



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da Saúde

Leptospirose: uma doença endémica em São Miguel

Regina Saudade Medeiros

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Doutor António Guerra Maio
Coorientador: Doutor Hugo Brancal

Covilhã, abril de 2019

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu orientador, o Doutor António Maio, que foi incansável na orientação durante a elaboração desta monografia.

Ao Dr. Hugo Brancal, o meu coorientador pelo seu incentivo e apoio.

Também gostaria de agradecer à Investigadora Doutora Maria Luísa Vieira, do Hospital do Divino Espírito Santo E.P.E, que tem focado grande parte do seu trabalho nesta área, por ser tão prestável e ter-se disponibilizado, de imediato, para me ajudar em todos os aspetos da realização desta monografia.

Gostaria, por fim, de agradecer aos meus pais, irmão e amigos pelo apoio, interesse e entusiasmo em todo o meu percurso.

Resumo

A Leptospirose é uma zoonose com distribuição mundial causada por espiroquetas patogénicas do género *Leptospira*. Os reservatórios principais são os roedores podendo, outros mamíferos (como suínos e bovinos) excretar este agente pela urina durante meses ou anos.

Esta doença infecciosa reemergente é considerada um importante problema de Saúde Pública em São Miguel-Açores, onde constitui uma doença endémica. Determinados contextos profissionais, socioeconómicos e ambientais favorecem a endemicidade da doença, facilitando a exposição humana à doença. Nos últimos anos, o elevado número de casos humanos com desfecho fatal aumentou o interesse na identificação precoce de fatores de risco e potenciais fontes de infeção, enfatizando a importância do reconhecimento dos mesmos e prevenção da transmissão da doença.

Neste trabalho procede-se a uma revisão sistemática da literatura sobre a leptospirose, com enfoque nas características da doença em São Miguel, dados epidemiológicos, particularidades da doença, espécies mais frequentes e fatores de risco que justificam a sua endemicidade.

Palavras-chave: Leptospirose, Doença de Weil, Doença endémica, São Miguel, Espiroquetas.

Abstract

Leptospirosis is a zoonosis with a worldwide distribution caused by pathogenic spirochetes of the genus *Leptospira*. Main reservoirs are rodents, and other mammals (such as swine and cattle) and may excrete this agent through the urine for months or years.

This is a reemergent disease, being an important Public Health issue in São Miguel-Azores where it's an endemic disease. Certain professional, socioeconomic and environmental contexts favor endemicity of the disease, facilitating the exposure to disease. In recent years, high number of human cases with fatal outcome has increased the interest in early identification of risk factors and potential sources of infection, emphasizing the importance of their recognition and prevention of disease transmission.

This work consists of a systematic review of literature on leptospirosis, focusing the disease in São Miguel, epidemiological data, particularities of the disease, most common species and risk factors that justify its endemicity.

Key words: Leptospirosis, Weil's disease, Endemic disease, São Miguel, Spirochetes

Métodos

Fez-se uma revisão bibliográfica de artigos presentes na base de dados BOn, Mendeley e Scirp. Avaliaram-se artigos publicados depois de 2010 com base nas seguintes palavras-chave: “leptospirosis”, “Leptospirosis vaccine”, “Leptospirosis in São Miguel”, “leptospira”, “zoonosis”, entre outras. Alguns artigos prévios a essa data foram tidos em conta devido à sua importância. A pesquisa foi realizada desde setembro de 2018 a abril de 2019. A revisão está escrita cumprindo o acordo ortográfico.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract.....	vii
Métodos.....	ix
Índice	xi
Lista de Figuras.....	xiii
Lista de Quadros	xv
Lista de Acrónimos.....	xvii
Leptospirose: revisão sistemática	
Introdução.....	1
Definição	2
Retrospectiva histórica.....	3
Epidemiologia.....	5
Caracterização das leptospiras	7
Morfologia, motilidade e divisão	7
Fisiologia e metabolismo	8
Características culturais.....	8
Características genómicas.....	9
Classificação e taxonomia.....	10
Classificação antigénica/tradicional	10
Classificação genotípica/molecular	11
Reservatório e transmissão.....	12
Quadro clínico	14
Diagnóstico laboratorial	17
Métodos diretos	17
Métodos indiretos	18
Diagnóstico diferencial	20
Tratamento	21
Prevenção	23
Prognóstico.....	25
Leptospirose: uma doença endêmica em São Miguel	
Problemática e relevância	27
A ilha de São Miguel	28
Conclusão	33
Bibliografia.....	35

Lista de Figuras

Figura 1 - Fotografia de microscopia eletrónica de <i>Leptospira</i>	7
Figura 2 - Ciclo de transmissão da <i>Leptospira sp</i>	12
Figura 3 - Esquema ilustrativo da clínica da Leptospirose.....	15
Figura 4 - Medidas de prevenção e controle da Leptospirose.....	24

Lista de Quadros

Quadro 1 - Reservatórios/hospedeiros dos serovares de <i>Leptospira interrogans s.l.</i> mais comuns em todo o Mundo	13
Quadro 2 - Testes de diagnóstico laboratorial para a Leptospirose, de acordo com a fase de evolução e produto biológico a analisar.....	19

Lista de Acrónimos

- ADN- Ácido desoxirribonucleico
DALYs- Disability-Adjusted Life Year
ELISA- Ensaio de imunoabsorção enzimática
IgG- Imunoglobulina G
IgM- Imunoglobulina M
IL- Interleucina
IV- Intravenosa
JH- Reação de Jarish-Herxheimer
Kg- Kilogramas
LCR- Líquor
LPS- Lipopolissacarídeos
MACROLepto- Técnica de Aglutinação Macroscópica sobre Lâmina
Meio de EMJH- Meio de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris
mg- Miligramas
MU- Milhões de unidades
PCR- Reação em cadeia de polimerase
PO- Per os
s.l.- Sensu lato
SDRA- Síndrome de dificuldade respiratória aguda
TAM- Teste de aglutinação modificado

Leptospirose: Revisão Sistemática

Introdução

A leptospirose é uma zoonose de distribuição mundial. Atualmente é considerada uma doença emergente, endémica em regiões tropicais e subtropicais, como é o caso da ilha de São Miguel, nos Açores onde a vasta pluviosidade, humidade e temperatura amena favorecem a sobrevivência e o desenvolvimento das Leptospiras.

Em 1960, a doença passou a ser considerada a maior zoonose mundial, pela Saúde Pública Veterinária da Organização Mundial de Saúde. Em Portugal, em 1987, tornou-se uma doença de notificação obrigatória (1).

A doença é causada por espiroquetas do género *Leptospira*, o qual é, na classificação convencional, constituído por espécies do complexo *Leptospira interrogans sensu lato (s.l.)* e *Leptospira biflexa (s.l.)*, patogénicas e saprófitas, respetivamente.

A leptospirose é contraída pelo contacto direto com a urina de animais infetados ou contacto com água ou solo contaminado. Os principais reservatórios da doença são os roedores, podendo também afetar outros mamíferos como os suínos, bovinos, equinos, ovinos e canídeos. Em São Miguel, devido à vasta atividade agrícola e pecuária, abundância de ribeiras e outros locais que constituem viveiros apropriados para o crescimento da população de roedores, existe uma potencialização do impacto desta zoonose (2). Por esses motivos, a leptospirose é considerada uma doença profissional/ocupacional que afeta principalmente agricultores, veterinários, trabalhadores de matadouros, de saneamento básico (recolha de lixo), operários da construção civil e militares. Atualmente tem também sido associada a atividades recreativas como desportos com grande exposição e contacto prolongado com água.

A leptospirose é considerada uma doença infecciosa com um amplo polimorfismo clínico, o que dificulta muitas vezes um diagnóstico correto. Este facto justifica a subnotificação da doença tornando-se indispensável a utilização de exames complementares de diagnóstico para a confirmação da mesma. A patologia é caracterizada por um quadro febril de início abrupto cujo espectro clínico pode variar desde quadros oligossintomáticos leves e de evolução benigna a formas graves. A síndrome de Weil é a expressão clássica da leptospirose grave sendo normalmente caracterizada por icterícia, insuficiência renal e hemorragias. No entanto, a hemorragia pulmonar tem sido reconhecida como uma forma grave e emergente da doença. A letalidade das formas graves de leptospirose é de aproximadamente 10% e chega a 50% quando ocorre a síndrome de dificuldade respiratória aguda (SDRA) decorrente da hemorragia pulmonar (3).

Definição

A Leptospirose é uma doença bacteriana causada por espiroquetas do género *Leptospira*, sendo uma zoonose de ampla distribuição geográfica. A sua incidência tem maior significado em regiões tropicais comparativamente às regiões temperadas, atingindo tanto áreas rurais como urbanas. A infeção tanto ocorre em países industrializados como em países em desenvolvimento sendo importante causa de doença no Homem e animais, podendo ter graves consequências ao nível da Saúde Pública.

Os animais são os hospedeiros primários, essenciais para a persistência de focos de infeção, enquanto que, os seres humanos são hospedeiros acidentais e, por isso, pouco eficientes na disseminação dos agentes causais.

A leptospirose é uma doença infecciosa de importância crescente não só pela influência das alterações climáticas no ciclo zoonótico mas também pelo risco de mortalidade e morbilidade associados a esta zoonose.

Retrospectiva Histórica

A doença em humanos foi descrita pela primeira vez em 1812 por Larrey.

Em 1881, em Praga, Weiss identificou uma doença com características semelhantes que denominou de “icterus catarrhalis”.

Posteriormente, entre 1882-1886, Adolf Weil realizou a primeira descrição da doença, cujas manifestações clínicas abrangiam icterícia severa, febre e hemorragias e, em algumas ocasiões, comprometimento renal. Esse quadro viria a ser conhecida como “Doença de Weil” e classificado como uma afeção de tipo ocupacional por, nessa altura, todos os afetados serem trabalhadores de esgotos. (4) Atualmente são designados por Doença de Weil os casos de leptospirose humana com complicações multiorgânicas, como a presença de icterícia e insuficiência renal, causados maioritariamente pelos serovares *Icterohaemorrhagiae* e *Copenhageni* do complexo *Leptospira interrogans* (s.l.) (5).

Em 1907, Stimson verificou que os organismos que observava apresentavam uma forma espiralada e as suas extremidades em forma de gancho (aparentando um ponto de interrogação) atribuindo-lhes a designação *Spirochaeta interrogans* (6).

Entre 1914 e 1915, a natureza contagiosa e a origem microbiana da doença foram comprovadas por Inada e Ido, no Japão, tendo a mesma descoberta sido feita em simultâneo e de forma independente por Uhlenhuth e Fromme na Alemanha. Em 1917, a equipa japonesa descreveu o papel dos roedores enquanto reservatórios silváticos das leptospiros permitindo iniciar a investigação sobre o ciclo de transmissão destes microrganismos (7).

Em Portugal, a doença humana foi confirmada bacteriologicamente, pela primeira vez, em 1931 por Luís Figueira. No entanto, em 1926, Ricardo Jorge fez o diagnóstico retrospectivo de um surto epidémico de 1914, associando-o à “Leptospirose icterohemorrágica” ou “Doença de Weil”. Apesar disso, só a partir de 1942 seriam estabelecidas as primeiras correlações entre os animais domésticos e os roedores e confirmada a sua importância como reservatórios naturais de algumas leptospiros. Até ao momento, em Portugal, foram confirmados quadros clínicos de Leptospirose humana por leptospiros dos serogrupos *Canicola*, *Pomona*, *Ballum*, *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Javanica*, *Australis*, *Sejroe* e *Icterohaemorrhagiae* (8).

Esta investigação foi retomada por Collares-Pereira nos anos oitenta, tanto ao nível dos reservatórios silváticos e domésticos, como do imunodiagnóstico humano (9).

Atualmente, os roedores são considerados os principais responsáveis pela disseminação global das leptospiros, sendo possível detetar casos de Leptospirose em todo o mundo. Para além de

“Doença de Weil“, têm sido atribuídas à Leptospirose outras denominações como, “Icterícia dos Apanhadores de Arroz” na China, “Febre Outonal” no Japão, “Doença dos Tratadores de Porcos” na Europa, “Gripe dos Trabalhadores dos Esgotos” nos Estados Unidos ou “Doença do Rato” no Arquipélago dos Açores.

Epidemiologia

Nas últimas décadas, a Leptospirose reemergiu como uma doença infecciosa de importância global, ocorrendo quer em áreas urbanas, quer em regiões rurais. A epidemiologia da doença varia de acordo com a área geográfica e o clima. Em regiões temperadas, a Leptospirose é considerada uma doença sazonal, com picos de incidência no Verão e/ou no Outono, sendo a temperatura o fator limitante para a sobrevivência das bactérias na natureza. Nos trópicos o pico de incidência ocorre nas épocas chuvosas (3).

Estima-se que anualmente ocorram mais de 500 000 de casos e 58 900 de mortes por leptospirose mundialmente. A maior proporção destes casos ocorre em homens em idade ativa, entre os 20 e os 49 anos (10).

Relativamente à morbilidade extrapolam-se que 290 milhões de DALYs (Disability-Adjusted Life Year) são perdidos por ano. Oitenta por cento da carga total (233 milhões de DALYs) são no sexo masculino. Para comparação, isto representa mais de 70% da carga global de cólera estimada pelo Global Burden of Disease em 2010. Estima-se que as regiões tropicais do Sul e Sudeste da Ásia, Pacífico Ocidental, América Central e do Sul e África apresentam a maior carga de doença da leptospirose (11).

Nos países desenvolvidos, a doença surge associada a determinados grupos de risco (veterinários, agricultores, mineiros, trabalhadores de saneamento, de pecuária, de matadouro, militares) e a certas atividades de lazer (jardinagem, canoagem, golfe, natação), que implicam um maior contacto, direto ou indireto, com a água, solo e/ou tecidos contaminados pela urina dos animais infetados, hospedeiros e reservatórios (12).

Nos últimos anos têm sido reportados grandes surtos de Leptospirose após períodos de elevada pluviosidade e inundações, motivo pelo qual, por vezes, se designa de “Doença das Chuvas”.

Em Portugal, a Região Centro e o Arquipélago dos Açores são as áreas geográficas com maiores taxas de infeção humana sendo, assim, consideradas áreas endémicas. Desde 1950 que a Leptospirose está integrada na lista de Doenças de Declaração Obrigatória. Cabe atualmente ao Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge e ao Instituto de Higiene e Medicina Tropical da Universidade Nova de Lisboa através da Unidade de Leptospirose e Borreliose de Lyme, enquanto laboratórios de referência nacionais para a leptospirose, declararem todas as estirpes infantantes registadas. No entanto, e apesar de ser uma doença de notificação obrigatória, o problema do subdiagnóstico persiste, não só em Portugal como em todo o mundo (13). A subnotificação da Leptospirose deve-se à falta de suspeita médica dado o acentuado polimorfismo clínico, às dificuldades técnicas do diagnóstico sorológico e/ou bacteriano, à ausência de meios complementares de diagnóstico e de sistemas de notificação apropriados

(sobretudo em regiões com graves carências financeiras) e à reduzida investigação epidemiológica para avaliar os potenciais fatores de risco. Assim sendo, e embora a Leptospirose seja considerada a zoonose mais amplamente disseminada no mundo, a respetiva incidência mundial está ainda por determinar (3).

A leptospirose apresenta-se com manifestações graves em 10% dos casos, correlacionando-se com uma taxa de mortalidade que varia de 5 a 15%. Quando há comprometimento pulmonar com hemorragia esta taxa pode chegar aos 50%. A mortalidade também está dependente da existência de fatores que influenciem negativamente o prognóstico da infeção, tais como a idade do doente ou doenças crónicas subjacentes (12).

A maioria dos doentes (90%) apresenta leptospirose anictérica, geralmente caracterizada por manifestações menos graves, registando uma taxa de mortalidade quase nula (12).

Caracterização das Leptospiras

Morfologia, motilidade e divisão

Estas bactérias têm 1-20 μm de comprimento por 0,1 μm de diâmetro. São organismos muito finos, sendo os únicos que atravessam os filtros com uma porosidade igual a 0,22 μm , o que permite a sua excreção renal.

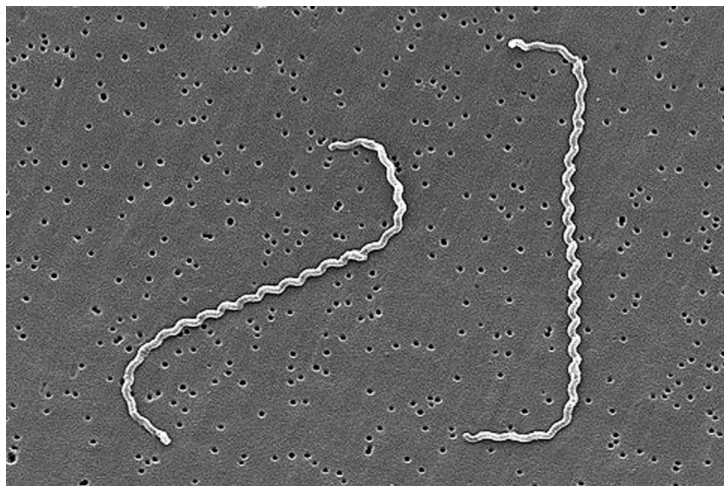


Figura 1- Fotografia de microscopia eletrônica de Leptospira (adaptado de https://pt.wikipedia.org/wiki/Leptospira_interrogans).

A motilidade é uma característica particular das leptospiras, admitindo-se que tem origem no filamento axial que atravessa toda a bactéria, conhecido como flagelo ou endoflagelo (5). Este flagelo encontra-se ligado à membrana celular que se contrai periodicamente (14).

Em microscopia eletrônica, observa-se que as leptospiras têm uma dupla membrana, característica que partilham com outras espiroquetas (3). Além disso, têm um envelope externo que circunda a membrana citoplasmática e a parede celular, sendo constituído por proteínas e lipopolissacarídeos (LPS), assumindo uma grande importância antigénica (5).

A observação direta é normalmente efetuada em microscópio de fundo escuro ou de contraste de fase, dada a sua reduzida dimensão e a fraca afinidade para as colorações comuns. As estruturas da superfície têm características das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas: a dupla membrana e a presença de LPS são características das bactérias Gram-negativas, enquanto a estreita associação entre a membrana citoplasmática e a parede celular é uma reminiscência da arquitetura do envelope das bactérias Gram-positivas. Apesar do referido são consideradas Gram-negativas (15).

A facilidade com que estas bactérias são transmitidas através da água sugere uma boa adaptação e uma constituição genética que lhes permite sobreviver em ambientes muito diversos (7).

Reproduzem-se por fissão binária transversal e a sua multiplicação não acontece fora do hospedeiro (16).

Fisiologia e metabolismo

As leptospiras são bactérias aeróbias obrigatórias que crescem preferencialmente em meios com um pH ligeiramente alcalino (7,2 - 7,6) e entre 28 a 30°C (5). Curiosamente, a leptospira é facilmente destruída pela ação do calor, mas sobrevive ao frio e à congelação a - 80°C durante meses. Por sua vez, a resistência aos desinfetantes químicos não é grande e são muito sensíveis a valores de pH ácido (17).

No ambiente externo, as leptospiras patogénicas não se multiplicam mas sobrevivem até seis meses na água ou no solo em pH ligeiramente alcalino (pH de 6.8 a 7.4), numa salinidade baixa e na ausência de radiação ultravioleta. Os serovares patogénicos são cerca de três a cinco vezes mais sensíveis à radiação ultravioleta do que os saprófitas (18).

Características culturais

As Leptospiras crescem em meios enriquecidos com ácidos gordos de cadeia longa, vitaminas B1 e B12, ferro e iões de amónio. O meio de crescimento mais comum é o Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), constituído por ácidos gordos de cadeia longa e soro de coelho ou albumina de soro bovino (14). Uma vez que as leptospiras são resistentes à atividade do 5-fluorouracilo, a adição deste análogo pirimidínico evita o crescimento excessivo de contaminantes, permitindo a adaptação das espiroquetas ao meio de cultura (14).

As leptospiras tornam-se diferentes na aparência e motilidade conforme a composição do meio em que se encontram. Em meio líquido o crescimento das leptospiras provoca a turvação do meio, dando origem a um aspeto de “nuvens” sempre que se agita o tubo de cultura. Em meio semissólido, o crescimento atinge uma densidade máxima numa zona junto à superfície (o anel de Dinger), onde a concentração de oxigénio é máxima. Contudo, a inexistência do anel não significa ausência de leptospiras (14).

O crescimento das leptospiras é lento, decorrendo 10 a 12 horas entre cada geração. Para se obter uma densidade ótima são necessários 7 a 10 dias, podendo prolongar-se até 13 semanas, o que torna a cultura do organismo bastante fastidiosa (5).

Características genómicas

Do ponto de vista molecular, o genoma das leptospiras é constituído por dois cromossomas circulares. A maior dimensão dos cromossomas nas leptospiras quando comparado com os de outras espiroquetas é, por si só, um indicador da capacidade de adaptação destas espiroquetas a diferentes reservatórios/hospedeiros e diferentes ambientes (14).

Classificação e Taxonomia

As leptospiras pertencem ao domínio Bacteria, filo Spirochaetes, classe “Spirochaetes”, ordem Spirochaetales que inclui duas famílias: Spirochaetaceae e Leptospiraceae, às quais, pertencem os três géneros de espiroquetas com impacto médico (*Borrelia*, *Treponema* e *Leptospira*) (19).

Atualmente coexistem dois sistemas de classificação: o antigénico/tradicional, baseado em características antigénicas dos LPS de superfície, e o genotípico/molecular baseado na análise do ácido desoxirribonucleico (ADN) leptospírico. Dadas as limitações inerentes aos dois sistemas de classificação ambas as abordagens coexistem e complementam-se, embora não sejam sobreponíveis. Por exemplo, as características fenotípicas utilizadas para diferenciar *L. interrogans* (patogénicas) de *L. biflexa* (saprófitas), no sistema antigénico, não diferenciam as espécies genómicas (20) e a mesma espécie genómica pode conter tanto leptospiras patogénicas como saprófitas (3). Na prática, quando se trabalha com novos isolados de *Leptospira*, os mesmos devem ser caracterizados por técnicas sorológicas e moleculares.

Classificação antigénica/tradicional

A unidade base desta classificação é o serovar, determinado pelo teste de aglutinação microscópica com absorção de aglutininas cruzadas (18).

Cada serovar é representado por uma estirpe de referência e os serovares com maior afinidade antigénica podem ser agrupados em serogrupos. A designação “serogrupo” não apresenta contudo significado em termos taxonómicos, revelando-se, no entanto, bastante útil do ponto de vista epidemiológico (21).

A classificação antigénica engloba duas espécies: *L. interrogans* que agrupa as estirpes patogénicas (260 serovares organizados em 25 serogrupos) e *L. biflexa* que agrupa as estirpes saprófitas (60 serovares organizados em 38 serogrupos), que se encontram principalmente em água doce e muito raramente infetam o homem e outros animais (22). Com efeito, esta abordagem antigénica/tradicional permite distinguir as estirpes patogénicas (*L. interrogans s.l.*), uma vez que estas formam células esféricas na presença de 8-azaguanina ou na presença de cloreto de sódio e não crescem a 13°C ao contrário das estirpes saprófitas (*L. biflexa s.l.*).

Classificação genotípica/molecular

A unidade base desta classificação é a espécie genómica, definida por apresentar um grau de homologia em hibridação do ADN igual ou superior a 70% e menos de 5% de divergência entre as temperaturas de fusão dos híbridos (23).

Estão identificadas 20 espécies genómicas dentro do género *Leptospira*, 14 patogénicas (*L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. interrogans sensu stricto (s.s.)*, *L. broomii*, *L. fainei*, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstrae*, *L. weilii* e *L. wolffii*) e 6 saprófitas (*L. biflexa (s.s.)*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* e *L. wolbachii*) (24).

Reservatório e Transmissão

O organismo infeta uma variedade de mamíferos selvagens e domésticos, nomeadamente, bovinos, suínos, canídeos, equinos, ovinos e caprinos, ocorrendo raramente em felinos. No entanto, são os roedores os principais hospedeiros, excretando altas concentrações de leptospiros (107 microrganismos por mililitro (mL) meses após a infeção inicial. Estes animais sobrevivem às *Leptospiras* por mecanismos de tolerância imunitária, tornando-se assintomáticos e eliminando as alojadas nos túbulos renais proximais por toda a vida, continuamente ou intermitentemente, através da urina. Este facto, associado à elevada capacidade de proliferação dos roedores, bem como à coabitação com o Homem em ambiente doméstico e peridoméstico, faz com que estes animais desempenhem um papel fundamental na manutenção e dispersão das referidas bactérias na natureza (25).



Figura 2 - Ciclo de transmissão de *Leptospira* sp. (adaptado de Benigno Rodrigues et al., 2013).

Entre os roedores, destacam-se os murinos dos géneros *Rattus*, *Mus* e *Apodemus* como principais reservatórios silváticos. Alguns insectívoros como o ouriço-cacheiro *Erinaceus europaeus* e o musaranho *Crocidura russula* parecem ter um papel relevante na dispersão natural de algumas leptospiros (1).

Algumas espécies de mamíferos aquáticos, marsupiais, aves, répteis e anfíbios foram igualmente descritos como hospedeiros de leptospiros (4). Em princípio, qualquer mamífero pode ser infetado por um dos 260 serovares da espécie patogénica *L. interrogans s.l.* mas, na prática, verifica-se uma relação preferencial de certos serovares por determinadas espécies animais. Por exemplo, o serovar Canicola associa-se aos canídeos domésticos, o serovar Pomona associa-se à infeção em bovinos e suínos e o serovar Icterohaemorrhagiae associa-se a roedores da espécie *Rattus norvegicus* (1). (Quadro 1)

Reservatórios/Hospedeiros	Serovar(es)
Ratazanas	Icterohaemorrhagiae, Copenhageni
Ratos	Ballum, Arborea
Vacas e ovelhas	Hardjo, Pomona
Cavalos	Bratislava
Cães	Canicola
Porcos	Pomona, Taravossi

Quadro 1 -Reservatórios/hospedeiros dos serovares de *Leptospira interrogans s.l.* mais comuns em todo o Mundo (adaptado de Bharti et al., 2003).

No entanto, é fundamental ter em conta que a associação dos serovares patogénicos com determinadas espécies animais não é exclusiva, podendo variar de região para região devido às diferentes condições ecológicas. Deste modo, o mesmo serovar pode estar adaptado a mais do que um hospedeiro (4,26).

A Leptospirose humana está sempre relacionada com uma fonte de contágio animal, sendo considerada globalmente como uma zoonose. O contacto acidental com o meio exterior contaminado pela urina dos animais infetados (solo, água e/ou alimentos) constitui a principal via de transmissão da *Leptospira*. O contágio pode ocorrer através das mucosas nasal, oral, conjuntival, anal e genital ou da pele lesionada ou intacta se sujeita a uma exposição prolongada (14).

A fase de excreção das bactérias pela urina, designada leptospirúria, pode levar semanas, meses ou mesmo anos. Enquanto os animais podem desenvolver uma condição de leptospirose crónica, em que as bactérias crescem e se mantêm nos túbulos proximais renais ou persistem no trato genital, os humanos sofrem episódios agudos, algumas vezes com graves sequelas, mas raramente se comportam como hospedeiros crónicos (27).

Os animais portadores convalescentes são os que mais contribuem para a manutenção dos focos de infeção, uma vez que permanecem nesta condição durante muito tempo (meses ou anos) (28).

Os animais podem ser assintomáticos ou desenvolver infeção clínica, o que pode ser fatal. O aborto espontâneo é uma consequência comum da infeção em bovinos, suínos, ovinos e caprinos. A mortalidade em cães é estimada em aproximadamente 10% (12). A infeção transplacentária ocorre, mas a taxa de transmissão fetal e o tipo e a frequência das complicações fetais são desconhecidos. Numa revisão sistemática de 14 gravidezes em mulheres com infeção ativa houve oito abortos espontâneos, quatro lactentes com infeção ativa e dois neonatos saudáveis. Outra série de 11 casos observou risco de aborto ou morte fetal em mais de 50% das ocasiões. As informações sobre sequelas em neonatos sobreviventes são escassas (12).

Quadro Clínico

As manifestações clínicas da Leptospirose são muito variáveis, e muitas vezes os casos são assintomáticos ou subclínicos.

A Leptospirose pode assumir duas formas clínicas distintas: a forma anictérica e a forma ictérica. Em qualquer das formas é possível delinear duas fases distintas: a fase de leptospirémia/septicémica e a fase de leptospirúria/imunológica. Após invadirem o organismo, as leptospirosas dissipam-se pela corrente sanguínea e desaparecem gradualmente da circulação. Nos tecidos fixam-se por migração transendotelial (preferencialmente no rim), multiplicando-se localmente e causando vasculite sistémica, isquemia do córtex renal e necrose das células epiteliais tubulares. Em simultâneo, surgem os anticorpos específicos associados à resposta humoral. O período de incubação da doença é de cerca de 7 a 12 dias (4).

Na apresentação anictérica, a fase de leptospirémia dura cerca de 3 a 7 dias e caracteriza-se por um início abrupto com febre alta, calafrios, cefaleias intensas, mialgias e prostração. As mialgias envolvem caracteristicamente os músculos da região gemelar, mas podem afetar também as coxas, regiões paravertebrais e abdómen, simulando uma síndrome gripal. Podem ocorrer anorexia, náuseas, vômitos, obstipação ou diarreia, artralgias, sufusão conjuntival, fotofobia e dor ocular, bem como hepatomegalia e, mais raramente, hemorragia digestiva (melenas, enterorragias), esplenomegalia e pancreatite. O exantema cutâneo ocorre em 10-20% dos doentes e apresenta-se sob a forma de eritema macular, papular, urticariforme ou purpúrico, distribuído pelo tronco e membros. Depois de um 1 a 3 dias sem sintomatologia inicia-se a fase de leptospirúria caracterizada pela eliminação de leptospirosas na urina e o aparecimento dos primeiros anticorpos de imunoglobulina M (IgM) anti-Leptospira. Esta fase dura cerca de 4-30 dias e pode apresentar-se com febre, cefaleias e vômitos ligeiros. É nesta fase que a meningite asséptica pode ocorrer (em 50 a 85% dos casos). Mesmo quando não ocorre pode surgir pleocitose linfocitária e proteinorráquia no líquido. A recidiva da febre, após 1 a 3 dias de apirexia, marca o perfil bifásico característico da curva térmica, extremamente sugestivo de Leptospirose (5).

A sufusão conjuntival é um sinal importante, ocorrendo em 55% dos pacientes. Este não é um achado comum em outras doenças infecciosas, e a sua presença em um paciente com doença febril inespecífica deve aumentar a suspeita de leptospirose (12).

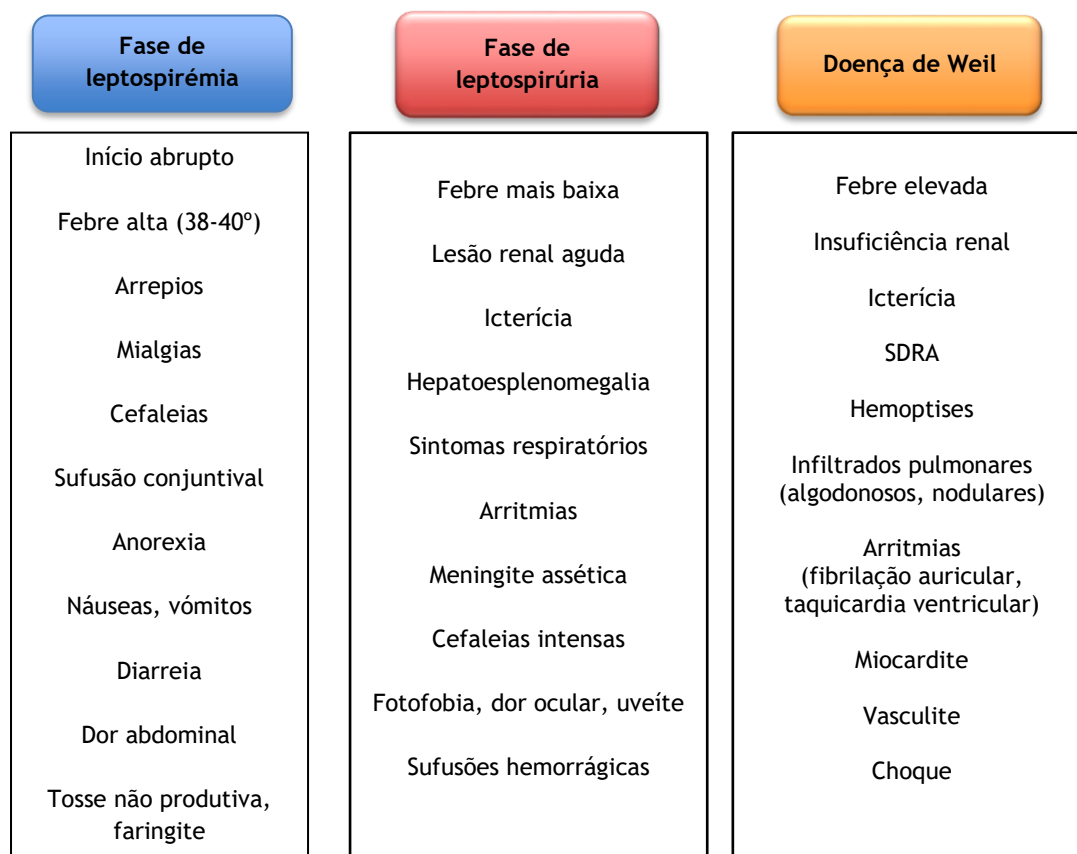


Figura 3- Esquema ilustrativo da clínica da Leptospirose. Adaptado de Valdoleiros S, 2018.

Na apresentação ictérica, também chamada de “Doença de Weil”, os sintomas e sinais que precedem a icterícia são mais intensos, destacando-se as mialgias. A icterícia rubínica, de tonalidade alaranjada, bastante intensa e característica, tem geralmente início entre o 3º e o 7º dia da fase de leptospirémia. Na fase de leptospirúria pode ocorrer hepatite aguda, colecistite aguda, colangite e sépsis com icterícia. Também podem surgir manifestações hemorrágicas digestivas, pulmonares, no sistema nervoso central, cutâneas (petéquias e equimoses) e até coagulação intravascular disseminada. Pode, ainda, ocorrer o choque e alterações ao estado de consciência. Apesar de ocorrer frequentemente disfunção hepática, esta raramente é causa de morte. A lesão renal quando presente manifesta-se por proteinúria, hematúria, oligúria e azotémia. É de salientar, que o envolvimento renal se manifesta tanto na forma ictérica como anictérica, mas os sintomas só se evidenciam no primeiro caso, como uma insuficiência renal não oligúrica associada a hipocalcemia (23). O caráter bifásico da doença não é tão claro nesta apresentação. Geralmente, a existência conjunta de um quadro infeccioso agudo com sinais hemorrágicos, icterícia e insuficiência renal, com ou sem síndrome meníngea, é claramente sugestivo da Doença de Weil. (5). Nas formas ictéricas da leptospirose, os níveis elevados de bilirrubina são devidos a danos hepatocelulares e ruptura de junções intercelulares entre hepatócitos, resultando em extravasamento de bilirrubina para fora dos canalículos biliares. Esta apresentação é grave, sendo fatal em 5 a 10% dos casos.

A forma mais frequente de apresentação da doença é uma síndrome gripal, com ou sem sintomatologia respiratória, ocorrendo por vezes quadros bronquíticos ou broncopneumónicos mais ou menos graves que justificam a inclusão desta patologia na lista de diagnóstico diferencial das pneumonias atípicas (23).

Geralmente os leucócitos são menores que 10 000 /uL (podem variar entre 3 000 e 26 000), acompanhando-se de neutrofilia na maioria dos doentes. A trombocitopenia também pode ocorrer (29).

A leptospira possui uma proteína na sua membrana externa que inibe a atividade do cotransportador Na⁺K⁺Cl⁻ na ansa de Henle ascendente, resultando em hipocalemia e hiponatremia (12,29).

Metade dos pacientes apresentam uma elevação da creatina, podendo ser um indício do desenvolvimento de insuficiência renal aguda. A análise à urina frequentemente demonstra proteinúria, piúria, cilindros granulares e, ocasionalmente, hematúria microscópica (12).

Relativamente à função hepática ocorre um aumento mínimo a moderado das transaminases hepáticas (maioritariamente são inferiores a 200 UI/ L) e uma elevação da bilirrubina conjugada. Em 50% dos doentes registam-se valores elevados de creatina quinase associados à ocorrência de rabdomiólise (12).

A radiografia de tórax pode demonstrar pequenas densidades nodulares, que podem progredir para confluentes consolidações ou aparência de vidro fosco. Patologicamente, esses infiltrados podem representar hemorragia alveolar, SDRA ou edema pulmonar (29).

Diagnóstico Laboratorial

Um alto índice de suspeição é necessário para fazer o diagnóstico baseado, uma vez que os achados clínicos e laboratoriais não são específicos. Assim, é essencial uma boa colheita de história clínica com enfoque nas questões epidemiológicas e nas manifestações clínicas.

No cenário da existência de uma suspeita clínica de leptospirose e na ausência de resultados laboratoriais, a administração empírica do tratamento é indicada.

Apesar disso, a análise laboratorial é imprescindível na confirmação dos casos de Leptospirose humana. A pesquisa do agente pode ser feita por métodos diretos ou indiretos. O método de pesquisa selecionado, em cada caso, depende fundamentalmente dos dias de evolução da doença e da fase do ciclo biológico das leptospiras no organismo (30).

Se a infecção tiver uma evolução superior a dez dias devem ser colhidas amostras de sangue ou líquido. Se superior a esse período deve utilizar-se a urina, dado que a bactéria estará alojada nos túbulos renais.

Métodos diretos

Os métodos diretos contemplam a microscopia, as culturas e a amplificação do ADN.

A microscopia em campo escuro é o método microscópico mais utilizado, que permite a visualização direta da bactéria, com a sua morfologia e motilidade características. Contudo, apresenta baixa sensibilidade e especificidade e não fornece dados sobre a patogenicidade e o serovar da espiroqueta (31).

O exame cultural é muito demorado e requer meios de cultura específicos como o meio EMJH e condições ótimas para o crescimento da bactéria, uma vez que *Leptospira* não tem a capacidade de fermentar glicose, utilizando exclusivamente as cadeias longas de ácidos gordos para produzir energia. No entanto, permite o diagnóstico definitivo e é crucial para estudos epidemiológicos (29).

A técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) tem utilidade na amplificação do ADN leptospírico do soro, urina, humor aquoso e tecidos de diferentes órgãos. Esta técnica identifica a presença de *Leptospira* precocemente, ainda antes dos anticorpos serem detetáveis (32).

Os diagnósticos moleculares têm um papel estabelecido para o diagnóstico de leptospirose e fornecem um diagnóstico no quadro agudo. O uso de PCR de transcrição reversa em tempo real para testar soro/plasma e líquido, pode melhorar a detecção de *Leptospira* sem diminuir a especificidade (33).

Têm sido desenvolvidos métodos de amplificação isotérmica para *Leptospira*, mas os dados e a experiência clínica ainda são escassas.

Métodos indiretos

Vários métodos de diagnóstico serológico têm sido descritos para o diagnóstico da leptospirose humana.

O teste de Aglutinação Macroscópica é usado como exame de rastreio da Leptospirose. Esta técnica, também conhecida como MACROLepto, é baseada na reação de aglutinação antígeno-anticorpo. Devido à rapidez na obtenção de resultados e ao baixo custo de aquisição e reprodutibilidade, muitas vezes é utilizado em regiões endêmicas e de baixos recursos como técnica de diagnóstico (34).

O teste de aglutinação modificado (TAM) é o teste de referência para a detecção da leptospirose. Este é utilizado para a identificação de anticorpos (Imunoglobulina G (IgG) e Imunoglobulina M (IgM)) anti-leptospira e caracteriza-se pela sua elevada especificidade, permitindo identificar o serovar e serogrupo. O teste é mais específico quando ocorre seroconversão e há um aumento de quatro ou mais vezes no título de IgG entre amostras de soro agudas e convalescentes. Um único título IgG > 1:800 evidencia infecção atual ou recente por *Leptospira*. O nível dos títulos de anticorpos não identifica o serovar infetante. Os resultados falso-negativos podem ocorrer se a infecção for causada por um serovar não incluído no painel de organismos pesquisados. Reações cruzadas podem ser esperadas em doenças como, por exemplo, a sífilis, febre Q, doença de Lyme e Legionelose. O MAT geralmente é positivo 10 a 12 dias após o início dos sintomas. No entanto, é sempre importante interpretar os resultados tendo em conta o tempo de evolução desde o início dos sintomas, a cinética dos títulos de anticorpos entre duas ou mais amostras consecutivas e a terapêutica em curso. Alguns dos aspetos negativos do teste prendem-se à necessidade de conhecer os serovares mais prevalentes na região a fim de aumentar a sensibilidade do teste, a utilização de leptospirosas vivas e o tempo e custos associados ao exame (30).

Outro teste serológico utilizado é o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) que tem a capacidade de distinção entre os anticorpos IgM e IgG (deteta anticorpos IgM durante a primeira semana de infecção e IgG durante uma fase mais tardia), sendo altamente sensível e mais rápido

e fácil de aplicar. Além disso, utiliza leptospiras mortas o que reduz o risco de infecção para os profissionais do laboratório. Para maior acuidade diagnóstica necessita de confirmação por MAT.

Métodos	Dias de evolução	Produto biológico	Teste
Diretos	≤10 dias	Sangue, LCR	Microscopia em campo escuro
			Cultura
			PCR
	>10 dias	Urina	Microscopia em campo escuro
			Cultura
			PCR
Indiretos	≥5 dias	Soro, LCR	Teste de aglutinação macroscópica (MacroLepto)
	>6 dias	Soro, LCR	Teste de aglutinação microscópica (TAM)
			ELISA (deteção IgM)

Quadro 2 - Testes de diagnóstico laboratorial para a Leptospirose, de acordo com a fase de evolução e produto biológico a analisar (Adaptado de Vieira, 2006).

Diagnóstico Diferencial

Dada a inespecificidade das manifestações clínico-laboratoriais desta doença, inúmeras infecções fazem diagnóstico diferencial com a leptospirose. Todavia, a sufusão conjuntival, quando ocorre, é uma das características de distinção mais confiáveis ocorrendo raramente noutras doenças.

Para fazer o diagnóstico diferencial é importante saber qual é a prevalência das infecções mais comuns em determinada região (26). A malária, o dengue, o tifo exantemático, a febre da carraça, a brucelose, a febre tifóide, a erliquiose, a gripe e a hantavirose fazem parte do diagnóstico diferencial, compartilhando características com a Leptospirose como os padrões endêmicos e manifestações clínicas (12).

Tratamento

O objetivo da terapêutica é controlar a infecção antes da ocorrência de lesões em órgãos como o rim ou fígado (15).

A terapêutica utilizada tem de ter em conta a gravidade da infecção. Na maioria dos casos, em que a sintomatologia é leve, apenas é necessário tratamento sintomático. Por outro lado, os casos de maior gravidade podem justificar, por vezes, internamento e tratamento dirigido. A punção lombar pode estar indicada no tratamento de alguns quadros clínicos, proporcionando melhoria sintomática de doentes com cefaleias persistentes e intensas. Para além disso, também permite identificar a etiologia e excluir outras patologias (35).

A leptospirose ictérica requer hospitalização com vista à monitorização multiorgânica e estabilização clínica. Em doentes com insuficiência renal a hidratação é uma medida de suporte importante para o seu controlo. Em situações de insuficiência renal oligúrica, a diálise pode ser essencial com vista a evitar as complicações que podem ser fatais. Em doentes com hemorragia pulmonar a ventilação mecânica está indicada bem como o internamento numa unidade de cuidados intensivos para melhor vigilância clínica (35).

A doença ligeira é tratada em ambulatório com Doxiciclina 100 mg a cada 12h per os (PO) durante 7 dias, Azitromicina 500 mg por dia PO durante 3 dias ou Amoxicilina 500 mg a cada 8h PO durante 7 dias. Na gravidez ou crianças < 8 anos utiliza-se a Amoxicilina 25-50 mg/kg/dia PO dividida em 3 doses durante 7 dias (36).

O fármaco de eleição para doença moderada a grave é a penicilina G intravenosa (IV) (adultos: de 1,5 MU a cada 6 horas; crianças: 250 000 a 400 000 unidades/kg/dia) ou ceftriaxona IV (1g a cada 12h) durante 7 dias. Como alternativas podem ser utilizadas a cefotaxime IV (adulto: 1 g a cada 6h, criança: 100 a 150mg/kg/dia dividida em 3 ou 4 doses) ou a doxiciclina IV (adulto: 100mg de 12/12horas, criança: 4mg/kg/dia dividida em 2 doses) por 7 dias. A doxiciclina está contra-indicada em grávidas e menores de 9 anos (12).

Durante a terapia, as toxinas libertadas devido à lise das bactérias pelo antibiótico podem induzir a libertação de citocinas, desencadeando uma reação de Jarish-Herxheimer (JH) (37). A reação de JH é caracterizada por alterações na temperatura corporal (um aumento inicial de 1-2°C com uma queda subsequente da temperatura), hiperventilação, cefaleias, mal-estar geral, sudorese e hipotensão (51).

A profilaxia e o tratamento com um agente anti-inflamatório podem interromper a progressão da reação. O ácido acetilsalicílico oral ou o ibuprofeno podem ser usados com esse objetivo. Os corticóides geralmente não trazem benefícios. Os pacientes devem ser monitorizados de

perto quanto às possíveis complicações (choque) e podem requerer fluidos IV para manter a pressão arterial adequada (38). É altamente recomendável que os pacientes que recebem penicilina ou outros antibióticos para o tratamento da leptospirose sejam vigiados minuciosamente com vista a evitar efeitos prejudiciais deste quadro (39).

Prevenção

As estratégias para prevenção da leptospirose são baseadas no conhecimento da epidemiologia da leptospirose e dos seus mecanismos de transmissão.

A prevenção da leptospirose contempla um conjunto de medidas higieno-sanitárias com o objetivo de controlar a disseminação da bactéria, focando-se na prevenção individual e ambiental e no controlo dos reservatórios.

A prevenção individual envolve a sensibilização da população para as formas de contágio, de modo a que possam evitá-las; a melhoria das condições de trabalho nos grupos mais expostos ao contacto com a bactéria; o uso de roupas de proteção, evitar lagoas de água doce, lavar as mãos após contato de risco com material contaminado e a identificação precoce de sinais e sintomas da doença (1).

A prevenção ambiental foca-se sobretudo na melhoria das condições de saúde pública, providenciando a drenagem dos terrenos facilmente inundáveis; no controlo rigoroso da qualidade das águas doces (rios, lagoas) e na adoção de medidas de recolha e eliminação de lixos.

Os reservatórios devem ser alvo de um controlo determinante, a partir de medidas de desratização em áreas de risco e do isolamento, diagnóstico e tratamento de animais doentes. A imunização de animais agrícolas e de companhia com vacinas atenuadas é uma estratégia extremamente importante para reduzir o risco de leptospirose humana. As vacinas contra a leptospirose têm sido geralmente restritas a indivíduos em ocupações de alto risco e em resposta a inundações e epidemias. Em Cuba, onde a leptospirose é endêmica, está disponível uma vacina humana trivalente e a existência de proteção imune cruzada entre estirpes vacinais de diferentes serovares foi verificada. Outros países, como Japão e França, também comercializam uma vacina monovalente contra a leptospirose com relatos de eficácia e sem ocorrência de efeitos adversos na maioria dos casos (40).

A identificação de animais infetados pela leptospira serve de alerta para que os órgãos de saúde pública saibam que há um risco e pode haver contaminação. A vacinação de animais suscetíveis e medidas de biossegurança, como a restrição de pastagem do gado bovino junto a reservatórios de água, evita a contaminação e transmissão da Leptospira. Atualmente, as vacinas utilizadas incluem os serovares Hardjo, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Canicola e Grippotyphosa (1).

A exposição inevitável a curto prazo pode ser mitigada pela quimioprofilaxia. A profilaxia pré-exposição com doxiciclina (200 mg por via oral uma vez por semana) pode ser usada em grupos de risco como os militares e veterinários (41). A doxiciclina (100 mg a cada 12 horas, por 14

dias) também tem sido usada como profilaxia pós-exposição de populações locais após chuvas fortes em áreas endêmicas (42). Alternativas à doxiciclina, como a azitromicina ou a amoxicilina podem ser consideradas em grávidas e crianças e em indivíduos intolerantes ao fármaco.

A leptospirose deve ser considerada pelo clínico sempre que um viajante voltar de áreas de risco, como o sudeste asiático, onde se tenha envolvido em atividades recreativas com exposição ambiental potencial (29).



Figura 4- Medidas de prevenção e controle da Leptospirose. Adaptado de Arsky, (2010).

Prognóstico

A leptospirose apresenta uma taxa de mortalidade global que varia entre 1% a 20%. A maioria das mortes ocorre entre o 10º e o 15º dia da doença.

A ocorrência de complicações ou mortalidade resultante da doença depende da tríade: condições epidemiológicas, suscetibilidade do hospedeiro e virulência do patógeno. Altos níveis de bacteremia estão associados a resultados clínicos desfavoráveis. Os pacientes com leptospirose grave apresentam níveis elevados de IL-6, fator de necrose tumoral-alfa e IL-10. Aqueles que possuem o alelo do antígeno leucocitário humano DQ6 estão em maior risco de doença, sugerindo uma provável intervenção de superantígenos na estimulação de linfócitos da leptospirose (15).

A suscetibilidade à leptospirose parece estar associada a três genes: IL1b, IL12RB1 e CISH. Os efeitos funcionais e o impacto dos mesmos sobre a mortalidade e a morbidade devem ser investigados, bem como a expressão gênica de pacientes com leptospirose humana (40).

Os casos fatais estão essencialmente relacionados com insuficiência renal, insuficiência respiratória por hemorragia pulmonar maciça e miocardite (31). A síndrome da hemorragia pulmonar grave devido à hemorragia alveolar extensa tem uma taxa de mortalidade >50% (39).

As formas leves de leptospirose são mais comuns e a maioria tende a recuperar num período de uma a duas semanas.

A atrofia muscular e anemia são frequentemente observadas por ocasião da alta do paciente. A convalescença dura cerca de um a dois meses, período no qual podem persistir febre, cefaleias, mialgias e mal-estar geral. A leptospirúria pode continuar por uma semana ou eventualmente até vários meses após o desaparecimento dos sintomas. Os níveis de anticorpos, detetados pelos testes sorológicos, diminuem progressivamente mas em alguns casos podem permanecer elevados por vários meses.

Leptospirose: uma doença endêmica em São Miguel

Problemática e Relevância

A Leptospirose é considerada uma doença infecciosa emergente que, na população humana, tem morbidade e mortalidade consideráveis. Segundo a WHO mais de 500.000 casos por ano são registados mundialmente. A incidência da leptospirose em alguns países endémicos está a aumentar.

Em Portugal Continental, o número de casos notificados é relativamente baixo, quando comparado com o número de casos notificados na Região Autónoma dos Açores (sobretudo nas ilhas: São Miguel e Terceira). Contudo, a leptospirose permanece subdiagnosticada.

Esta zoonose de declaração obrigatória tem tido uma importância crescente em Portugal, em particular nos Açores, devido às condições climáticas desta região e pela alta densidade de vetores transmissores desta doença. De facto, trata-se de uma doença considerada endêmica em áreas com condições bioclimáticas propícias à manutenção e dispersão das leptospiras, como é o caso dos Açores, onde os valores médios anuais de humidade e de temperatura se aproximam das características de clima subtropical, o que facilita a sobrevivência das bactérias, potenciando a respetiva infeção quer na população humana quer na animal.

Os Açores são conhecidos pela endemicidade de leptospirose desde 1993, sendo reconhecido como um dos principais problemas de saúde pública (43). Em junho de 1994 foi desenvolvido um inquérito serológico para a Leptospirose na população humana (aparentemente assintomática) das localidades da Ribeira Grande, Vila Franca do Campo e Povoação, em S. Miguel, que confirmou a ocorrência generalizada da infeção pelo serogrupo Icterohaemorrhagiae.

Até há bem pouco tempo, a doença era considerada como pouco relevante, mas nos últimos anos tornou-se num importante problema de saúde pública devido ao súbito acréscimo no número de casos e a ocorrência de alguns surtos.

Nas ilhas de São Miguel e Terceira ocorrem cerca de 11,1 casos de Leptospirose por 100.000 habitantes quando comparado com 1,7 casos por 100.000 habitantes em Portugal Continental. A taxa de mortalidade média anual é cinco vezes superior ao valor nacional (1).

A Ilha de São Miguel

Os Açores são um grupo de ilhas do Atlântico Norte, pertencentes a Portugal, com uma administração autónoma. Localizada a cerca de 1 584 km a oeste de Lisboa, o arquipélago é composto por nove ilhas vulcânicas. Cerca de 246 746 pessoas vivem nestas ilhas, que cobrem uma área total de 2 333 km². Cerca de 50% da população vive na ilha de São Miguel (137 699) (44).

As ilhas semitropicais dos Açores apresentam uma incidência anual média de leptospirose de 11,1 casos por 100 000 habitantes, o mesmo alto risco de exposição que alguns países tropicais como o Taiti (11,3), as Antilhas Francesas (8.9) e La Reunion Mayotte (7.4). Uma distribuição sazonal no inverno é evidente. Nas ilhas dos Açores, o nível de humidade é alto (média de 77%/ano) e a precipitação, embora regular e bem distribuída ao longo do ano, tem maior abundância durante os meses de inverno (45). Para além disso, os efeitos do aquecimento da Corrente do Golfo têm potenciado temperaturas médias do ar em torno de 13,8°C durante os meses mais frios (janeiro / fevereiro) e um valor médio de 23,8°C nos meses mais quentes (julho / agosto). Isso pode ter contribuído para o maior tempo de sobrevivência de leptospiras viáveis em águas superficiais (1) e um aumento da diversidade de cultura agrária, que potencia a abundância de vetores de transmissão.

Em São Miguel, a agropecuária constitui a atividade dominante, com destaque para a criação de gado bovino e algumas culturas, como os ananases em estufa, a batata, o tabaco e o chá. Como forma de diminuir a insularidade, os transportes aéreos têm sofrido um forte incremento em termos da sua frequência e no número de rotas entre as várias ilhas e com o exterior, proporcionando, também, uma via de entrada e saída de patologias, como poderá ocorrer com a Leptospirose. Acresce à doença humana a leptospirose bovina que tem aumentado com o incremento do número de cabeças de gado bovino. Até ao momento, foram identificados no gado bovino dois tipos do serovar Hardjo (o tipo Hardjoprajitno e o tipo Hardjobovis), os quais são geneticamente distintos mas indistinguíveis do ponto de vista serológico (46).

A exposição indireta através da água, solo ou vegetação contaminada com a urina justifica a maioria dos casos esporádicos em grupos ocupacionais, tais como agricultores, trabalhadores de esgotos e pessoal militar, enquanto a exposição direta ocorre em veterinários e agricultores que trabalham com o gado (1). Como estas profissões são predominantemente masculinas, este género representa 92% dos casos. De igual modo, os casos de leptospirose em Portugal, tanto no Continente como nos Açores, surgem predominantemente associados à faixa etária dos 25 aos 64 anos, correspondendo ao período de atividade profissional (47). Apesar de ter sido considerada previamente uma doença ocupacional, o seu padrão epidemiológico tem estado a mudar, havendo relatos crescentes de leptospirose contraída de forma accidental, após contato com águas poluídas e durante atividades recreativas. Por exemplo, as mulheres mais velhas

(>65 anos), têm apresentado um aumento no número de casos, refletindo um padrão social em mudança nos últimos anos, em que estas estão mais propensas a realizar trabalhos manuais em ambientes de maior risco, como agricultura e jardinagem (1).

Nos últimos anos, o crescente número de casos humanos fatais (cinco vezes superior aos do continente) nas ilhas de São Miguel e Terceira provocaram uma crescente preocupação com os fatores de risco e potenciais fontes de infecção, reforçando a necessidade de identificação bacteriológica dos serovares de leptospiras através da cultura. Este método, embora com tempo de incubação prolongado e baixa sensibilidade diagnóstica em ambiente clínico, tem um papel importante no estudo de surtos e da epidemiologia global. Em 2006, na ilha de São Miguel as taxas de isolamento global da *Leptospira* foram de 61% (347 em 567 animais necropsiados) (45).

Atualmente, há uma média anual de 20 casos notificados, 45% dos quais em S. Miguel, com taxas de mortalidade a rondar os 8,5% (48). Esta situação é parcialmente justificada pelas condições de humidade e temperaturas médias características do clima subtropical desta zona, favoráveis à disseminação das leptospiras. Regista-se um maior número dos casos de setembro a janeiro, períodos de maior pluviosidade e humidade na região (1). Estas condições climatéricas, juntamente com a vasta densidade de roedores nas ilhas e a maior sensibilização da população e dos clínicos para a ocorrência desta doença, são fatores que têm contribuído para um crescente número dos casos detetados.

Devido à endemidade da doença em São Miguel, há manutenção de leptospiras nos reservatórios animais permitindo uma exposição constante de humanos ao agente infeccioso. O contato repetido leva o sistema imunológico a produzir regularmente anticorpos anti-*Leptospira*, atenuando os sintomas em caso de reinfeção (40).

Existem na ilha três espécies de roedores: o rato doméstico (*Mus domesticus*), a ratazana castanha (*Rattus norvegicus*) e a ratazana negra (*R. rattus*), sendo as duas primeiras espécies mais comuns em altitudes entre os 250 a 500 m e a ratazana negra a espécie dominante acima dos 500 m (45). A prevalência de *Leptospira spp.* é maior no rato doméstico, seguida pela ratazana castanha e pela ratazana negra (46). Num estudo realizado nos animais da região, dentro dos serogrupos de *L. interrogans s.l.* presentes, o mais prevalente foi o Ballum (80%), apenas identificado no rato doméstico, seguido do Icterohaemorrhagiae (20%) mais associado às ratazanas. Muito menos frequente foi o serogrupo Sejroe (1,7%) que foi apenas identificado numa ratazana negra. Assim, o estudo concluiu que os ratos domésticos eram apenas hospedeiros renais do serovar Arborea (do serogrupo Ballum), que as ratazanas castanhas eram apenas hospedeiros do serovar Icterohaemorrhagiae e que as ratazanas negras eram hospedeiros dos três serovares presentes (Arborea, Copenhageni e Icterohaemorrhagiae (ambos do serogrupo Icterohaemorrhagiae)). São no entanto, os ratos domésticos, os que apresentam a maior taxa de infecção, provavelmente devido à sua elevada densidade populacional (43).

De entre estes serogrupos infetantes no Homem, Icterohaemorrhagiae e Ballum foram o primeiro e o terceiro mais frequentes, respetivamente. A predominância do serovar Pomona, segundo serogrupo mais frequente a causar infeção no Homem, só identificado em Portugal continental correlaciona-se bem com os isolados do serovar Mozdok, presentes em suínos, e em diferentes espécies silvestres, nomeadamente o insectívoro *Crocidura russula* e os roedores *Mus Spretus*, *Rattus rattus* e *R. norvegicus* (49).

Para além dos já referidos, foram identificadas nos Açores e continente, estirpes pertencentes a Sejroe (serovar Hardjo), Australis (serovar Bratislava) e Canicola (serovar Canicola) que foram recuperados de animais domésticos (49).

Conclui-se que os programas de controlo devem incidir maioritariamente sobre os ratos domésticos adultos nas áreas peridomésticas, antes da época de acasalamento, de forma a evitar o pico de leptospirúria que ocorre na altura do acasalamento (45).

A elevada ocorrência de roedores é justificada pela existência de recursos essenciais em abundância (alimento, água e abrigos) associada a práticas inadequadas de controlo, saneamento e proteção pouco eficazes. As habitações são também um ponto problemático, uma vez que, na sua maioria, são do tipo moradia, com terrenos circundantes ou quintal, sendo que estas áreas envolventes representam um maior risco de colonização, caso não sejam cumpridas as regras básicas de construção e higienização. No contexto agropecuário, o risco acrescido de infeção por leptospirose está associado não só ao modo de divisão das parcelas nas áreas de pastagem (muros de pedra solta e sebes vegetais) mas também à presença de estruturas de apoio como parques de espera/alimentação, bebedouros, silos e armazéns nas explorações de regime extensivo ou semiextensivo. É também problemática a existência de explorações agropecuárias em regime intensivo localizadas na proximidade de urbanizações. As culturas agrícolas são também uma importante fonte de alimento para os roedores. Para além dos cuidados a ter nestas áreas específicas, é também importante a realização de uma boa gestão de lixos. É ainda relevante incentivar a limpeza das ribeiras, de modo a evitar contaminação da água. Apesar dos cuidados de manejo referidos anteriormente relativos a roedores, o controlo desta praga é efetuado essencialmente através de agentes químicos, realização de ações de desratização e divulgação de informação junto da população. É importante salientar os riscos ambientais associados a estas campanhas de desratização.

Nos últimos anos, tem-se observado uma maior sensibilização dos profissionais de saúde, no que diz respeito ao diagnóstico e prevenção desta doença. Nos Açores é atualmente possível o diagnóstico laboratorial por MAT nos hospitais de Ponta Delgada e de Angra do Heroísmo, bem como o diagnóstico por PCR na Unidade de Genética e Patologia Molecular do hospital do Divino Espírito Santo (46). Também a população em geral tem sido alvo de campanhas de sensibilização, em especial os trabalhadores agrícolas, dos serviços municipais, dos portos e

dos matadouros. Salientam-se os cuidados de higiene e segurança no trabalho, como o uso de vestuário apropriado (botas e luvas) mas também a educação sanitária das populações (lavagem frequente das mãos) e a vacinação de grupos de risco em áreas endêmicas. O grande problema das vacinas para leptospirose em humanos é serem limitadas a serovares específicos, o que representa um grande desafio sobretudo nas áreas endêmicas.

Em ambientes endêmicos, onde as leptospiros tenham serogrupos circulantes idênticos e a seroprevalência seja relativamente alta, uma vacina atenuada poderia ajudar a prevenir a leptospirose na população de risco. Na Ilha de São Miguel, a vacina SPIROLEPT (50), *Leptospira Icterohaemorrhagiae* inativada, seria a vacina apropriada para a população de risco, já que este é o serogrupo infetante mais frequente (40).

Conclusão

A Leptospirose é uma antropozoonose endêmica na Ilha de S. Miguel, sendo mais comum entre agricultores de profissão ou com essa segunda ocupação, bem como em tratadores de gado. A incidência da doença é maior na terceira década de vida, o que está de acordo com o período de maior atividade laboral.

A doença caracteriza-se por um acentuado polimorfismo clínico, cujo diagnóstico é complicado, devendo ser sempre considerado perante um quadro clínico e laboratorial de síndrome febril aguda, hepatite, nefrite, pneumonia ou meningite, associada a um contexto epidemiológico sugestivo. Admite-se a ocorrência de uma taxa de incidência anual de manifestações anictéricas muito superior, atendendo à natural subnotificação destas situações e caracterização errónea como sendo uma síndrome gripal de resolução benigna.

As estirpes dos serogrupos patogénicos Icterohaemorrhagiae, Ballum e Sejroe (serovar hardjo) são as principais responsáveis pelo número crescente de infeções humanas que se têm verificado em São Miguel. As leptospiras dos dois primeiros serogrupos, isoladas em roedores, confirmam o seu papel zoonótico dominante, enquanto que, as do terceiro grupo são isoladas no gado bovino, estando de acordo com a elevada população desses animais na região.

Os casos de leptospirose em São Miguel, assim como no resto do país, poderão aumentar nos próximos anos devido a vários fatores: alterações climáticas, como o aquecimento global e inundações causadas por períodos de maior pluviosidade, aumento da população de roedores nas áreas urbanas, crescimento da população humana e subsequente urbanização das áreas rurais e aumento das viagens intercontinentais. Justificam-se, então, as principais medidas para a prevenção da doença: ações de educação em saúde, visando esclarecer a população sobre os riscos da doença, como reconhecê-la, formas de transmissão e controlo, em especial, junto dos grupos de risco profissional (medidas de higiene e proteção individual, uso de vestuário e calçado apropriados); controlo dos roedores (medidas de desratização) e a vacinação dos animais domésticos. Neste sentido, são relevantes os estudos interdisciplinares que abordem simultaneamente as temáticas da ecologia dos reservatórios/hospedeiros silváticos e a das manifestações clínicas nas populações humana e animal, no planeamento de uma política eficaz de controlo e prevenção desta zoonose.

Bibliografia

1. Vieira ML, Gama-Simões MJ, Collares-Pereira M. Human leptospirosis in Portugal: a retrospective study of eighteen years. *International Journal of Infectious Diseases*. 2006; 10: 378-386.
2. Vanasco NB, Sequeira G, Fontana ML, Fusco S, Sequeira MD, Enría D. Descripción de un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fe, Argentina, marzo -abril 1998. *Rev Panam Salud Publica*. 2000; 7: 35-40.
3. Levett P. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001;14: 296-326.
4. WHO/ILS (World Health Organization/International Leptospirosis Society). *Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control*. 2003; 109 pp.
5. Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P. *Leptospira and Leptospirosis*. 2nd edition. MediSci Writing, Armadale Vic, Australia. 1999.
6. Stimson, AM. Note on an organism found in yellow-fever tissue. *Public Health Reports*. 1907; 22: 541.
7. Sambasiva RR, Naveen G, Bhalla P, Agarwal SK. Leptospirosis in India and the rest of the World. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2003; 7:178-193.
8. Azevedo JF, Palmeiro JM. O diagnóstico laboratorial das leptospiroses em Portugal. *Manuais da Escola Nacional de Saúde Pública e Medicina Tropical*. 1972; 6: 89-94.
9. Collares-Pereira, M. Contribuição para o estudo do Género *Leptospira* em Portugal. *Dissertação de Doutoramento*. Universidade Nova de Lisboa. 1992; 300 pp.
10. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira M. *Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review*. 2015.
11. Torgerson PR, Hagan JE, Costa F, Calcagno J, Kane M, Martinez-Silveira MS, Abela-Ridder B. *Global Burden of Leptospirosis: Estimated in Terms of Disability Adjusted Life Years*. 2015.
12. Day N, Calderwood, SB. *Leptospirosis: Epidemiology, microbiology, clinical manifestations, and diagnosis - UpToDate*. 2018.
13. Falcão JM, Nogueira PJ, Matias Dias C, Pimenta ZP. Leptospirosis in Portugal: epidemiology from 1991 to 1997. *Eurosurv Month Arch*. 1999;4(4):44-7.
14. Bharti AR, Nally, JE, Ricaldi JN, Mathias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gilman RH, Willig MR, Gotuzzo E, Vinetz JM. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The Lancet Infectious Diseases*. 2003; 3: 757-777.
15. Haake DA, Levet PN. *Leptospirosis in humans*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol 387. Berlin, 2015. Capítulo 5
16. Holt SC. *Anatomy and Chemistry of spirochetes*. *Microbiological reviews*. 1978; 114-160.

17. Collares-Pereira, M. *Leptospira* e Leptospiroses - Epidemiologia e diagnóstico laboratorial (parte 1) In *Cadernos de doenças Infecciosas*. Faculdade de Medicina de Lisboa.1994; 3:23-28.
18. Russell CJ, Virginia GH. Differentiation of Pathogenic and Saprophytic Leptospire I. Growth at Low Temperatures. *Journal of Bacteriology*. 1967; 94:27-31.
19. Garrity GM, Winters M, Searles DB. Taxonomic outline of the prokaryotic genera. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*, Second Edition.2001.
20. Brenner DJ, Kaufmann AF, Sulzer KR, Steigerwalt AG, Rogers FC, Weyant RS. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. nov. and four new *Leptospira* genomospecies. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1999; 49: 839-858.
21. Kmety E, Dikken H. Classification of the species *Leptospira interrogans* and history of its serovars. University Press. Groningen. The Netherlands. 1993; 104 pp.
22. Vijayachari P, Sugunan AP, Shiriram AN. Leptospirosis: an emerging global public health problem. *Journal of Biosciences*. 2008; 33: 557-569.
23. Yasuda PH, Steigerwalt AG, Sulzer KR, Kaufmann AF, Rogers F, Brenner DJ. Deoxyribonucleic acid relatedness between serogroups and serovars in the family Leptospiraceae with proposals for seven new *Leptospira* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1987; 37: 407-415.
24. Levett PN, Smythe L. International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of Leptospiraceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2008; 58: 1049-1050.
25. Collares-Pereira M, Mathias ML, Soares S, Bacellar F, Alves MJ, Santos-Reis M, Ramalhinho MG, Oom MM, Flor F, Matos J, Ferraz de Carvalho G, Petrucci-Fonseca F, Filipe A. Agentes zoonóticos associados aos mamíferos silvestres no Arquipélago dos Açores. 1997; 8: 339-357.
26. Turner LH. Leptospirosis I. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1967; 61: 842-855.
27. Mottola C, Alho AM, Rafael T, Gonçalves T, Seixas R. Leptospirose em Portugal: Situação actual e importância das medidas de controlo no contexto da Saúde Pública. *Revista Electrónica de Veterinária*. 2015.
28. Oliveira RM, Silva MLCR, Macêdo MMS, Higino SS, Paulin LM, Alves CJ, Carvalho MG, Azevedo SS. Seroepidemiology of bovine leptospirosis and brucellosis in family farm rural properties in the State of Paraíba, northeastern Brazil. *Arq Inst Biol*. 2013;80(3):303-311.
29. Fauci AS, Braunwald E. *Harrison Medicina Interna*. 18th edition, McGraw-Hill editor; 2012. Parte VII Doenças Infecciosas; Secção 9, capítulo 171, Leptospirosis.
30. Vieira ML. Aspectos da caracterização antigénica e molecular da leptospirose em áreas endémicas. Tese doutoramento, IHMT-UNL, 2006.
31. Gerrant R, Walker D, Weller P. *Tropical Infectious Diseases Principle, Pathogens and Practice*. 3th edition, In Saunders Elsevier editor. 2011, capítulo 45.

32. Waggoner J, Pinsky B. Molecular diagnostics for human leptospirosis. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 2016; 29 (5):440-445
33. Morey RE, Galloway RL, Bragg SL, Steigerwalt AG, Mayer LW, Levett PN. Species-specific identification of Leptospiraceae by 16S rRNA gene sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006; 44: 3510-3516.
34. Carreira T. Implementação de métodos moleculares para o diagnóstico precoce da Leptospirose Humana. Dissertação de Mestrado, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa. 2009; pp.81.
35. Kobayashi Y. Clinical observation and treatment of leptospirosis. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2001; 7: 59-68.
36. Cunha S, Sá S, Pombo V, Coelho F, Oliveira J, Ramos I, Rabadão E, Malacata L, Duque V, Serra E, Oliveira C, Alves H, Ferreira E, Marques N, Ventura C, Nazareth C, Cabral S. *Doenças Infecciosas. O Desafio da clínica*. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. 2008.
37. Emmanouilides CE, Kohn OF, Garibaldi R. Leptospirosis complicated by a Jarisch-Herxheimer reaction and adult respiratory distress syndrome: case report. *Clinical Infectious Diseases*. 1994; 18:1004-1006.
38. Fekade D, Knox K, Hussein K, Melka A, Laloo DG, Coxon RE, Warrell DA. "Prevention of Jarisch-Herxheimer reactions by treatment with antibodies against tumor necrosis factor alpha". *The New England Journal of Medicine*. 1996; 335 (5): 311-315.
39. Guerrier G, D'Ortenzio E. The Jarisch-Herxheimer Reaction in Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS ONE*. 2013.
40. Esteve LM, Bulhões SM, Branco CC, Mota FM, Paiva C, Cabral R, Mota-Vieira L. Human leptospirosis: Seroreactivity and genetic susceptibility in the population of São Miguel Island (Azores, Portugal). 2014.
41. Takafuji ET, Kirkpatrick JW, Miller RN, Karwacki JJ, Kelley PW, Gray MR, McNeill KM. An efficacy trial of doxycycline chemoprophylaxis against leptospirosis. *The New England Journal of Medicine*. 1984; 310: 497-500.
42. Sehgal SC, Sugunam AP, Murhekar MV, Sharma S, Vijayachari P. Randomised controlled trial of doxycycline and prophylaxis in an endemic area. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2000; 13: 249-255.
43. Gonçalves AT, Paiva C, Melo-Mota F, Vieira ML, Carreira T, Nunes MS, Collares-Pereira M. First isolation of human *Leptospira* strains, Azores, Portugal. *International Journal of Infectious Diseases*. 2010.
44. Censos 2011 Resultados definitivos do Instituto Nacional de Estatística (Internet) 2011 (atualizado em 30 de Junho de 2011, citado a 20 Fevereiro de 2019). Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0005889&contexto=pi&selTab=tab0

45. Collares-Pereira M, Mathias ML, Santos-Reis M, Ramalhinho MG, Duarte-Rodrigues P. Rodentes and *Leptospira* transmission risk in Terceira island (Azores). *European Journal of Epidemiology*. 2001;16: 1151-57.
46. Collares-Pereira M, Santos-Reis M, Gonçalves L, Vieira ML, Flor L. Epidemiologia e Controlo da Leptospirose na Região Autónoma dos Açores. Unidade de Leptospirose e Borreliose de Lyme e Unidade de Epidemiologia e Bioestatística, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa / Centro de Biologia Ambiental Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa / Laboratório Regional de Veterinária, Direcção Regional de Desenvolvimento Agrário (Angra do Heroísmo), Lisboa. 2008; 31 pp.
47. Collares-Pereira M, Vieira ML. Fatal leptospirosis, Azores islands. Report submitted by Institute of Hygiene and Tropical Medicine, Lisbon. 2001;15:109–111.
48. Figueiredo F, Gonçalves L, Adrhi W, Caldeira R, Rosa A, Mota FM, Paiva C, Vieira ML. Knowledge, Attitudes and Practices (KAP) about Leptospirosis. Açores: Seminário da Leptospirose nos Açores; 2006.
49. Collares-Pereira M, Korver H, Cao Thi BV, Santos-Reis M, Bellen-ger E, Baranton G, et al. Analysis of *Leptospira* isolates from mainland Portugal and the Azores islands. *FEMS Microbiol Letters*. 2000; 185: 181–187.
50. Verma R, Khanna P, Chawla S. Whole-cell inactivated leptospirosis vaccine: future prospects. *Hum Vaccin Immunother*. 2013; 9: 763-765.
51. Vaughan C, Cronin CC, Walsh EK, Whelton M. The Jarisch-Herxheimer reaction in leptospirosis. *Postgraduate Medical Journal*. 1994.