

ESTABELECIMENTO DE UMA VIGILÂNCIA 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 JÚNIOR³; JANAÍNA MOTTA⁴; ANA CARINA CALDAS⁵; ALAN JOHN ALEXANDER MCBRIDE⁶

¹Laboratório de Pesquisa em Doenças Infecciosas, Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológica, Universidade Federal de Pelotas - matheusfabres@gmail.com

²Universidade Católica de Pelotas, Curso de Medicina – cruzmcbride@gmail.com

³Universidade Católica de Pelotas, Curso de Medicina arivieralemos@gmail.com

⁴Universidade Católica de Pelotas – jsantos.epi@gmail.com

⁵Universidade Católica de Pelotas – abcal_enf@yahoo.com.br

⁶Laboratório de Pesquisa em Doenças Infecciosas, Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológica, Universidade Federal de Pelotas – alan.mcbride@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A Leptospirose é causada por 13 espécies de espiroquetas pertencentes ao gênero *Leptospira* (FAINE et al, 1999; LEVETT, 2001). 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, 2001; VINETZ 2009 e WHO, 2003) devido a 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 maior 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 objetivo implantar uma vigilância ativa detectando os casos de Leptospirose a partir de uma vigilância local e diagnóstico clínico e laboratorial; e determinar a prevalência da Leptospirose no município de Pelotas, Rio Grande do Sul, identificando os fatores de risco para a população. Estudos de soroprevalência serão iniciados para avaliar o risco de exposição comunitária a Leptospirose endêmica em 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

Este trabalho encontra-se em andamento, portanto a metodologia descrita abaixo está em plena fase de execução.

A coleta de dados e de amostras está sendo realizada diretamente nos domicílios circundantes à Unidade Básica de Saúde do Bairro Py Crespo. Um plano piloto no Bairro Lindóia, subdistrito Três Vendas encontra-se consolidado e em pleno andamento e baseia-se principalmente em visita por uma equipe de campo aos pacientes da UBS diretamente em suas residências. A ideia deste piloto é de justamente estudar os moradores de uma região que agrega a maior quantidade de características que tornariam possíveis o desenvolvimento da doença dentro da comunidade. O local de estudo situa-se em uma região de ocupação irregular, sendo que a falta de saneamento básico e de políticas efetivas de coleta de lixo público podem colaborar para a prevalência e a incidência da doença na região. A partir dos resultados obtidos nesta amostra se estudará a expansão do plano para outros bairros. Os critérios de inclusão do candidato a participar deste estudo são: 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. Como critérios de exclusão são 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 ELISA (ensaio imunoenzimático). O teste MAT será realizado para determinar a evidência

sorológica da infecção prévia por *Leptospira*. Todos os soros coletados serão testados contra um painel de 20 cepas referência. Uma triagem será realizada com as diluições 1:25, 1:50 e 1:100. As amostras positivas a 1:100 serão tituladas para obtenção do maior título. Um título maior ou igual a 25 será utilizado para definir presença de anticorpos anti-*Leptospira*. O provável sorovar infectante será definido como aquele sorovar onde o maior título de aglutinação for observado (WHO,2003). Os testes sorológicos serão 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, alíquotados e devidamente identificados são acondicionados em caixas e mapeados, e suas informações colocadas em um banco de dados no Software Epi Info criado para soroteca. Neste banco também haverá informações dos soros em relação aos seus resultados de MAT e ELISA. Esta soroteca poderá ser utilizada posteriormente para a padronização de testes diagnósticos. Uma equipe multidisciplinar foi montada e a ela se atribuiu o nome de “Mutirão de Vigilância Ativa para Leptospirose”, esta equipe tem como objetivo fazer o levantamento da doença diretamente na comunidade através de visitas domiciliares.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este projeto teve início em junho deste ano e até o presente momento 110 domicílios já foram visitados, sendo que 82 moradores foram entrevistados e tiveram seu sangue coletados. Apenas 3 domicílios se recusaram a participar do estudo até o momento. Do restante dos 107 domicílios, sessenta moradores que estavam ausentes durante a visita estão agendados para coleta e entrevista em data futura. Dos domicílios visitados, 100% apresentam proximidade de menos de 10m de esgoto a céu aberto. Dos entrevistados até o momento, 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 digitação dos questionários encontra-se em fase de execução através do Software EPI INFO 7.0. 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 socioeconômico vinculado à prevalência de Leptospirose humana.

Este estudo permitirá identificar o sorovar ou 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

Tendo em vista que este é um trabalho ainda em execução, conclusões não podem ser tiradas. O que se espera é que, a partir deste estudo piloto, com a devida determinação de soroprevalência e conhecimento dos fatores de risco para a Leptospirose, se aplique a mesma metodologia nos demais bairros de Pelotas que

apresentem condições físicas similares. Problemas de infraestrutura podem estar relacionados com fatores de transmissão da doença, sendo assim medidas podem ser adotadas tendo em vista a melhoria nas condições sanitárias das comunidades.

Por não haver estudo deste tipo na região sul do Brasil não há como saber qual sorovar prevalece em humanos, nem se tal sorovar será o mesmo dentre as comunidades futuramente estudadas. Sendo assim, destaca-se a importância deste projeto e da ação deste mutirão em nosso município, que tem 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-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.
- 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.