

ESTABELECIMENTO DE UMA VIGIÂNCIA ATIVA E UM BANCO DE SOROS PARA AVALIAÇÃO DE TESTES DIAGNÓSTICOS PARA LEPTOSPIROSE HUMANA NO MUNICÍPIO DE PELOTAS-RS

MATHEUS FARIAS FABRES¹; FLÁVIA CRUZ MCBRIDE²; ARI VIEIRA LEMOS JÚNIOR²; JANAÍNA MOTTA²; ANA CARINA CALDAS²; ALAN MCBRIDE³

¹*Universidade Federal de Pelotas 1 - matheusfabres@gmail.com*

²*Universidade Católica de Pelotas – Curso de Medicina - flaviamcbride@ucpel.edu.br, arivlemosjúnior@ucpel.edu.br, jsantos.epi@ucpel.edu.br, anacarina.caldas@gmail.com*

³*Laboratório de Pesquisa em Doenças Infecciosas, Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas – alan.mcbride@ufpel.edu.br*

1. INTRODUÇÃO

A Leptospirose é causada por 14 espécies reconhecidamente patogênicas (9 patogênicas, 5 intermediárias) de espiroquetas pertencentes ao gênero *Leptospira* (SENAKA, et al., 2015). Leptospiras patogênicas são antigenicamente diferentes, sendo subdivididas em mais de 260 sorovares (FAINE, et al., 1999; BARTHI, et al., 2003). A doença é considerada a zoonose mais difundida no mundo (LEVETT, R.N., 2001; VINETZ, 2009; WHO, 2003), devido à capacidade do patógeno de induzir um estado de portador em uma variedade de animais silvestres e domésticos (HARTSKEERL, 1996; BUNNEL, et al., 2000) e de sobreviver fora do hospedeiro, uma característica única entre as espiroquetas (FAINE, et al., 1999). A transmissão para humanos ocorre durante o contato direto com animais portadores ou com o ambiente contaminado pela sua urina. A infecção produz um amplo espectro de manifestações clínicas, desde um simples estado febril à doença de Weil, apresentação severa clássica caracterizada por icterícia, falência renal aguda e hemorragia (FAINE, et al., 1999; FARR, 1995; BHARTI, et al., 2003; VINETZ, 2001).

Apenas no Brasil, aproximadamente 10.000 casos de leptospirose grave são notificados anualmente durante epidemias que ocorrem em comunidades carentes em todas as principais cidades do país (REIS, et al., 2008), sendo a mortalidade entre os casos em torno de 10-15% (KO, et al., 1999; McBRIDE & ATHANAZIO, et al., 2005). Os Órgãos de Saúde Pública necessitam abordar as graves consequências decorrentes da leptospirose. A situação é ainda mais urgente com o surgimento da Síndrome Hemorrágica Pulmonar Severa (SHPS), a qual é atualmente a causa principal de morte durante epidemias no Brasil (GOUVEIA, et al., 2008). Mesmo com uma agressiva intervenção médica, a mortalidade devido a doença de Weil e a SHPS é de 5-40% (McBRIDE & ATHANAZIO, et al., 2005) e menor que 70% (GOUVEIA, et al., 2008; SEGURA, et al., 2005), respectivamente. Além disso, o custo para o monitoramento de tratamento intensivo, diálise e ventilação mecânica são grandes prejuízos para o Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil, cujo gasto anual no setor de saúde pública é maior que US\$20,00 por pessoa. Entretanto, as ferramentas laboratoriais disponíveis atualmente para o

diagnóstico da leptospirose são inadequadas, o que juntamente com a falta de medidas de controle eficazes têm sido as principais barreiras para a geração de respostas efetivas à nível de saúde pública (REIS, *et al.*, 2008; McBRIDE & PEREIRA, *et al.*, 2007; McBRIDE & SANTOS, *et al.*, 2007).

O presente trabalho tem como primeiro objetivo implantar uma vigilância ativa e determinar a prevalência da doença Leptospirose no município de Pelotas, Rio Grande do Sul. Dentro deste objetivo podemos listar os objetivos específicos: A. Detectar casos de Leptospirose a partir de uma vigilância local ativa e diagnóstico clínico e laboratorial. B. Determinar a prevalência da exposição à Leptospirose e identificar os fatores de risco para a população. C. Estudos de soroprevalência serão iniciados para avaliar o risco de exposição comunitária a Leptospiroses epidêmicas nas localizações tanto urbanas como rurais. Como segundo objetivo, o trabalho visa o estabelecimento e caracterização de um banco de soros para utilização em futuras avaliações de testes diagnósticos. Um banco de soros humanos será caracterizado pelo teste de microaglutinação (MAT) e por ensaio imunoenzimático (ELISA). Tal banco conterá amostras de indivíduos saudáveis, de indivíduos positivos para leptospirose, e de indivíduos positivos para outras doenças infecciosas que tem apresentação clínica similar aos casos de leptospirose. Este último grupo será de fundamental importância para o desenvolvimento e avaliação dos protótipos para a realização de um diagnóstico diferencial.

2. METODOLOGIA

A coleta de dados e de amostras foi realizada diretamente nos domicílios circundantes à Unidade Básica de Saúde Py Crespo. Um plano piloto no Bairro Lindóia, subdistrito Três Vendas foi realizado e baseou-se principalmente em visita pelo Mutirão aos moradores diretamente em suas residências. A ideia deste piloto foi de estudar uma região que agregava a maior quantidade de características que tornariam possíveis o desenvolvimento da doença dentro de uma comunidade. É sabido que o local escolhido situa-se em uma região de ocupação irregular, sendo que a falta de saneamento básico e políticas efetivas de coleta de lixo público podem colaborar para a prevalência e a incidência desta doença na região. Os critérios de inclusão do candidato a participar deste estudo foram: o indivíduo concordar com a sua participação no estudo e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) permitindo a coleta de sangue e responder ao questionário. O critério de exclusão seria o não consentimento do indivíduo.

Todas as amostras coletadas pela vigilância farão parte de um banco de soros, o qual será bem caracterizado por MAT (teste microscópico de aglutinação) e posterior ELISA (ensaio imunoenzimático). O teste MAT foi realizado para determinar a evidência sorológica da infecção prévia por Leptospira. Todos os soros coletados foram testados contra um painel de 14 cepas referência. Uma triagem foi realizada com as diluições 1:25, 1:50 e 1:100. As amostras positivas a 1:100 foram tituladas para obtenção do maior título. Um título maior ou igual a 25 foi utilizado para definir presença de anticorpos anti-leptospira. O sorovar infectante foi definido como aquele

sorovar onde o maior título de aglutinação for observado (WHO,2003). Os testes sorológicos foram realizados semanalmente, seguindo o fluxo de recebimento de amostras da vigilância, no LPDI, CDTec, UFPel, sob a Coordenação do Dr. Alan McBride. Todos os soros coletados, aliquotados e devidamente identificados, foram acondicionados em caixas e mapeados, tendo então todas as informações colocadas em um banco de dados no Software Epi Data criado para soroteca. Esta soroteca poderá ser utilizada posteriormente para a padronização de testes diagnósticos. Uma equipe multidisciplinar foi montada e a esta se atribuiu o nome de “Mutirão de Vigilância Ativa para Leptospirose”, esta equipe teve como objetivo fazer o levantamento da doença diretamente na comunidade através de visitas domiciliares.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mais de cento e cinquenta domicílios foram visitados, sendo que 193 moradores foram entrevistados e tiveram seu sangue coletados. Apenas três domicílios se recusaram a participar do estudo. Dos domicílios visitados, 100% apresentam proximidade de menos de 10m de esgoto a céu aberto. Dos entrevistados, 95% relatam terem visto ratos próximos às suas casas e aproximadamente 90% afirmam terem visto ratos dentro do domicílio. As amostras de soro de todos os participantes, assim como dos controles se encontram devidamente isoladas e catalogadas. A tabulação dos questionários foi realizada através do Software EPI DATA 3.1. Com os dados das entrevistas devidamente salvos no banco de dados haverá o início das análises estatísticas, com finalidade de estudar o cenário físico e sócio-econômico vinculando à prevalência de Leptospirose humana.

Este estudo permitiu identificar os sorovares que predominam na comunidade em questão assim como determinar prevalência da doença na comunidade e os fatores de risco envolvidos na sua transmissão.

4. CONCLUSÃO

Problemas de infraestrutura podem estar relacionados com fatores de transmissão da doença, sendo assim medidas devem ser adotadas tendo em vista a melhoria nas condições sanitárias da comunidade estudada.

Um número total de 32 indivíduos foram identificados como positivos para a doença, sendo que a prevalência foi superior a 20% . As sorovares que ocorrem na comunidade são as seguintes: Patoc(7), Cynopteri (7), Panama(9), Mozdok (4), Pomona(2), Copenhageni(2), Canicola(2), Bratislava(2), Bataviae(1) e Autumnalis(1), (em parênteses número de ocorrências somados às reações cruzadas) . A soroprevalência foi definida como pertencente à sorovar Panama (9 ocorrências).

Por não haver estudo deste tipo na região sul do Brasil não há como saber qual sorovar prevalece em humanos, nem se esta será a mesma dentre as

comunidades futuramente estudadas. Sendo assim, destaca-se a importância deste projeto e da ação deste mutirão em nosso município, que teve por finalidade identificar e informar a população sobre a ocorrência desta doença.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICALDI, J.N.; MATTHIAS, M.A.; DIAZ M.M.; LOVETT, M.A.; *et al.* Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infect Dis.** 3:757-71, 2003.
- BUNNEL, J.E.; HICE, C.L., *et al.* Detection of pathogenic *Leptospira* spp. Infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. **Am J Trop Med Hyg** 63: 255-258, 2000.
- FAINE, S.B.; ADLER, B.; BOLIN, C., PEROLAT, P. **Leptospira and Leptospirosis.** Melbourne: MediSci 1999.
- FARR, R.W. Leptospirosis. **Clin Infect Dis** 21: 1-6; quiz 7-8, 1995.
- GOUVEIA, E.L; METCALFE, J., *et al.* Leptospirosis-associated Severe Pulmonary Hemorrhagic Syndrome, Salvador, Brazil. **Emerg Infect Dis** 14: 505-508, 2008.
- HARTSKEERL, R.A; TERPSTRA, W.J. Leptospirosis in wild animals. **Vet Q** 18 **Suppl.** 3: S149-150, 1996.
- KO, A. I.; GOARANT, C.; PICARDEAU, M. *Leptospira*: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. **Nat Rev Microbiol.** 10:736-747, 2009.
- LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clin Microbiol Rev.** 14:296-326, 2001.
- MCBRIDE, A.J.; ATHANAZIO, D.A., *et al.* Leptospirosis. **Curr Opin Infect Dis.** 18: 376-386, 2005.
- MCBRIDE, A.J.; PEREIRA, F.A., *et al.* Evaluation of the EIE-IgM-Leptospirose assay for the serodiagnosis of leptospirosis. **Acta Trop.** 102: 206-211, 2007.
- MCBRIDE, A.J.; SANTOS, B.L., *et al.* Evaluation of four whole-cell *Leptospira*-based serological tests for diagnosis of urban leptospirosis. **Clin Vaccine Immunol** 14: 1245-1248, 2007.
- REIS, R.B.; RIBEIRO, G.S, *et al.* Impact of environment and social gradient on leptospira infection in urban slums. **PLoS Negl Trop Dis.** 2: e228, 2008.
- SEGURA, E.R.; GANOZA, C.A., *et al.* Clinical spectrum of pulmonary involvement in leptospirosis in a region of endemicity, with qualification of leptospiral burden. **Clin Infect Dis.** 40: 343-351, 2005.
- SENAKA, R.; CHATURAKA, R.; SHIROMA, M. H.; SUMADHYA, D.F. Current immunological and molecular tools for leptospirosis: diagnostics, vaccine design, and biomarkers for predicting severity. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.** 14:2, 2015.
- VINETZ, J.M. Leptospirosis. **Current Opinion in Infectious Diseases.** 14: 527-538, 2001.
- WHO, I.L.S. **Human Leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control.** Malta: World Health Organization. P1-122, 2003.