95. Heath C W, Alexander A D, Galton M M. Leptospirosis in the United States: 1949–1961. *N Engl J Med.* 1965; 273:857–864. 915–922.
96. Edwards C N, Nicholson G D, Hassell T A, Everard C O R, Callender J. Leptospirosis in Barbados: a clinical study. *West Indian Med J.* 1990; 39:27–34.
97. Winearls CG, Chan L, Coghlan JD, Ledingham JG, Oliver DO. Acute renal failure due to leptospirosis: clinical features and outcome in six cases. *Q J Med.* 1984 Autumn;53(212):487-95.
98. Daher E, Zanetta DM, Cavalcante MB, Abdulkader RC. Risk factors for death and changing patterns in leptospirosis acute renal failure. *Am J Trop Med Hyg.* 1999 Oct;61(4):630-4.
99. STOLZE E, SCHAAD JD, BOOL PH. Weil's disease associated with pancreatic necrosis; report on a case. *Trop Geogr Med.* 1959 Mar;11(1):93-5.
100. Edwards CN, Nicholson GD, Hassell TA, Everard CO, Callender J. Thrombocytopenia in leptospirosis: the absence of evidence for disseminated intravascular coagulation. *Am J Trop Med Hyg.* 1986 Mar;35(2):352-4.
101. Yersin C, Bovet P, Mérien F, Clément J, Laille M, Van Ranst M, Perolat P. Pulmonary haemorrhage as a predominant cause of death in leptospirosis in Seychelles. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2000; 94:71–76.
102. Sodeman W, Killough J. The cardiac manifestations of Weil's disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1951 Jul;31(4):479-88.
103. Parsons M. Electrocardiographic Changes in Leptospirosis. *Br Med J.* 1965 Jul 24;2(5455):201-3.
104. Dupont H, Dupont-Perdrizet D, Perie JL, Zehner-Hansen S, Jarrige B, Daijardin JB. Leptospirosis: prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis.* 1997.Sep;25(3):720-4.
105. Martins M G, Matos K T, da Silva M V, de Abreu M T. Ocular manifestations in the acute phase of leptospirosis. *Ocul Immunol Inflamm.* 1998; 6:75–79.
106. Faine S, Adler B, Christopher W, Valentine R. Fatal congenital human leptospirosis. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A.* 1984 Sep;257(4):548.
107. Bolin CA, Koellner P. Human-to-human transmission of *Leptospira interrogans* by milk. *J Infect Dis.* 1988 Jul;158(1):246-7.
108. Lessa I, Cortes E. Cerebrovascular accident as a complication of leptospirosis. *Lancet.* 1981 Nov 14;2(8255):1113.

109. Solbrig M V, Sher J H, Kula R W. Rhabdomyolysis in leptospirosis (Weil's disease) J Infect Dis. 1987;156:692–693.
110. Laing R W, Teh C, Toh C H. Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) complicating leptospirosis: a previously undescribed phenomenon. J Clin Pathol. 1990; 43:961–962.
111. Derham RL, Owens GG, Wooldridge MA. Leptospirosis as a cause of erythema nodosum. Br Med J. 1976 Aug 14;2(6032):403-4.
112. Butler CS, Endara SA. Leptospirosis complicated by severe aortic stenosis. Anaesth Intensive Care. 2000 Aug;28(4):434-7.
113. Hoghton M A R, Proce P A. Leptospirosis hardjo epididymitis. BMJ. 1986; 292:174
114. Sharma OP, Eltahir N, Roy M. Facial palsy in a patient with leptospirosis: causal or accidental. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 1999 Mar;16(1):104-6.
115. Panidis D, Rousso D, Skiadopoulos S, Vavilis D, Kalogeropoulos A. Hypothalamic-pituitary deficiency after Weil's syndrome: a case report. Fertil Steril. 1994; 62:1077–1079.
116. Morgan AG, Cawich F. Ascending polyneuropathy in leptospirosis--a case study. Ann Trop Med Parasitol. 1980 Oct;74(5):567-8.
117. Nicolescu M, Andreescu N. May human leptospirosis develop as a chronic infection? Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A. 1984 Sep;257(4):531-4.
118. Murgatroyd F. Chronic meningitis in Weil's disease. BMJ 11937711
119. Faine S. Leptospira and leptospirosis. 1994 CRC Press Boca Raton, Fla
120. Edwards GA, Domm BM. Leptospirosis. II. Med Times. 1966 Sep;94(9):1086-95.
121. Beeson P B, Hankey D D. Leptospiral meningitis. Arch Intern Med. 1952; 89:575–583
122. Edwards C N, Nicholson G D, Everard C O R. Thrombocytopenia in leptospirosis. Am J Trop Med Hyg. 1982; 31:827–829.
123. Johnson W D, Silva I C, Rocha H. Serum creatinine phosphokinase in leptospirosis. JAMA. 1975; 233:981–982.
124. Turner LH. Leptospirosis. 3. Maintenance, isolation and demonstration of leptospire. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1970;64(4):623-46.
125. Wolff JW. The Laboratory Diagnosis of Leptospirosis. The Laboratory Diagnosis of Leptospirosis. 1954.
126. Alston J. M. and Broom J. C. Leptospirosis in man and animals. E. & S. 1958. Livingstone. Edinburgh, U.K

127. Hodges R T, Ekdahl M O. Use of a fluorescent antibody technique for the serological differentiation of leptospiral serotypes in cultures and in bovine urine. *N Z Vet J.* 1973; 21:109–115.
128. Henry R A, Johnson R C, Bohlool B B, Schmidt E L. Detection of *Leptospira* in soil and water by immunofluorescence staining. *Appl Microbiol.* 1971; 21:953–956.
129. Terpstra W J, Jabboury-Postema J, Korver H. Immunoperoxidase staining of leptospire in blood and urine. *Zentbl Bakteriolog.* 1983; 254:534–539.
130. Stimson A M. Note on an organism found in yellow-fever tissue. *Public Health Rep.* 1907; 22:541.
131. Ellis W A, O'Brien J J, Neill S D, Ferguson H W, Hanna J. Bovine leptospirosis: microbiological and serological findings in aborted fetuses. *Vet Rec.* 1982; 110:147–150.
132. Zaki S R, Spiegel R A. Leptospirosis. In: Nelson A M, Horsburgh C R, editors. *Pathology of emerging infections 2.* Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1998. pp. 73–92.
133. Ellinghausen H C, McCullough W G. Nutrition of *Leptospira pomona* and growth of 13 other serotypes: fractionation of oleic albumin complex and a medium of bovine albumin and polysorbate 80. *Am J Vet Res.* 1965; 26:45–51.
134. Johnson R C, Walby J, Henry R A, Auran N E. Cultivation of parasitic leptospire: effect of pyruvate. *Appl Microbiol.* 1973 Jul;26(1):118-9.
135. Johnson R C, Rogers P. 5-Fluorouracil as a selective agent for growth of leptospire. *J Bacteriol.* 1964; 87:422–426.
136. Faine S., Adler B., Bolin C., and Perolat P. *Leptospira and leptospirosis* 2nd ed. 1999. MedSciMelbourne, Australia
137. Dinger J E. Duurzaamheid der smetkracht van leptospirenkweeken. *Ned Tijdschr Geneesk.* 1932; 72:1511–1519.
138. Palit A, Haylock L M, Cox J C. Storage of pathogenic leptospire in liquid nitrogen. *J Appl Bacteriol.* 1986; 61:407–411.
139. Thiermann A B. Use of solid medium for isolation of leptospire of the hebdomadis serogroup from bovine milk and urine. *Am J Vet Res.* 1981; 42:2143–2145.
140. Stamm L V, Charon N W. Plate assay for detection of *Leptospira interrogans* serovar pomona hemolysin. *J Clin Microbiol.* 1979; 10:590–592.

141. McCrumb F R, Stockard J L, Robinson C R, Turner L H, Levis D G, Maisey C W, Kelleher M F, Gleiser C A, Smadel J E. Leptospirosis in Malaya. I. Sporadic cases among military and civilian personnel. *Am J Trop Med Hyg.* 1957; 6:238–256.
142. Jeandel P, Raoult D, Rougier Y, Auger C, Mailloux M. Late positive blood cultures in leptospiroses (report of four cases). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1984;78(2):143-5.
143. Bal AE, Gravekamp C, Hartskeerl RA, De Meza-Brewster J, Korver H, Terpstra WJ. Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 1994 Aug;32(8):1894-8.
144. Dikken H. and Kmety E. Serological typing methods of leptospires *Methods in Microbiology.* Bergan T. and Norris J. R. 111978259307 Academic Press London, U.K
145. Kobayashi, Y., Tamai, T. and Sada, E. Serological Analysis of Serogroup Icterohaemorrhagiae Using Monoclonal Antibodies. *Microbiology and Immunology* 1985, 29: 1229-1235.
146. Pérolat P, Grimont F, Regnault B, Grimont P A D, Fournié E, Thevenet H, Baranton G. rRNA gene restriction patterns of *Leptospira*: a molecular typing system. *Res Microbiol.* 1990; 141:159–171.
147. Alexander A D, Rule P L. Penicillins, cephalosporins, and tetracyclines in treatment of hamsters with fatal leptospirosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1986; 30:835–839.
148. Takashima I, Ngoma M, Hashimoto N. Antimicrobial effects of a new carboxyquinolone drug, Q-35, on five serogroups of *Leptospira* interroagns. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37:901–902.
149. Oie S, Hironaga K, Koshiro A, Konishi H, Yoshii Z. In vitro susceptibilities of five *Leptospira* strains to 16 antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1983; 24:905–908.
150. Martin L, Pettit A. Séro-diagnostic de la spirochète ictérohémmorragique. 1918.
151. Adler B, Chappel R J, Faine S. The sensitivities of different immunoassays for detecting leptospiral antigen. *Zentbl Bakteriol.* 1982; 252:405–413.
152. Palmer M, Hookey J. The chemiluminescent detection of leptospiral antigen. *Zentbl Bakteriol.* 1992; 277:300–308.
153. Kaufmann A F, Weyant R S. Leptospiraceae. In: Murray P R, et al., editors. *Manual of clinical microbiology.* 6th ed. Washington, D.C.: ASM Press; 1995. pp. 621–625.
154. Turner, L. H. 1968. Leptospirosis II. Serology. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 62:880–889.

155. Pike RM. Laboratory-associated infections: summary and analysis of 3921 cases. *Health Lab Sci.* 1976 Apr;13(2):105-14.
156. Torten, M., E. Shenberg, and J. van der Hoeden. 1966. The use of immunofluorescence in the diagnosis of human leptospirosis by a genus-specific antigen. *J. Infect. Dis.* 116:537–543.
157. Tan, D. S. K., and Q. B. Welch. 1974. Evaluation of *Leptospira biflexa* antigens for screening human sera by the microscopic agglutination (MA) test in comparison with the sensitized-erythrocyte-lysis (SEL) test. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 5:12–16.
158. Katz A R, Manea S J, Sasaki D M. Leptospirosis on Kauai: investigation of a common source waterborne outbreak. *Am J Public Health.* 1991; 81:1310–1312.
159. Faine S. Guidelines for the control of leptospirosis. 1982. World Health Organization Geneva, Switzerland
160. Tjalma, R. A., and M. M. Galton. Human leptospirosis in Iowa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1965. 14:387–396.
161. Tong, M. J., E. B. Rosenberg, B. A. Votteri, and C.-C. Tsai. Immunological response in leptospirosis. Report of three cases. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1971. 20:625–630
162. Lin M, Surujballi O, Nielsen K, Nadin-Davis S, Randall G. Identification of a 35-kilodalton serovar-cross-reactive flagellar protein, FlaB, from *Leptospira interrogans* by N-terminal sequencing, gene cloning, and sequence analysis. *Infect Immun.* 1997; 65:4355–4359.
163. Cumberland P C, Everard C O R, Levett P N. Assessment of the efficacy of the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 61:731–734.
164. Centers for Disease Control and Prevention. Case definitions for infectious conditions under public health surveillance. *Morb Mortal Wkly Rep.* 1997; 46(RR-10):49.
165. Faine S. Leptospirosis. In: Balows A, Hausler W J, Ohashi M, Turano A, editors. *Laboratory diagnosis of infectious diseases: principles and practice.* Vol. 1. New York, N.Y: Springer-Verlag; 1988. pp. 344–352
166. Lupidi R, Cinco M, Balanzin D, Delprete E, Varaldo P E. Serological follow-up of patients in a localized outbreak of leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 1991; 29:805–809.
167. Terpstra W J, Ligthart G S, Schoone G J. ELISA for the detection of specific IgM and IgG in human leptospirosis. *J Gen Microbiol.* 1985; 131:377–385.

168. Levett P N, Whittington C U. Evaluation of the indirect hemagglutination assay for diagnosis of acute leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 1998; 36:11–14
169. Winslow W E, Merry D J, Pirc M L, Devine P L. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M antibody in diagnosis of human leptospiral infection. *J Clin Microbiol.* 1997; 35:1938–1942.
170. Camargo E D, Silva M V, Vaz A J, Batista L, Brandão A P, Ferreira A W, Romero E C, Barbosa P R S. ELISA-IgM applied to cerebrospinal fluid in human leptospirosis. *Serodiagn Immunother Infect Dis.* 1995; 7:19–22
171. Silva M V, Nakamura P M, Camargo E D, Batista L, Vaz A J, Romero E C, Brandão A P. Immunodiagnosis of human leptospirosis by dot-ELISA for the detection of IgM, IgG, and IgA antibodies. *Am J Trop Med Hyg.* 1997; 56:650–655.
172. Silva MV, Camargo ED, Batista L, Vaz AJ, Ferreira AW, Barbosa PR. Application of anti-leptospira ELISA-IgM for the etiologic elucidation of meningitis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1996;38(2):153-156.
173. Levett PN, Branch SL, Whittington CU, Edwards CN, Paxton H. Two methods for rapid serological diagnosis of acute leptospirosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(2):349-351.
174. Petchclai B, Hiranras S, Potha U. Gold immunoblot analysis of IgM-specific antibody in the diagnosis of human leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1991;45(6):672-675.
175. Galton M, Powers D, Hall A, Cornell R. A rapid macroscopicslide screening test for the serodiagnosis of leptospirosis. *Am J Vet Res.* 1958;19(71):505-512.
176. Levett PN, Whittington CU. Evaluation of the indirect hemagglutination assay for diagnosis of acute leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 1998;36(1):11-14.
177. Sulzer C R, Glosser J W, Rogers F, Jones W L, Frix M. Evaluation of an indirect hemagglutination test for the diagnosis of human leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 1975; 2:218–221.
178. Seki M, Sato T, Arimitsu Y, Matuhasi T, Kobayashi S. One-point method for serological diagnosis of leptospirosis: a microcapsule agglutination test. *Epidemiol Infect.* 1987; 99:399–405.
179. Cui J J, Xiao G X, Chen T Z, Zhu G F, Sato T, Seki M, Kobayahsi S, Arimitsu Y. Further evaluation of one-point microcapsule agglutination test for diagnosis of leptospirosis. *Epidemiol Infect.* 1991; 106:561–565.
180. Torten, M., E. Shenberg, and J. van der Hoeden.. The use of immunofluorescence in the diagnosis of human leptospirosis by a genus-specific antigen. *J. Infect. Dis.* 1966. 116:537–543.

181. Kawaoka Y, Naiki M, Yanagawa R. Radioimmunoassay system using a serovar-specific lipopolysaccharide antigen of *Leptospira*. *J Clin Microbiol.* 1979;10:313–316.
182. Yasuda P H, Sakata E E, Shikanai-Yasuda M A, Vasconcelos S d A, Romero E C, da Silva M V, Carrasco S. Evaluation of counterimmunoelectrophoresis with antigens of icterohaemorrhagiae and patoc serovars in the serodiagnosis of human leptospirosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1991;33:497–502.
183. Banfi E, Cinco M, Delia S, Castagnari L, Vullo V, Mastroianni C M, Contini C. New trends in the rapid serodiagnosis of leptospirosis. *Zentbl Bakteriol.* 1984;257:503–507.
184. Paster B J, Dewhirst F E, Weisburg W G, Tordoff L A, Fraser G J, Hespell R B, Stanton T B, Zablen L, Mandelco L, Woese C R. Phylogenetic analysis of the spirochetes. *J Bacteriol.* 1991;173:6101–6109.
185. Baril C, Saint Girons I. Sizing of the *Leptospira* genome by pulsed-field agarose gel electrophoresis. *FEMS Microbiol Lett.* 1990; 71:95–100.
186. Zuerner R L. Physical map of the chromosomal and plasmid DNA comprising the genome of *Leptospira interrogans*. *Nucleic Acids Res.* 1991; 19:4857–4860.
187. Collares-Pereira M, Cristino J A G M, Pereira A T. Plasmid analysis of *Leptospira*. In: Kobayashi Y, editor. *Leptospirosis. Proceedings of the Leptospirosis Research Conference 1990.* Tokyo, Japan: University of Tokyo Press; 1991. pp. 462–473.
188. Boursaux-Eude C, Saint Girons I, Zuerner R L. *Leptospira* genomics. *Electrophoresis.* 1998; 19:589–592.
189. Takahashi Y, Akase K, Hirano H, Fukunaga M. Physical and genetic maps of the *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae strain Ictero no. 1 chromosome and sequencing of a 19-kb region of the genome containing the 5S rRNA gene. *Gene.* 1998; 215:37–45.
190. Fukunaga M, Mifuchi I. The number of large ribosomal RNA genes in *Leptospira interrogans* and *Leptospira biflexa*. *Microbiol Immunol.* 1989; 33:459–466.
191. Saint Girons I, Bourhy P, Ottone C, Picardeau M, Yelton D, Hendrix R W, Glaser P, Charon N. The LE1 bacteriophage replicates as a plasmid within *Leptospira biflexa*: construction of an *L. biflexa*-*Escherichia coli* shuttle vector. *J Bacteriol.* 2000; 182:5700–5705.
192. Kalambaheti T, Bulach D M, Rajakumar K, Adler B. Genetic organization of the lipopolysaccharide O-antigen biosynthetic locus of *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjobovis. *Microb Pathog.* 1999; 27:105–117.

193. Millar BD, Chappel RJ, Adler B. Detection of leptospire in biological fluids using DNA hybridisation. *Vet Microbiol.* 1987;15(1-2):71-78.
194. Terpstra WJ, Schoone GJ, Ligthart GS, ter Schegget J. Detection of *Leptospira interrogans* in clinical specimens by in situ hybridization using biotin-labelled DNA probes. *J Gen Microbiol.* 1987;133(4):911-914.143.
195. da Silva M V, Batista L, Camargo E D, Leitao P A, Szalkay V G, Rosenthal C, Vaz A J, de Souza A M. Leptospirosis in patients with anti-HIV antibodies: report of 2 cases. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1990; 23:229–231
196. Renesto P, Lorvellec-Guillon K, Drancourt M, Raoult D. rpoB gene analysis as a novel strategy for identification of spirochetes from the genera *Borrelia*, *Treponema*, and *Leptospira* [*J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2200-2203.
197. Merien F, Amouriauz P, Perolat P, Baranton G, Saint Girons I. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 1992; 30:2219–2224.
198. Brown PD, Gravekamp C, Carrington DG, et al. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of leptospirosis. *J Med Microbiol.* 1995;43(2):110-114.
199. Murgia R, Riquelme N, Baranton G, Cinco M. Oligonucleotides specific for pathogenic and saprophytic leptospira occurring in water. *FEMS Microbiol Lett.* 1997; 148:27–34.
200. Woo T H S, Patel B K C, Smythe L D, Norris M A, Symonds M L, Dohnt M F. Identification of pathogenic *Leptospira* by TaqMan probe in a lightcycler. *Anal Biochem.* 1998; 256:132–134.
201. Terpstra W J. Typing leptospira from the perspective of a reference laboratory. *Acta Leidensia.* 1992; 60:79–87.
202. Robinson A J, Ramadass P, Lee A, Marshall R B. Differentiation of subtypes within *Leptospira interrogans* serovars hardjo, balcanica and tarassovi, by bacterial restriction-endonuclease DNA analysis (BRENDA) *J Med Microbiol.* 1982; 15:331–338.
203. Hookey J V, Palmer M F. A comparative investigation and identification of *Leptospira interrogans* serogroup icterohaemorrhagiae strains by monoclonal antibody and DNA fingerprint analysis. *Zentbl Bakteriolog.* 1991; 275:185–199.
204. Herrmann JL. Genomic techniques for identification of *Leptospira* strains. *Pathol Biol (Paris).* 1993;41(10):943-950.
205. Grell G, Ho-Ping-Kong H, Ragbeer M M S, Barrow O, Ward E E, Alleyne G A O. Peritoneal dialysis in severe leptospiral renal failure. *West Indian Med J.* 1971; 20:76–82.

206. Dupont H, Dupont-Perdrizet D, Perie J L, Zehner-Hansen S, Jarrige B, Daijardin J B. Leptospirosis: prognostic factors associated with mortality. *Clin Infect Dis.* 1997; 25:720–724.
207. Russell R W R. Treatment of leptospirosis with oxytetracycline. *Lancet.* 1958; ii:1143–1145.
208. McClain J B L, Ballou W R, Harrison S M, Steinweg D L. Doxycycline therapy for leptospirosis. *Ann Intern Med.* 1984; 100:696–698.
209. Watt G, Padre L P, Tuazon M L, Calubaquib C, Santiago E, Ranoa C P, Laughlin L W. Placebo-controlled trial of intravenous penicillin for severe and late leptospirosis. *Lancet.* 1988; i:433–435.
210. Edwards C N, Nicholson G D, Hassell T A, Everard C O R, Callender J. Penicillin therapy in icteric leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg.* 1988; 39:388–390.
211. Emmanouilides C E, Kohn O F, Garibaldi R. Leptospirosis complicated by a Jarisch-Herxheimer reaction and adult respiratory distress syndrome: case report. *Clin Infect Dis.* 1994; 18:1004–1006.
212. Sehgal S C, Sugunan A P, Murhekar M V, Sharma S, Vijayachari P. Randomized controlled trial of doxycycline prophylaxis against leptospirosis in an endemic area. *Int J Antimicrob Agents.* 2000; 13:249–255.
213. Gilks C F, Lambert H P, Broughton E S, Baker C C. Failure of penicillin prophylaxis in laboratory acquired leptospirosis. *Postgrad Med J.* 1988; 64:236–238.
214. Guidugli F, Castro A A, Atallah A N. Antibiotics for preventing leptospirosis (Cochrane Review), Cochrane Library, issue 4. Oxford, U.K: Update Software; 2000.
215. Guerrant RL, Walker DH, Weller PF. *Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice*, 3rd Edition. *Annals of Pharmacotherapy.* 2011;45(11):1459-1460.
216. Bauerfeind, R., Von Graevenitz, A., Kimmig, P., Schiefer, H. G. 1., Schwarz, T. F., Slenczka, W., & Zahner, H. *Zoonoses: infectious diseases transmissible between animals and humans.* 2016. 2.12:216-219.
217. Jost B H, Adler B, Vinh T, Faine S. A monoclonal antibody reacting with a determinant on leptospiral lipopolysaccharide protects guinea pigs against leptospirosis. *J Med Microbiol.* 1986; 22:269–275
218. Adler B, Faine S. The antibodies involved in the human immune response to leptospiral infection. *J Med Microbiol.* 1978;11(4):387-400.

219. Faine S, Adler B, Palit A. Chemical, serological and biological properties of a serotype-specific polysaccharide antigen in *Leptospira*. *Aust J Exp Biol Med Sci*. 1974; 52:311–319.
220. Faine S, Adler B, Ruta G. A mechanism of immunity to leptospirosis. *Aust J Exp Biol Med Sci*. 1974; 52:301–310.
221. Kida H, Watanabe H, Yamamoto S, Yanagawa R. Immunological and morphological analysis of sodium dodecyl sulfate extract of *Leptospira*. *Zentbl Bakteriolog*. 1976; 236:328–335.
222. Midwinter A, Vinh T, Faine S, Adler B. Characterization of an antigenic oligosaccharide from *Leptospira interrogans* serovar pomona and its role in immunity. *Infect Immun*. 1994; 62:5477–5482.
223. Myers D M, Coltorti E A. Broadly reacting precipitating and agglutinating antigen of leptospirae. *J Clin Microbiol*. 1978; 8:580–590.
224. Haake D A, Mazel M K, McCoy A M, Milward F, Chao G, Matsunaga J, Wagar E A. Leptospiral outer membrane proteins OmpL1 and LipL41 exhibit synergistic immunoprotection. *Infect Immun*. 1999; 67:6572–6582.
225. Ratnam S, Sundararaj T, Subramanian S, Madanagopalan N, Jayanthi V. Humoral and cell-mediated immune responses to leptospirae in different human cases. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1984; 78:539–542.
226. Yamashiro-Kanashiro, E. H., G. Benard, M. N. Sato, A. C. Seguro, and A. J. S. Duarte. 1991. Cellular immune response analysis of patients with leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 45:138–145.
227. Neves E d S, Pereira M M, Galhardo M C, Caroli A, Andrade J, Morgado M G, Mendes R P. Leptospirosis patient with AIDS: the first case reported. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1994; 27:39–42.
228. Christopher W L, Adler B, Faine S. Immunogenicity of leptospiral vaccines grown in protein-free medium. *J Med Microbiol*. 1982; 15:493–501.
229. Chen T. Development and present status of leptospiral vaccine and technology of vaccine production in China. *Jpn J Bacteriol*. 1985; 40:755–762.
230. Martinez Sanchez R, Obregon Fuentes A M, Perez Sierra A, Baly Gil A, Diaz Gonzalez M, Baro Suarez M, Menendez Capote R, Ruiz Perez A, Sierra Gonzalez G, Lopez Chavez A U. The reactogenicity and immunogenicity of the first Cuban vaccine against human leptospirosis. *Rev Cuba Med Trop*. 1998; 50:159–166.

231. Musso D, La Scola B. Laboratory diagnosis of leptospirosis: A challenge. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2013; 46: 245-252).
232. National Institute of Communicable Diseases, Zoonoses Division. *Zoonotic Diseases of Public Health importance*, 2005.
233. Patil DY, Dahake RV, Chowdhary AS, Deshmukh RA. Clinico-epidemiological observations of human leptospirosis from Mumbai, India. *J Infect Public Health*. 2017;10(2):247-248.
234. Deodhar D, John M. Leptospirosis: experience at a tertiary care hospital in northern India. *Natl Med J India*. 2011;24(2):78-80.
235. Cumberland P, Everard COR, and Levett PN. Assessment of the efficacy of an IgM-ELISA and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61:731–734.
236. Rosa MI, Reis MFD, Simon C, et al. IgM ELISA for leptospirosis diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Cien Saude Colet*. 2017;22(12):4001-4012.
237. Levett PN, Branch SL, Whittington CU, Edwards CN, Paxton H. Two methods for rapid serological diagnosis of acute leptospirosis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2001;8(2):349-351.
238. Niloofa R, Fernando N, de Silva NL, et al. Diagnosis of Leptospirosis: Comparison between Microscopic Agglutination Test, IgM-ELISA and IgM Rapid Immunochromatography Test. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129236.
239. Manciu, Doina Carmen et al. Risks of leptospirosis linked to living and working environments. *Environm. Eng. and Manage. Jour.*.2018.17: 749-753.
240. Diz FA, Conceição GMS. Human leptospirosis in the municipality of São Paulo, SP, Brazil: distribution and trend according to sociodemographic factors, 2007-2016. *Rev Bras Epidemiol*. 2021;24:e210034.
241. Ramesh, H., Dias, A., & Dias, M. (). A clinicoepidemiological analysis of seropositive cases of leptospirosis in a tertiary care hospital in Mangalore. *Tropical Journal of Medical Research*. 2015;18(2), 100.
242. Rafizah AA, Aziah BD, Azwany YN, et al. A hospital-based study on seroprevalence of leptospirosis among febrile cases in northeastern Malaysia. *Int J Infect Dis*. 2013;17(6):e394-e397.
243. Becirovic A, Numanovic F, Dzafic F, Piljic D. Analysis of Clinical and Laboratory Characteristics of Patients with Leptospirosis in Five-year Period. *Mater Sociomed*. 2020;32(1):15-19.

244. Forbes AE, Zochowski WJ, Dubrey SW, Sivaprakasam V. Leptospirosis and Weil's disease in the UK. QJM. 2012;105(12):1151-62.
245. Guerra MA. Leptospirosis. J Am Vet Med Assoc. 2009; 234:472–8, 430.
246. US Bureau of Labor Statistics. Household data annual averages 2010 April 1, 2011 [cited 2011 Aug 30]. Employed persons by detailed industry, sex, race, and Hispanic or Latino ethnicity. <http://www.bls.gov/cps/cpsaat18.pdf>.
247. Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 2001;14:296–326.
248. Vitale M, Agnello S, Chetta M, Amato B, Vitale G, Bella CD, et al. Human leptospirosis cases in Palermo Italy. The role of rodents and climate. J Infect Public Health 2018;11(2):209–14.
249. Alian, Shahriar et al. “Clinical and laboratory manifestation and outcome of icterohemorrhagic leptospirosis patients in Northern Iran.” Medical journal of the Islamic Republic of Iran vol. 29 308. 15 Dec. 2015
250. Panagopoulos P, Ganitis A, Papanas N, Iosifidou G, Maltsan T, Kioutsouk S, et al. Leptospirosis: a report on a series of five autochthonous cases in a Greek region. J Chemother 2016;28(5):428–31.
251. Dupouey J, Faucher B, Edouard S, Richet H, de Broucker C-A, Marié J-L, et al. Epidemiological investigation of a human leptospirosis case reported in a suburban area near Marseille. New Microbes New Infect 2014;2(3):82–3.
252. Notobroto, H.B., Mirasa, Y.A., & Rahman, F.S. (). Sociodemographic, behavioral, and environmental factors associated with the incidence of leptospirosis in highlands of Ponorogo Regency, Province of East Java, Indonesia. Clinical Epidemiology and Global Health. 2021.
253. Dias, J.P., Teixeira, M.G., Costa, M.C., et.al. Factors Associated with Leptospira sp Infection in a Large Urban Center in Northeastern Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2007; 40: 499-504.
254. Chan, O.Y., Chia, S.E., Nadarajah, N. and Sng, E.H. (1987) Leptospirosis Risk in Public Cleansing and Sewer Workers. Annals Academy of Medicine Singapore, 16, 586-590.
255. Katz, A.R., Buchholz, A.E., Hinson, K., Park, S.Y. and Effler, P.V. (2012) Leptospirosis in Hawaii, USA, 1999-2008. Emerging Infectious Diseases, 17, 221-226.
256. Wsiński, B., Dutkiewicz, J. Leptospirosis – current risk factors connected with human activity and the environment. Ann Agric Environ Med. . (2013), 20(2), 239-244.

257. Johnson, M.A., Smith, H., Joeph, P., Gilman, R.H., Bautista, C.T., et.al. Environmental Exposure and Leptospirosis, Peru. *Emerging Infectious Diseases*. 2004; 10: 1016-1022.
258. Dastis-Bendala C, Ernesto de Villar-Conde E, Marin-Leone I. Prospective serological study of leptospirosis in Southern Spain. *European Journal of Epidemiology*. 1996; 12: 257–262.
259. Mwachui MA, Crump L, Hartskeerl R, Zinsstag J, Hattendorf J (2015) Environmental and Behavioural Determinants of Leptospirosis Transmission: A Systematic Review. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 9(9): e0003843.
260. Tangkanakul, W. et al. Risk factors associated with leptospirosis in northeastern Thailand, 1998. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 63, 204–208.
261. Leal-Castellanos, C. B., Garcia-Suarez, R., Gonzalez-Figueroa, E., Fuentes-Allen, J. L. & Escobedo-de la Penal, J. Risk factors and the prevalence of leptospirosis infection in a rural community of Chiapas, Mexico. *Epidemiol. Infect.* 131, 1149–1156.
262. Wasinski, B. & Dutkiewicz, J. Leptospirosis—current risk factors connected with human activity and the environment. *Ann. Agric. Environ. Med.* 20, 239–244 (2013).
263. Reis, R. B. et al. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2, e228.
264. Narkkul, U, Thaipadungpanit, J, Srisawat, N, et al. Human, animal, water source interactions and leptospirosis in Thailand. *Sci Rep.* 2021;11: 3215.
265. Kurilung, A. et al. Molecular detection and isolation of pathogenic *Leptospira* from asymptomatic humans, domestic animals and water sources in Nan province, a rural area of Thailand. *Res. Vet. Sci.* 115, 146–154.
266. Chadsuthi, S. et al. Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010–2015. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11, e0005228.
267. Dounghawee, G. et al. Survey of leptospirosis of small mammals in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* 36).
268. Mirasa Y.A, Yudhastuti R, WahyuniCh.U, Adi M.S. Study of Risk Factor and Epidemiology Surveillance System of Leptospirosis Dama International Journal of Researchers (DIJR). 2017. Vol 2, Issue 7. Pages 12 - 23, ISSN: 2343-6743, ISI Impact Factor: 1.018.
269. Ciceroni, L., Stepan, E., Pinto, A. et al. Epidemiological trend of human leptospirosis in Italy between 1994 and 1996. *Eur J Epidemiol.* 2000; 16: 79–86.

270. Lau CL, Watson CH, Lowry JH, David MC, Craig SB, Wynwood SJ, Kama M, Nilles EJ. Human Leptospirosis Infection in Fiji: An Eco-epidemiological Approach to Identifying Risk Factors and Environmental Drivers for Transmission. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Jan 28;10.
271. Terpstra WJ. International leptospirosis Society. Human Leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. World Health Organization: Geneva; 2003.
272. Holla R, Darshan B, Pandey L, Unnikrishnan B, Kumar N, Thapar R, Mithra P, Kulkarni V. Leptospirosis in Coastal South India: A Facility Based Study. *Biomed Res Int*. 2018 May 15;2018.
273. Puca E, Pilaca A, Kalo T, Piperio P, Bino S, Hysenaj Zh, Abazaj E, et al. Ocular and cutaneous manifestation of leptospirosis acquired in Albania: A retrospective analysis with implications for travel medicine, *Travel Medicine and Infectious Disease*. 2016.14:2; 143-147.
274. Dias M.A Clinic-epidemiological analysis of seropositive cases of leptospirosis in a tertiary care hospital in Mangalore. *Tropical Journal of Medical Research*. 2015.18(2):100-103.
275. Hoenigl M, Wallner C, Allerberger F, Schmoll F, Seeber K, et al. () Autochthonous Leptospirosis in South-East Austria, 2004–2012. *PLoS ONE*. 2014; 9(1):e85974.
276. Russell CD, Jones ME, O’Shea DT, et al.. Challenges in the diagnosis of leptospirosis outwith endemic settings: a Scottish single centre experience *J R Coll. Physicians Edinb* 2018; 48: 9–15
277. Mansoor T, Fomda B A, Ahmed T, Altaf I. Prevalence of Leptospirosis among Cases of Undifferentiated Febrile Illness reported to a Tertiary Care Teaching Hospital of Kashmir Valley. *Journal of Medical Science And clinical Research*. 2020. 08. 10.18535/jmscr/v8i5.70. ()
278. De Silva NL, Niloofa M, Fernando N, Karunanayake L, Rodrigo C, De Silva HJ, *et al.* Changes in full blood count parameters in leptospirosis: A prospective study. *Int Arch Med* 2014; 7:31.
279. Craig SB, Graham GC, Burns MA, Dohnt MF, Smythe LD, McKay DB. Haematological and clinical-chemistry markers in patients presenting with leptospirosis: A comparison of the findings from uncomplicated cases with those seen in the severe disease. *Ann Trop Med Parasitol* 2009; 103:333-4.
280. Modi RA, Patel AK, Patel MI, Padsala SG. Clinical, biochemical and haematological changes in leptospirosis. *Int J Res Med Sci* 2019; 7:205-8.
281. Daher EF, Lima RS, Silva GB Jr., Silva EC, Karbage NN, Kataoka RS, *et al.* Clinical presentation of leptospirosis: A retrospective study of 201 patients in a metropolitan city of Brazil. *Braz J Infect Dis* 2010; 14:3-10.

282. Turgut M, Sünbül M, Bayirli D, Bilge A, Leblebicioğlu H, Haznedaroğlu I. Thrombocytopenia complicating the clinical course of leptospiral infection. *J Int Med Res* 2002; 30:535-40.
283. Sharma J, Suryavanshi M. Thrombocytopenia in leptospirosis and role of platelet transfusion. *Asian J Transfus Sci* 2007; 1:52-5.
284. Datta S, Sarkar RN, Biswas A, Mitra S. Leptospirosis: An institutional experience. *J Indian Med Assoc* 2011; 109:737-8.
285. Linda RJ, Sumana MN. The role of thrombocytopenia in the clinical course of leptospiral infection. *Int J Recent Trends Sci Technol* 2015; 15:28-30.
286. Deodhar D, John M. Leptospirosis. Experience at a tertiary care hospital in Northern India. *Natl Med J India* 2011; 24: 78-80.
287. Sethi S, Sharma N, Kakkar N, Taneja J, Chatterjee SS, Banga SS, *et al.* Increasing trends of leptospirosis in northern India: A clinico-epidemiological study. *PLoS Negl Trop Dis* 2010;4 :e579.
288. Patil H, Agrawal V, Patil V. Clinical profile and outcome of leptospirosis at tertiary care centre in western Maharashtra. *J Acad Med Sci* 2012; 2:30.
289. Galya Ivanova Gancheva. Liver Involvement in Leptospirosis. *International Journal of Infectious Diseases and Therapy*. Vol. 1, No. 1, 2016, pp. 6-12.
290. George Th, Pais M J L, Adnan M., Pereira R., *et al.* Clinicolaboratory profile of leptospirosis: Observations from a tertiary care hospital. *Journal of applied Hematology*. 2020; 11 (3): pg 102-107.
291. World Health Organization- International Leptospirosis Society. 2003. http://www.who.int/csr/don/en/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.23.pdf.
292. Sethi S, Sharma N, Kakkar N, *et al.* Increasing trends of leptospirosis in northern India: a clinico-epidemiological study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(1):e579.
293. Paganin, F., Bourdin, A., Dalban, C. *et al.* Leptospirosis in Reunion Island (Indian Ocean): analysis of factors associated with severity in 147 confirmed cases. *Intensive Care Med*, 2007;33(11):1959-66.