



V CONGRESSO
ANGOLANO
DE MEDICINA
VETERINÁRIA



II JOINACOM - Jornadas Intermédias
de Animais de Companhia

LEPTOSPIROSE EM ANGOLA: IMUNO ENSAIOS ENZIMÁTICO (EIA) ATRAVÉS DE ISÓTOPOS ESPECÍFICOS DAS CLASSES IGG3/I GG1 PARA DIAGNÓSTICO EM HUMANOS

V Congresso Angolano de Medicina Veterinária / II JOINACOM, 5ª edição, de 19/10/2022 a 21/10/2022
ISBN dos Anais: 978-65-81152-99-4

FORTES-GABRIEL; Elsa ¹

RESUMO

Leptospirose em Angola: Imuno Ensaio Enzimático (EIA) através de Isótopos Específicos das Classes IgG3/IgG1 em Humanos com Leptospirose

Introdução: A Leptospirose é uma zoonose de larga distribuição mundial que afecta cerca de um milhão de pessoas ano, causada por espiroquetas patogénicas do género *Leptospira* sp. Em Angola o diagnóstico laboratorial baseia-se em testes imunocromáticos rápidos pela dificuldade e custos dos métodos de referência. Os estudos realizados em Angola tanto em humanos quanto em animais, produziram evidências de infecção por *Leptospira* spp., com percentuais de 20 a 45% dos testes realizados. Não obstante, foram isoladas estirpes patogénicas de *Leptospira* em roedores, seus reservatórios naturais. Todavia, o Teste de Referência denominado Teste de Aglutinação Microscópica (TAM) é complexo e laborioso. A presente proposta tem por objectivo desenvolver um método alternativo, baseado na resposta imune revelada pela expressão de imunoglobulinas da classe G.

Metodologia: Foram produzidas *in house* proteínas recombinantes de superfície da membrana de leptospiros patogénicas nomeadamente: rLigA, rLigB, rLipL32 e foi criado extrato de células de (8) oito serovares de leptospiros como antigénicos alvo. Realizou-se o ensaio pelo sistema de ELISA indirecto utilizando-se como anticorpos primários os soros humanos de pacientes febris positivos pela TAM, provenientes de Portugal/PT (n=143) e de Angola/AO (n=100) respectivamente.

Resultados: Encontramos uma correlação entre a confirmação da leptospirose com a reacção com as proteínas recombinantes rLigA, rLigB e rLipL32 com 92% de sensibilidade e 97% de especificidade (AUC0.94) em soros das províncias de Luanda (LDA) e do Huambo (HBO). A combinação do extrato de cultura de células bacterianas de *Leptospira interrogans* serovar Copenhagen (LiC), *L. borgpetersenii* Arborea (LbA) e *L. biflexa* (LbP) com confirmação clínica e laboratorial de leptospirose pelo método de MAT com 100% de sensibilidade e ~98% de especificidade para todas as províncias de Angola e de Portugal (AUC: 0,997 para AO/LDA/HBO, 1,000 para AO/HLA, 0,999 para PT/AZ e 1,000 para PT/LIS). Interessante que encontramos MAT e IgG positivas com significativa presença de IgD e de IgG3/IgG1 isótopos específicos que são produzidos em infecções agudas e aumentaram nas amostras de Portugal.

Conclusão: Dado que as classes IgM/IgD e IgG3/IgG1 isótopos específicos são produzidos em fase recente /aguda da infecção já que o isótopo IgG pode ser usado para informar o diagnóstico da leptospirose aguda. A rapidez, facilidade e a acurácia no uso dos testes pelo método de EIA fazem dele uma excelente alternativa aos métodos laboriosos e caros atualmente usados em laboratórios

¹ Instituto Superior Técnico Militar. Luanda, Angola, fortes.elsa@gmail.com

de referência. O novo método poderá ser utilizado para rastreio das infeções agudas por leptospiroses em áreas onde a circulação de serovares patogénicos de *Leptospira* estão bem definidas.

Palavras chave: Leptospirose, diagnóstico, Imuno-ensaio enzimático, Angola

Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9(9):e0003898. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003898> PMID: 26379143; PubMed Central PMCID: PMC4574773.

de Vries SG, Visser BJ, Nagel IM, Goris MG, Hartskeerl RA, Grobusch MP. Leptospirosis in Sub-Saharan Africa: a systematic review. *Int J Infect Dis.* 2014; 28:47-64. Epub 2014/09/10. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.06.013> PMID: 25197035.

Fortes-Gabriel E, Carreira T, Vieira ML. First Isolates of *Leptospira* spp., from Rodents Captured in Angola. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 94(5):955-8. Epub 2016/03/02. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0027> PMID: 26928840; PubMed Central PMCID: PMC4856626.

Silva A, Moniz RM, Pereirinha T, Brilhante MJ, Bulhoes S, Cabral R, et al. Molecular diagnosis of infectious diseases in Sao Miguel Island (Azores, Portugal): A hospital-based descriptive study. *J Infect Dev Ctries.* 2016;10(9):956-67. Epub 2016/10/04. <https://doi.org/10.3855/jidc.7906> PMID: 27694728

Nair N, Guedes MS, Werts C, Gomes-Solecki M. The route of infection with *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni affects the kinetics of bacterial dissemination and kidney colonization. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020; 14(1):e0007950. Epub 2020/01/07. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007950>

Chen HW, Lukas H, Becker K, Weissenberger G, Halsey ES, Guevara C, et al. An Improved Enzyme-Linked Immunoassay for the Detection of *Leptospira*-Specific Antibodies. *Am J Trop Med Hyg.* 2018; 99(2):266-74. Epub 2018/06/27. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0057> PMID: 29943710; PubMed Central PMCID: PMC6090353.

Niloofo R, Karunanayake L, de Silva HJ, Premawansa S, Rajapakse S, Handunnetti S. Development of in-house ELISAs as an alternative method for the serodiagnosis of leptospirosis. *Int J Infect Dis.* 2021; 105:135-40. Epub 2021/02/09. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.01.074> PMID: 33556609.

Allan KJ, Biggs HM, Halliday JE, Kazwala RR, Maro VP, Cleaveland S, et al. Epidemiology of Leptospirosis in Africa: A Systematic Review of a Neglected Zoonosis and a Paradigm for 'One Health' in Africa. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9(9):e0003899. Epub 2015/09/15. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003899> PMID: 26368568; PubMed Central PMCID: PMC4569256.

Nair N, Gomes-Solecki M. A Mouse Model of Sublethal Leptospirosis: Protocols for Infection with *Leptospira* Through Natural Transmission Routes, for Monitoring Clinical and Molecular Scores of Disease, and for Evaluation of the Host Immune Response. *Curr Protoc Microbiol.* 2020; 59(1):e127.

PALAVRAS-CHAVE: Leptospirose, diagnóstico, Imuno-ensaio enzimático, Angola