

LEPTOSPIROSE HUMANA: ESTUDO TRANSVERSAL EM UM DISTRITO RURAL DE PELOTAS

GILMAR BATISTA MACHADO¹; TANISE PACHECO FORTES¹; ADELITA CAMPOS ARAUJO¹;AMILTON CLAIR SEIXAS NETO²; SIBELE BORSUK³; ÉVERTON FAGONDE DA SILVA⁴

¹Pós-Graduando do Programa de Pós-Graduação em Veterinária da UFPel-
gilmarmachado@hotmail.com; tanisefortes@gmail.com;
adelitacam@hotmail.com

² PNPD do Programa de Pós-Graduação em Veterinária da UFPel-
amiltonseixas@gmail.com

³ Professora do Curso de Biotecnologia UFPel- sibeleborsuk@gmail.com

⁴ Professor da Faculdade de Veterinária da UFPel- fagondee@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma zoonose de ocorrência mundial com incidência de 873 mil casos graves em humanos, que culminam com 49 mil mortes anuais (PICARDEAU et al., 2014). O agente etiológico da doença são bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*, onde são classificados em mais de 260 sorovares. A bactéria compartilha características semelhantes as gram-positivas e gram-negativas, porém o LPS é o antígeno mais predominante e imunogênico da membrana externa (MURRAY, 2013). Os principais reservatórios da doença são os roedores (SARKAR et al., 2002). Contudo, outros animais, especialmente os cães, participam da transmissão da doença e quando infectados, podem eliminar leptospiras através da urina durante meses, apresentando ou não sinais clínicos (BROWN; PRESCOTT, 2008). Em áreas rurais, o cão também exerce um importante papel na transmissão da enfermidade. Porém, animais de produção, como bovinos, suínos, equinos e ovinos também são suscetíveis à infecção e participam da transmissão da doença aos demais animais, podendo eliminar leptospiras no meio ambiente contaminando o solo e a água nas propriedades (HOMEM et al., 2001). O homem é considerado um hospedeiro acidental dentro da cadeia epidemiológica da leptospirose, sendo pouco importante na transmissão da doença. A leptospirose possui um amplo espectro de manifestações clínicas, que vão desde a infecção subclínica, podendo apresentar doença febril anictérica com ou sem meningite, e uveíte, até a forma grave com elevada letalidade, com icterícia, insuficiência renal e hemorragia (doença de Weil) (KO et al 2009). Inquéritos sorológicos e estudos epidemiológicos sobre a leptospirose humana são ferramentas importantes para o diagnóstico e para o planejamento de medidas de prevenção e controle da enfermidade. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo piloto transversal da leptospirose humana, na população rural de Cerrito Alegre, distrito de Pelotas, Rio Grande do Sul.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Pacientes e amostras

Amostras de soro de 124 humanos foram obtidas de moradores do 3º distrito de Pelotas, denominado de Cerrito Alegre. Todos os procedimentos

realizados no estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da UFPel nº36/12. Os integrantes do estudo além de assinarem um termo de consentimento, responderam a um questionário epidemiológico para a realização de uma análise estatística no programa Epiinfo7.

Teste de Soroaglutinação Microscópica (MAT)

O teste de soroaglutinação microscópica foi realizado segundo FAINE et al (1999), utilizando como antígeno os sorovares listados na tabela 1. As leptospiras foram cultivadas em meio comercial EMJH (Difco laboratories) líquido, em uma temperatura de 29°C e repicadas a cada sete dias. Para a padronização do antígeno, utilizou-se a câmara de Petroff-Housser, ajustando a concentração em $1\text{-}2 \times 10^8$ leptospiras/ mL. Os sorovares de leptospiras utilizados no estudo são provenientes do laboratório de referência Royal Tropical Institute, Amsterdam, Holanda e cedidos pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, além de dois isolados locais, os quais foram isolados em Pelotas pelo nosso grupo de pesquisas (SILVA et al., 2008). Para a execução do MAT, as amostras de soro foram inicialmente diluídas em 1:12,5 em PBS estéril, pH 7,2, e o teste foi considerado reagente quando houve aglutinação de 50% ou mais das leptospiras em relação ao controle.

Tabela 1: Bateria de antígenos leptospirais utilizada no MAT

| Espécie | Sorogrupo | Sorovar | Cepa |
|--------------------------|---------------------|---------------------|----------------|
| <i>L. interrogans</i> | Pomona | Pomona | Pomona |
| <i>L. interrogans</i> | Icterohaemorrhagiae | icterohaemorrhagiae | RGA |
| <i>L. kirschneri</i> | Grippotyphosa | grippotyphosa | Moskva V |
| <i>L. santarosai</i> | Bataviae | bataviae | Swart |
| <i>L. interrogans</i> | Australis | australis | Ballico |
| <i>L. interrogans</i> | Sejroe | wolffi | 3705 |
| <i>L. interrogans</i> | Sejroe | hardjo | Hardjoprajitno |
| <i>L. interrogans</i> | Icterohaemorrhagiae | copenhageni | M20 |
| <i>L. interrogans</i> | Autumnalis | autumnalis | Akiyami A |
| <i>L. biflexa</i> | Semaranga | patoc | Patoc 1 |
| <i>L. interrogans</i> | Canicola | ND | Kito* |
| <i>L. borgpetersenii</i> | Ballum | ND | 4E* |

ND= Não determinado; *isolados locais

Análises Estatísticas

Os dados utilizados foram os constantes nos 124 questionários aplicados aos participantes do estudo. Para a análise de exposição e desfecho, utilizou-se o programa Epiinfo7, disponível para download no site do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, www.cdc.gov), utilizando os parâmetros de Intervalo de confiança 95% e de $p<0,05$ para os resultados considerados com diferença estatística.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 124 soros analisados, 16 foram reagentes no MAT, revelando uma prevalência de 12,9%. Os sorovares com maior freqüência foram Patoc1 (50%), Copenhageni M20 (12,5%), Hardjo Hardjoprajitno (12,5%), Ballum 4E (6,25%) e Australis Ballico(6,25%), com os títulos de anticorpos variando de 25 a 100. De

acordo com a análise estatística realizada, nenhuma das variáveis de exposição analisadas em relação ao desfecho (reagente no MAT), apresentam diferença estatística ($p<0,05$), revelando ausência de associação com a infecção por leptospiros. A ocorrência de anticorpos em homens (56,2%) foi maior do que em mulheres (43,8%), porém não houve diferença estatística entre sexos em relação a infecção por leptospiros ($P>0,05$), semelhante ao que foi evidenciado no estudo de LACERDA et al (2008) em uma comunidade rural do Rio Grande do Norte ($P=0,56$). Em nosso estudo, o sorovar Patoc foi o mais prevalente. Este sorovar pertence ao grupo de leptospiros saprófitas, a qual é utilizada frequentemente em investigações sorológicas devido a presença de reações cruzadas com sorovares patogênicos, podendo revelar precocemente uma infecção em curso com um sorovar ausente na bateria do MAT (LEVETT, 2001). Esse resultado foi encontrado em um trabalho semelhante realizado por AGUIAR et al (2007), o qual foi realizado em uma localidade do meio rural da Amazônia. Atualmente, a leptospirose humana tem sido reconhecida em todo mundo, como um importante problema de saúde pública por apresentar alta incidência, uma elevada taxa de letalidade nos casos graves e pela necessidade de internação hospitalar. O diagnóstico precoce da enfermidade é dificultado pela grande quantidade de manifestações clínicas, que podem variar desde um simples resfriado (*Flu-like*) até problemas renais e hepáticos (Doença de Weil) (LEVETT, 2001). Em todos os casos, a investigação epidemiológica, o diagnóstico clínico e o laboratorial são imprescindíveis para a detecção da doença nos primeiros dias de infecção. Nossa pesquisa, em contrapartida, foi realizada em humanos supostamente saudáveis, os quais não apresentavam sintomatologia no momento da coleta da amostra, conforme foi declarado no questionário aplicado no momento da entrevista. No meio rural de Pelotas, um estudo realizado por JOUGLARD; BROD (1998) em 213 propriedades, analisou 489 amostras sorológicas de caninos, encontrando 13 (2,66%) animais positivos no MAT com os títulos de sorovares variando de 50 a 800, com reações para os sorovares icterohaemorrhagiae, australis, copenhageni e canícola. Houve maior ocorrência da enfermidade em locais com a altitude variando de 0 a 100 metros, revelando uma similaridade com a topografia da região urbana de Pelotas, que naturalmente está propensa a enchentes e aos alagamentos nos períodos de grande precipitação pluviométrica. Em relação à prevalência da leptospirose humana no meio rural de Pelotas, nenhum trabalho foi publicado nos últimos 10 anos.

4. CONCLUSÕES

O estudo piloto transversal realizado pelo nosso grupo, revelou uma prevalência de anticorpos leptospirais de 12,9% nos participantes, os quais não apresentavam história clínica da doença no momento da coleta da amostra de sangue. Sendo assim, conclui-se que novos estudos soro-epidemiológicos devem ser realizados na população estudada, visando a identificação de áreas de risco para a infecção e a priorização das medidas de prevenção e controle na localidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; CAMARGO, L.M.A.; LABRUNA, M.B.; VASCONCELLOS, S.A.; SOUZA, G.O.; GENNARI, S.M. Anti-*leptospira* spp and anti-*brucella* spp antibodies in humans from rural area of Monte Negro

Municipality, State of Rondônia, Brazilian Western Amazon, **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.93-96, 2007.

BROWN, K.; PRESCOTT, J. Leptospirosis in the family dog: a public health perspective. **Canadian Medical Association**, v.178, p.339-401, 2008.

FAINE, S.B.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis**. Melbourne, Australia: MediSci, 1999.

HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; MORAES, Z.M.M.; VASCONCELLOS, S.A.F.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia oriental brasileira. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.3, p.173-180, 2001.

JOUGLARD, S.D.D.; BROD, C.S.; Leptospirose em caes: prevalencia e fatores de risco no meio rural do Municipio de Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.67, n.2, p.181-185, 2000.

KO, A.I.; GOARANT, C.; PICARDEAU, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen, **Nature Reviews Microbiology** v.7, p.736–747, 2009.

LACERDA, H.G.; MONTEIRO, G.R.; OLIVEIRA, C.C.G.; SUASSUNA, F.B.; QUEIROZ, J.W.; BARBOSA, J.D.A.; MARTINS, D.R.; REIS, M.G.; KO, A.I.; JERONIMO, S.M.B. Leptospirosis in a subsistence farming community in Brazil, **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.102, p.1233-1238, 2008.

LEVETT, P.N. Leptospirose, **Clinical Microbiology Reviews** v.14, p.296-326, 2001.

MURRAY, G.L. The lipoprotein LipL32, an enigma of leptospiral biology. **Veterinary microbiology**, v.162, p.305–314, 2013.

PICARDEAU, M.; BERTHERAT, E.; JANCLOES, M.; SKOULoudis, A. N.; DURSKI, K. e HARTSKEERL, R. A. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies Diagnostic **Microbiology and Infectious Disease**, v.78, n.1, p.1-8. 2014.

SARKAR, V.; NASCIMENTO, S.F.; BARBOSA, R.; MARTINS, R.; NUEVO, H.; KALAFANOS, I.; GRUNSTEIN, I.; FLANNERY, B.; DIAS, J.; RIREY, L.; REIS, M.; KO, AI. Population-Based Case-control investigation of risk factors for leptospirosis during in Urban Epidemic. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.66, p.605-610, 2002.

SILVA, É.F.; SANTOS, C.S.; ATHANAZIO, D.A.; SEYFFERT, N.; SEIXAS, F.K.; CERQUEIRA, G.M.; FAGUNDES, M.Q.; BROD, C.S.; REIS, M.G.; DELLAGOSTIN, O.A.; KO, A.I. Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in a hamster model. **Vaccine**. v.26, p.3892-3896, 2008.