

ESTABELICIMENTO 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,
arivlemosjunior@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 antígenicamente 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 conterà 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.; RICARDI, 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-Leptospire 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.