

SOROVARES DE *Leptospira interrogans* ISOLADOS DE CASOS DE LEPTOSPIROSE HUMANA EM SÃO PAULO, BRASIL

E. E. SAKATA (1), P. H. YASUDA (2), E. C. ROMERO (1), M. V. SILVA (3) & A. V. LOMAR (4)

RESUMO

Sorovares de *Leptospira interrogans* isolados de pacientes hospitalizados na cidade de São Paulo no período de 1986 a 1989, foram identificados pela técnica de absorção de aglutininas no Setor de Leptospirose do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo. Das 18 cepas sorotipadas, 14 foram idênticas ao sorovar **copenhageni** (sorogrupo Icterohaemorrhagiae), 2 ao **canicoia** (sorogrupo Canicola), 1 ao **castellonis** (sorogrupo Ballum) e 1 ao sorogrupo Pomona (sorovar ainda não definido). Os autores ressaltam a freqüência do sorovar **copenhageni** em 100% das cepas dentro do sorogrupo Icterohaemorrhagiae e sugerem mais estudos sobre os sorovares prevalentes em nosso meio como subsídio à epidemiologia desta zoonose.

UNITERMOS: Leptospirose humana; sorotipagem; *Leptospira* sp.

INTRODUÇÃO

A leptospirose, zoonose bastante disseminada no mundo, é causada pela *Leptospira interrogans*, uma espécie detentora de mais de 170 sorovares distribuídos em 19 sorogrupos¹².

Como doença ocupacional, atinge trabalhadores de serviços de água e esgotos, canaviais, arrozais, abatedouros, tratadores de animais, veterinários, entre outros¹⁰. Casos de leptospirose humana por atividades de recreação em águas naturais próximas às zonas rurais, utilizadas também por animais domésticos e silvestres, já foram descritos^{5, 13, 16, 20}.

Constituindo um sério risco à saúde pública, no Brasil sua incidência aumenta nas épocas de chuva, quando ocorre o contato com a água de inundações urbanas contaminada por leptospirosas patogênicas eliminadas principalmente por roedores^{3, 4, 8, 17, 19}.

O diagnóstico laboratorial da leptospirose pode ser feito através de métodos sorológicos e do isolamento do agente. A reação de aglutinação microscópica é a prova clássica recomendada pela Organização Mundial da Saúde no sorodiagnóstico¹⁰ e o teste de absorção de agluti-

(1) Seção de Bacteriologia, Setor de Leptospirose do Instituto Adolfo Lutz — Av. Dr. Arnaldo, 351, 9º andar — CEP 01246 — São Paulo — SP, Brasil.

(2) Instituto de Ciências Biomédicas da USP, São Paulo, SP, Brasil.

(3) Seção de Sorologia do Instituto Adolfo Lutz e Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo, SP, Brasil.

(4) Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Paulo H. Yasuda, Instituto de Ciências Biomédicas da USP, Departamento de Microbiologia, Caixa Postal 4365, CEP 0151. São Paulo, Brasil.

— ninas é a técnica empregada na identificação das leptospirosas a nível de sorovar¹¹.

Os dados existentes sobre a leptospirose no país, na maioria das vezes, foram obtidos através de estudos soroepidemiológicos^{9, 14}. Variações individuais nas respostas em relação à produção de anticorpos, entretanto, podem ser observadas, o que torna importante o isolamento das leptospirosas para definir o real sorovar infectante.

Nossa contribuição à epidemiologia dessa doença é a identificação dos sorovares de *L. interrogans* isolados pelo Setor de Leptospirose do Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, de pacientes hospitalizados no período de 1986 a 1989.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras — O Setor de Leptospirose do Instituto Adolfo Lutz recebeu 227 amostras para o cultivo de leptospirosas de 182 pacientes atendidos em hospitais e centros de saúde do Estado de São Paulo, no período de 1986 a 1989, sendo 166 de sangue, 49 de líquido céfalo-raquidiano (LCR), 2 de líquido peritoneal, 1 de líquido de diálise e 1 de soro sanguíneo.

Isolamento de leptospirosas — A semeadura foi realizada em meio de Fletcher, segundo a metodologia descrita por Myers¹⁵, com incubação de 28-30°C e observação semanal por cerca de dois meses em microscópio dotado de campo escuro.

Serotipagem — A partir dos cultivos positivos, os procedimentos para a serotipagem foram realizados com a preparação de soros hiper-ímmunes¹⁰, provas de aglutinação microscópica²¹ e absorção de aglutininas¹¹.

RESULTADOS

Foram positivos os cultivos de 19 amostras de sangue, 5 de LCR e 1 de urina de 23 pacientes que se encontravam internados em hospitais da cidade de São Paulo, dois deles com amostras positivas para sangue e LCR (Tabela 1). Leptospirosas de 5 pacientes não se mantiveram vivas.

A serotipagem preliminar de 18 cepas com antisoros de referência de *L. interrogans* revelou

que as mesmas pertenciam a 4 sorogrupos assim distribuídos: Icterohaemorrhagiae (14/18), Canicola (2/18), Ballum (1/18) e Pomona (1/18).

TABELA 1

Positividade das amostras recebidas pelo Instituto Adolfo Lutz, para cultivo de *Leptospira*, no período de 1986 a 1989.

Material	Nº de Amostras Recebidas	Nº de Amostras Positivas	Positividade %
Sangue	166	19	11,45
LCR	49	5	10,20
Urina	8	1	12,50
Outros*	4	—	—

Outros*: líquido peritoneal (2), líquido de diálise (1) e soro sanguíneo (1).

Submetidas, então, ao teste de absorção de aglutininas com anti-soros de referência específicos para sorovares, apresentaram o seguinte resultado: 14 cepas mostraram-se idênticas ao sorovar *copenhageni* (Icterohaemorrhagiae), 2 ao sorovar *canicola* (Canicola), 1 ao sorovar *castellonis* (Ballum) e 1 ao sorogrupo Pomona (sorovar ainda não definido) (Tabela 2).

TABELA 2

Resultado da serotipagem das 18 cepas isoladas de pacientes com leptospirose hospitalizados na cidade de São Paulo, a nível de sorogrupo e sorovar.

Nº Cepas	Sorogrupo	Sorovar	%
14	Icterohaemorrhagiae	<i>copenhageni</i>	77,78
2	Canicola	<i>canicola</i>	11,11
1	Ballum	<i>castellonis</i>	5,55
1	Pomona	não definido	5,55

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A técnica sorológica recomendada pela Organização Mundial da Saúde no diagnóstico da leptospirose é a reação de aglutinação microscó-

pica. Reações cruzadas com antígenos estreitamente relacionados são comuns por esse teste e nem sempre o maior título corresponde ao do sorogrupo infectante¹. Os estudos soroepidemiológicos existentes no Brasil, em geral, baseiam-se nesta reação^{9, 14}. Dados específicos a nível de sorovar infectante, no entanto, necessitam do teste de absorção de aglutininas. Essa caracterização depende do sucesso das tentativas de cultivo, ligadas diretamente às fases da doença quando da coleta de material e de uma infraestrutura laboratorial adequada. A sorotipagem implica em produção de anti-soros, manutenção de cepas de referência, preparo de meios de cultura especiais para o cultivo de leptospiros, além do aparato técnico. Face a esta complexidade, as informações disponíveis se restringem, frequentemente, ao conhecimento do provável sorogrupo infectante fornecido pela prova de aglutinação microscópica.

Um estudo retrospectivo sobre o diagnóstico laboratorial da leptospirose humana no Estado de São Paulo realizado por CORRÊA⁷ em amostras de 12.172 pacientes, recebidas pelo Instituto Adolfo Lutz no período de 1947 a 1968, processadas pela reação de aglutinação microscópica, evidenciou o sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* em 89,75% dos casos positivos. Foram obtidos 9 isolamentos nesse período, dos quais 7 do sorovar *icterohaemorrhagiae*, 1 do *andamana* e 1 do *wolffi*. O autor justificou o pequeno número de cepas isoladas em razão da procura dos pacientes aos serviços médicos geralmente após a fase septicêmica, já medicados com penicilina e à pouca solicitação dos exames de cultura por fatores de entrosamento.

Em amostras de soro recebidas pelo Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, no triênio 1986-89, SAKATA et alii¹⁹, verificaram que *Icterohaemorrhagiae* era prevalente em 69,9% das amostras positivas, secundado por *Canicola* com 5,9%.

Aquele sorogrupo demonstra o seu predomínio também em epidemias ocorridas na cidade de Recife nos anos de 1966, 1970 e 1975^{3, 8, 17} e na cidade de Salvador em 1978⁴. Das 9 cepas isoladas em Recife (1970), 8 foram identificadas como pertencentes ao sorovar *icterohaemorrhagiae* e 1 ao *grippotyphosa*. Os 2 cultivos positivos ob-

tidos em 1975 foram sorotipados como sendo *icterohaemorrhagiae*.

Analisando amostras de soro humano por essa mesma técnica, recebidas entre os anos 1970 e 1982, ANDRADE & BRANDÃO² constataram a positividade de 76,4% dos casos do Grande Rio para *Icterohaemorrhagiae*, percentual esse elevado a 84,9% quando maior título era compartilhado com outros sorogrupos. As 2 cepas isoladas nesse período também pertenceram a esse sorogrupo.

De acordo com esses estudos, *Icterohaemorrhagiae* se sobressai como o sorogrupo prevalente e *icterohaemorrhagiae*, apesar do pequeno número de isolamentos, como o principal sorovar infectante em casos humanos.

Neste trabalho, os resultados dos testes de absorção de aglutininas nas cepas isoladas pelo Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, agruparam 77,78% em *Icterohaemorrhagiae*, enquanto que a nível de sorovar, *copenhageni* prevaleceu em 100% dentro deste sorogrupo.

Anteriormente, este sorovar foi isolado por YASUDA²², de cães errantes da cidade de São Paulo e por PEREIRA & ANDRADE¹⁸, em uma investigação sobre a prevalência de leptospiros em roedores capturados de uma favela em zona urbana da cidade do Rio de Janeiro. CORDEIRO & SULZER⁶ também identificaram como *copenhageni*, uma cepa obtida de cão em Belo Horizonte.

O uso comum do ambiente pelo homem e por animais, em face da crescente urbanização, as condições precárias de saneamento básico, a falta de medidas preventivas para as situações de risco, são fatores que tornam possível e mais freqüente a contaminação do homem. Os achados deste estudo ressaltam a importância do sorovar *copenhageni* nos casos de leptospirose humana em São Paulo e a necessidade de se rever a real prevalência do sorovar *icterohaemorrhagiae* até então majoritário, através de tentativas sistemáticas de isolamentos de leptospiros e sua identificação, no sentido de elucidar os sorovares mais comuns em nosso meio e fundamentar os estudos epidemiológicos desta zoonose.

SUMMARY

Serovars of *Leptospira interrogans* isolated from human leptospirosis in São Paulo, Brazil.

Eighteen strains of *L. interrogans* isolated from human cases were serotyped by the Agglutinin-absorption test at Instituto Adolfo Lutz in São Paulo, Brazil. Fourteen were identified as serovar *copenhageni* (Icterohaemorrhagiae serogroup), 2 as *canicola* (Canicola serogroup), 1 as *castellonis* (Ballum serogroup) and 1 as *Pomona* serogroup (serovar not yet defined). The frequency of serovar *copenhageni* in 100% of the isolates in Icterohaemorrhagiae serogroup is emphasized and more studies to verify the real serovars prevalence as subsidy to the epidemiology of this infection are suggested by the authors.

AGRADECIMENTOS

À valiosa colaboração de Marina Xavier Richter, Lucília Martins dos Santos e Andrés Avelino Baez, do Setor de Animais Inoculados e Sangria, à Altair Santana de Carvalho e Angela Pires Brandão do Setor de Leptospirose, à Sara Tetner Burstein, da Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz e às Instituições pelo envio de amostras dos pacientes, que tornaram possível a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALSTON, J. M. & BROOM, J. C. — *Leptospirosis in man and animals*. Edinburg, E & S Livingstone, 1958.
2. ANDRADE, J. & BRANDÃO, A. P. — Contribuição ao conhecimento da leptospirose humana, com especial referência ao Grande Rio, Brasil, no período de 1970 a 1982. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 82: 91-100, 1987.
3. AZEVEDO, R. & CORRÊA, M. O. C. — Considerações em torno da epidemia de leptospirose na cidade de Recife em 1966. Aspectos epidemiológicos, laboratoriais e clínicos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 28: 85-111, 1968.
4. CALDAS, E. M.; SAMPAIO, M. B.; COSTA, E. & MIRANDA, G. — Estudo epidemiológico de surto de leptospirose ocorrido na cidade do Salvador, Bahia, em maio e junho de 1978. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39: 85-94, 1979.
5. COCKBURN, T. A.; VAVRA, J. D.; SPENCER, S. S.; DANN, J. R.; PETERSON, L. J. & REINHARD, K. R. Human leptospirosis associated with a swimming pool, diagnosed after eleven years. *Amer. J. Hyg.*, 60: 1-7, 1954.
6. CORDEIRO, F. & SULZER, C. R. — *Leptospira interrogans*, serovar *copenhageni* isolated from a dog in Belo Horizonte, Brazil. *Rev. Microbiol.* (São Paulo), 14: 38-41, 1983.
7. CORRÊA, M. O. A. — Leptospiroses em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30: 29-37, 1969/1970.
8. CORRÊA, M. O. A.; HYAKUTAKE, S. & AZEVEDO, R. — Considerações sobre novo surto epidêmico de leptospirose na cidade de Recife em 1970. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 82-87, 1972.
9. CORRÊA, M. O. A. & MEARIM, A. B. — Leptospiroses no Brasil. Levantamento bibliográfico de 1917 a 1970. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31: 87-101, 1971.
10. FAINE, S., ed. — *Guidelines for the control of leptospirosis*. Geneva, WHO, 1982 (Offset Publ. N° 67).
11. KMETY, E.; GALTON, M. M. & SULZER, C. R. — Further standardization of the Agglutinin-absorption Test, in the Serology of Leptospire. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 42: 733-738, 1970.
12. KRIEG, N. R. & HOLT, J. G., ed. — *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984. V. 1.
13. LIMA, S. C.; SAKATA, E. M.; ROCHA SANTO, C. E.; YASUDA, P. H.; STILIANO, S. V. & RIBEIRO, F. A. — Surto de leptospirose por atividade recreacional no Município de São José dos Campos, São Paulo. Estudo soroepidemiológico. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32: 474-479, 1990.
14. MEARIM, A. B. & CORRÊA, M. O. A. — Leptospiroses no Brasil. Levantamento bibliográfico de 1971 a 1977. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37: 131-140, 1977.
15. MYERS, D. M. — *Manual de Metodos para el diagnostico de laboratorio de la leptospirosis*. Buenos Aires, OPAS Centro Panamericano de Zoonosis, 1985 (Nota técnica n° 30).
16. NELSON, K. E.; AGER, E. A.; GALTON, M. M.; GILLESPIE, R. W. H. & SULZER, C. R. — An outbreak of leptospirosis in Washington State. *Amer. J. Epidem.*, 98: 336-347, 1973.
17. OLIVEIRA, V. J. C.; ROCHA, J. M. B.; SILVA, G. B. & CABRAL, C. L. N. — Considerações sobre novo surto epidêmico de leptospirose humana na Grande Recife, Brasil, em 1975. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37: 33-36, 1977.
18. PEREIRA, M. M. & ANDRADE, J. — Epidemiological aspects of leptospirosis in a slum area in city of Rio de Janeiro, Brazil. Search for leptospire and specific antibodies in rodents. *Trans. roy. soc. trop. Med. Hyg.*, 82: 768-770, 1988.
19. SAKATA, E. E.; ROMERO, E. C.; YASUDA, P. H. & STILIANO, S. V. — Leptospirose humana no Estado de São Paulo, triênio 1986-1988. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 15, Ribeirão Preto, 1989. *Resumos*. São Paulo, CODAC, 1989. *Rev. Microbiol.* (S. Paulo), 20: (Supl. 1): 232, 1989.

SAKATA, E. E.; YASUDA, P. H.; ROMERO, E. C.; SILVA, M. V. & LOMAR, A. V. — Sorovares de *Leptospira interrogans* isolados de casos de leptospirose humana em São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 34(3): 217-221, 1992.

20. SCHAEFFER, M. — Leptospiral meningitis: an investigation of water-borne epidemic due to *L. pomona*. *J. clin. Invest.*, 30: 670-671, 1951.
21. SULZER, C. R. & JONES, W. L. — *Leptospirosis: Methods in laboratory diagnosis*. Revised ed. Atlanta, Centers for Disease Control, 1980.
22. YASUDA, P. H. — *Leptospirose em cães errantes na cidade de São Paulo*. São Paulo, 1979. [Tese de doutorado — Instituto de Ciências Biomédicas da USP].

Recebido para publicação em 28/8/1991.

Aceito para publicação em 19/3/1992.