

## AVALIAÇÃO DO TESTE ELISA-IgM NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DA LEPTOSPIROSE HUMANA

Eide Dias CAMARGO(1), Marcos Vinicius da SILVA(1,2), Luiza BATISTA(2), Adelaide José VAZ(1) & Elena Emiko SAKATA(1).

### RESUMO

Foram estudadas 37 amostras de sangue de pacientes com leptospirose, forma icterohemorrágica, com intervalo de tempo de 2 a 12 dias entre o início dos sintomas e a coleta do material. Isolou-se leptospiras por hemocultura de 5 (13,5%) pacientes e em 4 destes, o agente etiológico pertencia ao sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* sorovar *copenhagensi*.

O teste imunoenzimático ELISA-IgM apresentou reatividade em 35 (94,6%) pacientes, incluindo os 4 pacientes dos quais o agente etiológico foi isolado. Este teste demonstrou ser um importante recurso laboratorial para o diagnóstico da leptospirose humana, mesmo no início da doença quando ainda na fase de leptospiemia.

**UNITERMOS:** Leptospirose humana; Anticorpos IgM; Teste ELISA-IgM.

### INTRODUÇÃO

Os antecedentes epidemiológicos e os achados clínicos nem sempre são critérios suficientes para fins diagnósticos na leptospirose humana. O suporte laboratorial empregando testes sorológicos sensíveis e específicos, como a soroaglutinação e os testes imunoenzimáticos, têm contribuído para o diagnóstico clínico e soropidemiológico desta patologia<sup>2</sup>. ADLER et al., 1980<sup>1</sup>; BARANTON et al., 1989<sup>2</sup>; FAINE, 1982<sup>3</sup>; MAILLOUX et al., 1984<sup>7</sup>, têm mostrado a importância do teste imunoenzimático como recurso laboratorial no diagnóstico da leptospirose humana. Com este propósito, estudou-se o comportamento do teste ELISA para a detecção de anticorpos específicos da classe IgM, no início dos sintomas desta doença, em pacientes com a forma icterohemorrágica.

### MATERIAL E MÉTODOS

1. Amostras de sangue de 37 pacientes com leptospirose, forma icterohemorrágica

(síndrome de Weil), diagnosticados clínica e laboratorialmente pela reação de soroaglutinação microscópica - SAM. Desses pacientes, 36(97,3%) eram do sexo masculino e 1(2,7%) do feminino, com idades entre 12 e 56 anos (X = 30,9 anos). As amostras foram colhidas por punção venosa periférica no momento da admissão hospitalar e divididas para hemocultura e sorologia.

2. Teste imunoenzimático ELISA para detecção de anticorpos específicos da classe IgM para a leptospirose humana, empregando como antígenos leptospiras dos sorovares *canícola*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *cynopteri* e *brasiliensis*, em mistura antigênica, conforme metodologia descrita por SILVA et al.<sup>10</sup>.

3. Hemoculturas: Foram obtidas pela inoculação de uma, duas e cinco gotas de sangue em 3 tubos, respectivamente, contendo 5 ml de meio de Fletcher, incubadas a 28-30°C<sup>5</sup>. A semeadura foi realizada imediatamente após a coleta do sangue com o objetivo de isolar o agente etiológico, perfazendo um total de 111 hemoculturas. As hemoculturas foram exami-

(1) Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

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

Endereço para correspondência: Dr<sup>a</sup> Eide Dias Camargo. Instituto Adolfo Lutz - Seção de Sorologia, 10º andar. Av. Dr. Arnaldo, 351 - Caixa Postal nº 7027. CEP 01246, São Paulo, SP, Brasil.

nadas semanalmente em microscopia de campo escuro para se detectar a presença de leptospiros, durante 2 meses. As leptospiros isoladas foram tipadas segundo metodologia descrita por KMETZ et al., 1970<sup>6</sup>.

## RESULTADOS

No grupo de 37 pacientes estudados, 26(70,3%) referiram antecedentes epidemiológicos para leptospirose.

O período entre o provável momento da infecção e o início dos sintomas oscilou entre 6 e 30 dias ( $\bar{X}$ =15,2 dias). O intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta das amostras foi de 2 a 10 dias ( $\bar{X}$ =5,9 dias).

Dos 37 pacientes estudados, o teste ELISA-IgM foi positivo em 35 (94,6%) e negativo em 2(5,4%). Dos negativos, 1 pertencia ao grupo de 4 a 6 dias do início dos sintomas e o outro, de 6 a 8 dias (Tabela 1).

O isolamento de leptospiros, na hemocultura, ocorreu em 5 pacientes (13,5%). Dessas hemoculturas foi possível identificar em 4, leptospiros que pertenciam ao sorogrupo *Ictero-haemorrhagiae*, sorovar *copenhageni*.

Destes 5 pacientes, 2 incluíam-se no intervalo de tempo de 4 a 6 dias entre o início dos sintomas e a coleta do sangue, sendo um positivo pelo teste ELISA-IgM, os outros três também positivos pelo mesmo teste, incluíam-se no intervalo de 8 a 10 dias.

Dos 32(86,5%) pacientes com hemoculturas negativas, 31(83,8%) foram positivos pelo teste imunoenzimático (Tabela 1). O teste ELISA-IgM também foi positivo nos quatro pacientes incluídos no intervalo de 2 a 4 dias entre o início de sintomas e coleta de amostras,

confirmando sua eficácia na detecção de anticorpos na fase precoce da doença.

## DISCUSSÃO

A hemocultura, realizada na fase inicial da doença, é o método diagnóstico que permite isolamento e identificação da leptospiros no sangue<sup>8</sup>, no entanto, este método apresenta baixa positividade. CORRÊA et al.<sup>4</sup>, estudando 56 pacientes com leptospirose, obtiveram isolamento em hemocultura de 9(16,1%) pacientes e OLIVEIRA et. al.<sup>9</sup>, estudando 72 pacientes, obtiveram isolamento em 2(2,8%) pacientes. No período de 1947 a 1968 CORRÊA<sup>3</sup>, em estudo realizado em São Paulo, cita 6 casos isolados em hemocultura. No presente estudo, o isolamento de leptospiros de hemocultura, ocorreu apenas em 5(13,5%) dos 37 pacientes.

Vários fatores têm sido relacionados à baixa sensibilidade das hemoculturas. Entre eles, a interferência de anticorpos específicos presentes no sangue, a dificuldade de crescimento "in vitro" do microorganismo, mesmo em meios enriquecidos e o uso precoce e indiscriminado de antibióticos.

A necessidade de se dispor de metodologia laboratorial que venha superar a baixa sensibilidade e as dificuldades técnicas da hemocultura, tem motivado o emprego de técnicas que possibilitem diagnóstico rápido e seguro na leptospirose humana. O teste ELISA permite o diagnóstico laboratorial de forma indireta, pela detecção, no soro do paciente, de anticorpos específicos IgM. Diversos autores<sup>1,5,7</sup> têm mostrado a eficácia deste teste quando comparado ao teste referência (SAM), no entanto BARANTON<sup>2</sup> cita a importância do

Tabela 1

Resultados do teste ELISA-IgM e da hemocultura em 37 pacientes com leptospirose forma icterohemorrágica em relação ao intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta de amostra de sangue.

intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta da amostra de sangue		ELISA-IgM				HEMOCULTURA			
		POSITIVO		NEGATIVO		POSITIVO		NEGATIVO	
		n	%	n	%	n	%	n	%
2-	4	4	10,8	-	-	-	-	4	10,8
4-	6	10	27,0	1	2,7	2	5,4	9	24,3
6-	8	15	40,5	1	1,7	2	5,4	14	37,8
8-	10	6	16,3	-	-	1	2,7	5	13,6
Total		35	94,6	2	5,4	5	13,5	32	86,5

emprego de sorovar de *Leptospira* prevalente na região, como antígeno.

Verificou-se que em 94,6% dos 37 pacientes estudados, o teste ELISA-IgM foi sensível e precoce e dentre os 5 pacientes dos quais se isolou leptospira em hemocultura, 4(80%) foram positivos pelo mesmo teste. Portanto, com o emprego das duas metodologias, 36(97,3%) pacientes foram confirmados quanto ao diagnóstico, com vantagens significativas para o teste imunoenzimático.

O teste ELISA-IgM permitiu constatar a concomitância de leptospiemia e o aparecimento de anticorpos IgM, mostrando-se eficiente quando aplicado no diagnóstico precoce da leptospirose humana.

### SUMMARY

#### EVALUATION OF IgM ELISA ASSAY IN THE EARLY DIAGNOSIS OF HUMAN LEPTOSPIROSIS.

Thirty-seven sera samples from patients with leptospirosis icterohaemorrhagic form were studied with a time interval of 2 to 12 days between the beginning of the symptoms and the collection blood samples. It was isolated leptospira of 5 patients' hemocultures (13.5%) and from 4 of these the etiological agent pertained to the serogroup Icterohaemorrhagiae serovar *copenhageni*. Thirty-five of them (94.6%), including the four patients whose the etiological agent was isolated, showed reactivity in the enzyme linked immunosorbent (ELISA) IgM test. By this way, it was demonstrated that this test is important for a rapid diagnosis of human leptospirosis, even in the beginning of the disease, when there is still leptospiraemic phase.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADLER, B.; MURPHI, A.M.; LOCARNINI, S.A. & FAINE, S. - Detection of specific anti-leptospiral im-

munoglobulin M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *J. clin. Microbiol.*, 11:452-457, 1980.

2. BARANTON, G. & POSTIC, D. - Méthodes de laboratoire. Leptospirose-Borreliose de Lyme. Commission des laboratoires de référence et d'expertise de L'Institute Pasteur, 1989.
3. CORRÊA M.O.A. - Leptospirosis em São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30:29-37, 1969/70.
4. CORRÊA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S. & AZEVEDO, R. - Considerações sobre novo surto epidêmico de leptospiroses na cidade do Recife em 1970. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32:83-87, 1972.
5. FAINE, S., ed. - Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva, World Health Organization, 1982. (WHO off-set publication N°67).
6. KMETY, E.; GALTON, M.M. & SULZER, C.R. - Further standardization of the agglutinin - absorption test in the serology of leptospirosis. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 42:733-738, 1970.
7. MAILLOUX, M.; DUFRESNE, Y.; MAZZONELLI, J. & MAZZONELLI, G.T.D. - Intérêt de la méthode ELISA dans le diagnostic des leptospiroses. *Med. Mal. infect.*, 14:107-109, 1984.
8. Manual de controle da leptospirose/Ministério da Saúde - Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, Divisão Nacional de Zoonoses. Brasília, 1989. (Série A: Normas e manuais técnicos, 48).
9. 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.
10. SILVA, M.V.; CAMARGO, E.D.; VAZ, A.J.; SOUZA, A.M.C.; CHIEFFI, P.P. & SAKATA, E.E. - Imunodiagnóstico da leptospirose humana através do teste ELISA-IgM, empregando-se diferentes preparações antigênicas a partir de sorotipos prevalentes de *Leptospira interrogans*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32:233-239, 1990.

Recebido para publicação em 24/09/1991  
Aceito para publicação em 21/05/1992