

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA LEPTOSPIROSE HUMANA EM UM DISTRITO RURAL DE PELOTAS/RS

GILMAR BATISTA MACHADO¹; TANISE PACHECO FORTES¹; CAROLINE DEWES¹; AMILTON CLAIR PINTO SEIXAS NETO²; PAULA SOARES PACHECO³; ÉVERTON FAGONDE DA SILVA⁴

¹ Pós-Graduando do Programa de Pós-Graduação em Veterinária da UFPel- gilmar.machado84@hotmail.com; tanisefortes@gmail.com; caroldewesvet@hotmail.com
² PNPD do Programa de Pós-Graduação em Veterinária da UFPel- amiltonseixas@gmail.com
³ Graduanda em Veterinária da UFPEL- paulaa_pacheco@hotmail.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. Os principais reservatórios da doença são os roedores. Contudo, outros animais, especialmente os cães, participam da transmissão da doença e quando infectados, podem eliminar leptospiros através da urina durante meses, apresentando ou não sinais clínicos (MURRAY, 2013).

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 leptospiros no meio ambiente contaminando o solo e a água nas propriedades. 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. METODOLOGIA

Amostras

Amostras de soro de 216 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 nº1352717. 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 leptospiros 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 $1-2 \times 10^8$ leptospiros/ mL. Os sorovares de leptospiros 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 leptospiros em relação ao controle.

Tabela1: 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>	Pyrogenes	Pyrogenes	Salinem
<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>	Semarang	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 216 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 216 soros foram coletados e testados através do MAT, 44 mostraram-se reagentes, revelando uma prevalência de 20,37%. Quando comparado com outros estudos, este resultado pode ser considerado superior a outras regiões do Brasil, como no estudo de Alves (2008) que encontrou uma prevalência de (2,01%) em mulheres gestantes no município de Londrina no Paraná, Dias et al. (2007) que encontraram (12,4%) em moradores de Salvador na Bahia e Martins (2005) que encontrou (3,5%) na área rural do município de Pirassununga em São Paulo. Os resultados obtidos frente aos sorovares foram Ballum ($n=09$; 20,45%), Canicola ($n=08$; 18,18%), Copenhageni ($n=07$; 15,90%), Australis ($n=06$; 13,63%), Patoc ($n=06$; 13,63%), Hardjo ($n=04$; 9,09%) e também reações cruzadas entre Australis/Pyrogenes ($n=02$; 4,54%) e Ballum/Copenhageni ($n=01$; 2,27%).

Em nosso estudo, os sorovares patogênicos que apresentaram uma maior frequência foram Canicola cepa Kito (n=8; 18,18%) e Ballum cepa 4E (n=9; 20,45%), ambos isolados locais, com os títulos variando de 25 a 200. Estudos revelam que alguns sorovares são comumente associados com um reservatório animal em particular. O sorovar Canicola, por exemplo, está associado aos caninos, enquanto que o sorovar Ballum estaria mais associado aos roedores sinantrópicos, como os camundongos. Embora os seres humanos sejam considerados hospedeiros acidentais na cadeia epidemiológica da leptospirose, e que não existam relatos de qualquer associação com um particular sorovar, são descritas diferenças entre as fontes de infecção no meio urbano e no meio rural, além da atividade ocupacional e recreacional, e fatores climáticos, os quais os humanos estão expostos (LAU et al. 2016).

De acordo com (SCHENEIDER et al., 2015) as populações rurais do Rio Grande do Sul, têm cerca de oito vezes maior risco de contrair leptospirose do que a populações urbanas, e os casos rurais estão principalmente em duas zonas, caracterizadas pela maior produção de tabaco (região central) e maior produção de arroz (região sul). Na nossa região estudada, que conta com na sua maioria, com pequenas propriedades, a cultura do tabaco e a criação de bovinos são bastante empregadas, já a plantação de arroz bem menos expressiva, mas mesmo assim presente.

No presente estudo, o resultado sorológico dos 44 reagentes apresentaram títulos entre 25 e 800, valores semelhantes aos encontrados por (ALVES, 2008), com os resultados sorológicos de 18 mulheres apresentaram títulos de anticorpos entre 100 e 400, contra sorovares de *Leptospiras* associados à ausência de sintomas, sugerem que estas mulheres tiveram contato com alguma fonte de infecção por *Leptospiras*. De acordo com (FAINE et al., 1999), este contato pode ter ocorrido há muito tempo, não sendo possível determiná-lo, pois as reações sorológicas nos testes de aglutinação podem persistir por meses até anos.

Em nosso estudo, um dos sorovares mais prevalentes foi o Patoc (n=6; 13,63%). Este sorovar pertence ao grupo de *Leptospiras* 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. Brod et al. (1995) realizaram estudo de prevalência da leptospirose em bovinos, na região Sul do Rio Grande do Sul e encontraram 41,49% de soros reagentes, com predominância de Hardjo (82,25%). Também (HERRMANN et al., 2012), realizaram um estudo com bovinos na mesma região encontrando uma prevalência de 38,75%, apresentando títulos acima de 100, sendo o sorovar Hardjo o mais prevalente, entre outros que reagiram, estavam Pyrogenes e Australis, estes dados mostram a importância dos bovinos na manutenção da transmissão da leptospirose aos humanos.

De acordo com (FAINE et al., 1999) consideram cães, assim como ratos e camundongos como as principais fontes de infecção de *Leptospira* para o homem. O isolamento de *Leptospiras* de humanos e animais no Brasil vem sendo descrito desde o início do século passado. Em Pelotas, nosso grupo relatou nos últimos quinze anos o isolamento de mais de uma dezena de cepas, oriundas principalmente de humanos, caninos e roedores sinantrópicos (SILVA et al., 2008). Com estes isolamentos, podemos evidenciar uma ampla variedade de espécies e sorogrupos que circulam em nossa região do estado e que podem causar desde quadros clínicos leves e inaparentes até casos que culminam com a morte do paciente.

4. CONCLUSÕES

Até o momento, este estudo contribui para o conhecimento preliminar da prevalência da leptospirose no Distrito de Cerrito Alegre em Pelotas;

Os sorovares mais prevalentes são os dois isolados locais, pertencentes aos sorogrupos Canicola cepa Kito e Ballum cepa 4E;

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. A. **Soroepidemiologia da leptospirose em mulheres gestantes do município de Londrina, PR**. 2008. 43f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

DIAS, J. P.; TEIXEIRA, M. G.; COSTA, M. C. N.; MENDES, C. M. C.; GUIMARÃES, P.; REIS, M. G.; KO, A.; BARRETO, M.L. Fatores associados à infecção por *Leptospira sp* em um grande centro urbano do Nordeste do Brasil, **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 499-504, 2007.

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

HERRMANN, G. P.; RODRIGUES, R. O.; MACHADO, G.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E. C.; LEITE, R. C. Soroprevalência de leptospirose em bovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.13, n.1, p. 131-138, 2012.

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.

LAU, C. L.; WATSON, C. H.; LOWRY, J. H.; DAVID, M. C.; CRAIG, S. B.; WYNWOOD, S. J.; KAMA, M.; NILLES, E. J. Human Leptospirosis Infection in Fiji: An Ecoepidemiological Approach to Identifying Risk Factors and Environmental Drivers for Transmission. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, p.1-25, 2016.

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.; SKOULLOUDIS, 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.

SILVA, E.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, n. 31, p. 3892-3896, 2008.