

**CEPAS PATOC 1 E RUFINO, DE LEPTOSPIRA BIFLEXA, COMO ANTÍGENOS DE TRIAGEM NO DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE.**

**Eulógio Moreira Caldas\***  
**Marilena Barreto Sampaio\*\***  
**Everaldo Costa\*\*\***  
**Lucia M. Tishcenko\*\*\*\***  
**Nilton D. Montargil\*\*\*\*\***

**INTRODUÇÃO**

A leptospirose é uma antroponose de ampla distribuição geográfica que vem causando, além de danos à saúde, enormes prejuízos econômicos. Em 1964, calculou-se, nos Estados Unidos, que a doença acarretava, ali, em animais domésticos, uma perda anual de 215 milhões de dólares (8).

- \* M. V., Prof. Adjunto EMV/UFBA
- \*\* C.D., Dra. UFBA, Prof. Assist. ICS/UFBA
- \*\*\* M., Hospital Couto Maia/Sec. Saúde - Bahia
- \*\*\*\* F.B., Aux. Ensino F.F./UFBA
- \*\*\*\*\* Aluno, Monitor Dept. Med. Vet. Preventiva

*Universitas*, Salvador, (20, especial): 135 - 144 , 1978.

Como o isolamento de leptospiros do sangue e da urina constitui uma técnica sofisticada nem sempre é possível de ser realizada, o diagnóstico de laboratório depende freqüentemente da demonstração de anticorpos no soro sanguíneo. Uma série de métodos para esse diagnóstico tem sido desenvolvidos; provavelmente o mais usado tem sido o da aglutinação microscópica, em campo escuro, com antígeno vivo (3). Esta prova necessita de muito tempo para ser executada, porque cada amostra de soro a ser examinada deve ser testada contra uma bactéria de cerca de vinte antígenos, inconveniente acentuado quando se trata de animais, devido ao grande numero de soros a serem testados.

Desde 1922, com UHLENHUTH & ZULZER, que se sabe que cepas de sorotipos saprófitas são capazes de aglutinar em soro de infectados com leptospiros patogênicas (1). Datam de 1950 as primeiras tentativas para utilizar amostras saprófitas, como triagem, no diagnóstico de leptospirose, comprovando então pesquisadores rumanos a eficiência da cepa Patoc 1, em diagnóstico de pacientes humanos (1); esta cepa foi isolada por BABUDIÈRE, em 1941, na Itália. ADDAMIANO & BABUDIÈRE (1), também, a partir de 1960, comprovaram essa eficiência, em soro de humanos.

ELIAN & NICOARA, na Rumânia, em 1965, (5) obtiveram 90,0% de concordância, usando a cepa Patoc, quando comparando a soroaglutinação microscópica com a fixação de complemento. MAILLOUX, na França, em 1967, obteve 98,0% de concordância, no diagnóstico de leptospirose, usando a cepa Patoc 1 e cepas de leptospiros patogênicas (1).

No Brasil, CORRÊA et alii (4) obtiveram concordância de 98,8% utilizando a Patoc como antígeno polivalente de triagem na prova de soroaglutinação em soro de pacientes suspeitos de leptospirose, comparando os resultados obtidos com as cepas patogênicas. CALDAS & SAM-PAIO (\*) investigando 888 pacientes hospitalares, num estudo epidemiológico da leptospirose, em Salvador, em 1975, utilizaram a *Leptospira Semarang* Patoc 1 como antígeno de triagem, permitindo-lhes, assim, reduzir tempo e custos, sem prejuízo da eficiência do trabalho.

No que diz respeito aos animais, algumas tentativas vêm sendo feitas no sentido de se obter um antígeno único para as provas de soroaglutinação. ADDAMIANO & BABUDIÈRE (1) não obtiveram bons resultados testando a cepa Patoc 1 em soro de animais. PINTO et alii (6), em São Paulo, em 1970, testaram o antígeno Patoc 1 no diagnóstico de leptospirose em humanos e em animais, comparando os métodos de soroaglutinação microscópica e fixação de complemento, encontrando uma concordância de 88,0% em humanos, 77,7% em cães, 57,0% em

(\*) Trabalho a ser publicado na Revista Médica da Bahia.

muares e 19,5% em eqüinos; esse experimento, como o de ELIANE e NICOARA (5), já citado, objetivou testar a eficiência entre dois métodos. CACCHIONE et alii (2), em Buenos Aires, em 1971, investigaram as propriedades antigênicas de diversas cepas de *Leptospira biflexa* com o propósito de identificar uma que fôsse capaz de servir como antígeno de triagem. Entre as 27 cepas testadas, constataram que uma delas apresentava parcelas antigênicas comuns a todos os sorotipos de *Leptospira interrogans*, exibindo uma concordância de 95,0%, na soroaglutinação microscópica, contra uma bateria de antígenos vivos. Tratava-se da cepa Rufino, isolada por CACCHIONE (2), na Argentina. O teste foi feito em hemo-soro de bovinos, ovinos, suínos, eqüinos, caprinos e caninos, em número de 419 animais.

O presente trabalho objetivou comprovar a eficiência das duas cepas de *Leptospira biflexa* no diagnóstico de triagem, de leptospirose, em humanos e animais.

## MATERIAL E MÉTODOS

1. O material é constituído por hemo-soro de humanos (pacientes hospitalares) e de animais das espécies bovina, caprina, suína, bubalina, eqüina e canina, de diferentes municípios do Estado da Bahia.
2. O sangue foi colhido assepticamente, na quantidade de 5 ml, em tubos 10 × 100 e após a coagulação foi centrifugado a 3.550 r.p.m., durante 10 minutos, para a obtenção do soro para as provas de aglutinação microscópica em campo escuro, com antígenos vivos de leptospiras, inclusive as duas cepas biflexas, cultivadas em meio de STUART enriquecido com Bacto-Leptospira Enrichment e usados entre os 5º e 7º dias de crescimento (7). Considerou-se o soro que nas diversas diluições aglutinou mais de 50% de leptospiras, usando-se como referência um tubo testemunha contendo volumes iguais de antígeno e salina tamponada estéril.
3. Como positividade adotou-se o título de 1:100.
4. A bateria de antígenos foi obtida junto ao Prof. Carlos A. Santa Rosa, no Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Médicas da Universidade de São Paulo, sendo o antígeno Rufino obtido do Centro Panamericano de Zoonóses, através a oficina Sanitária Panamericana, em Brasília.

## BATERIA DE ANTÍGENOS

---

SOROGRUPO	SOROTIPO	CEPA DE REFERÊNCIA
1. ICTEROHEMORRHAGIAE	ICTEROHEMORRHAGIAE	RGa
2. JAVANICA	JAVANICA	VELDRAT BATAVIAE
3. CELLEDONI	CELLEDONI	CELLEDONI
4. CANICOLA	CANICOLA	HOND UTRECHT IV
5. BALLUM	CASTELLONIS	CASTELLON 3
6. PYROGENES	PYROGENES	SALINEM
7. CYNOPTERI	BUTEMBO	BUTEMBO
8. AUTUMNALIS	AUTUMNALIS	AKIYAMI A
9.	FORT-BRAGG	FORT-BRAGG
10. AUSTRALIS	AUSTRALIS	BALLICO
11. POMONA	POMONA	POMONA
12. GRIPPOTYPHOSA	GRIPPOTYPHOSA	MOSKVA V
13. HEBDOMADIS	HEBDOMADIS	HEBDOMADIS
14.	WOLFFI	3705
15. BATAVIAE	BATAVIAE	VANTIENEM
16. TARRASSOVI	TARASSOVI	PEREPELICIN
17. PANAMÁ	PANAMÁ	CZ 214 K
18. SHERMANI	SHERMANI	LT 821
19. SEMARANGA	PATOC	PATOC I
20.	RUFINO	RUFINO
21. ANDAMANA	ANDAMANA	CH 11

---

## RESULTADOS

Dos 627 soros testados, 307 (48,9%) foram positivos para *L. interrogans*; desses 97 (31,6%) para o sorotipo Patoc e 108 (35,0%) para o sorotipo Rufino. A concordância entre a bateria de *L. interrogans* e o antígeno biflexa Patoc, em humanos, foi de 96,8%, conforme se vê da Tabela I.

TABELA I

SOROAGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA E POSITIVIDADE DISTRIBUÍDAS SEGUNDO A ESPÉCIE INVESTIGADA E OS RESULTADOS OBTIDOS COM AS CEPAS BIFLEXA PATOC 1 E RUFINO, BAHIA, 1977.

ESPÉCIES	SOROS TESTA- DOS	POSITIVOS				
		L. INTER- ROGANS	P A T O C		R U F I N O	
			Nº	%	Nº	%
HUMANA	90	62	60	96,8	25	41,7
BOVINA	164	85	05	5,9	09	10,6
CAPRINA	95	17	07	41,1	01	5,9
SUINA	160	68	01	1,5	51	75,0
BUBALINA	68	44	12	27,3	13	29,5
EQUINA	25	21	12	57,1		
CANINA	25	10	0		02	20,0
<b>T O T A L</b>	<b>627</b>	<b>307</b>	<b>97</b>	<b>31,6</b>	<b>108</b>	<b>35,0</b>

Segundo se vê da Tabela II, entre os 90 soros humanos testados, 11,1% deles foram positivos para o antígenos Patoc e negativos para os antígenos L. interrogans.

TABELA II

HEMO-SOROS DE PACIENTES HOSPITALARES TESTADOS, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO A POSITIVIDADE CONTRA ANTÍGENOS DE L. INTERROGANS E NEGATIVOS CONTRA ESSES ANTÍGENOS E POSITIVOS CONTRA O ANTÍGENO PATOC, BAHIA, 1977.

SOROS TESTADOS	POSITIVOS CONTRA L. INTERROGANS		NEGATIVOS CONTRA L. INTERROGANS E POSI- TIVOS CONTRA PATOC	
	Nº	%	Nº	%
	90	62	68,8	10

A Tabela III apresenta o resultado das aglutinações em hemo-sôro de humanos (pacientes hospitalares), distribuídos segundo o número de dias de doença.

TABELA III

HEMO-SÔROS DE PACIENTES HOSPITALARES NEGATIVOS NA PRIMEIRA SOROAGLUTINAÇÃO CONTRA L. IN-TERROGANS E POSITIVOS CONTRA L. BIFLEXA, E RESULTADOS DE AGLUTINAÇÕES POSTERIORES, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO O NÚMERO DE DIAS DE DOENÇA, BAHIA, 1977.

Nº DE ORDEM	1ª. SOROAGLUTINAÇÃO		2ª. SOROAGLUTINAÇÃO		3ª. SOROAGLUTINAÇÃO		4ª. SOROAGLUTINAÇÃO	
	DIAS DE DOENÇA	SOROTIPO E TÍTULO	DIAS DE DOENÇA	SOROTIPO E TÍTULO	DIAS DE DOENÇA	SOROTIPO E TÍTULO	DIAS DE DOENÇA	SOROTIPO E TÍTULO
01	07	patoc 1:400 rufino 1:100	14	patoc 1:100 rufino 1:400 autumnalis 1:200 fort-bragg 1:400	21	patoc 1:400 rufino 1:200 autumnalis 1:400		
02	11	patoc 1:100	19	patoc 1:100	26	patoc 1:100		
03	08	patoc 1:200	15	patoc 1:1.600 autumnalis 1:1000	21	patoc 1:1.600	27	patoc 1:3.200 autumnalis 1:200
04	10	patoc 1:200	17	patoc 1:100 autumnalis 1:100	24	patoc 1:100 autumnalis 1:100		
05	10	patoc 1:200	19	patoc 1:200				
06	14	patoc 1:1.600	19	patoc 1:3.200 ictero 1:1.600 grippe 1:3.200	26	patoc 1:1.600 grippot 1:1.800 icteroh 1:1.600		
07	12	patoc 1:100	19	patoc 1:200				
08	10	patoc 1:400	15	patoc 1:1.600 grippe 1:1.400 icteroh 1:200	19	patoc 1:1.600 grippot 1:1.600 icteroh 1:400		
09	09	patoc 1:200	13	patoc 1:800	20	patoc 1:800	25	patoc 1:1.600 grippot 1:1.600 icteroh 1:3.200
10	14	patoc 1:800	21	patoc 1:3.200 icteroh 1:400 autumnalis 1:200				

A Tabela IV apresenta hemo-soros de diversas espécies animais, positivos contra antígenos de *L. biflexa* e negativos contra antígenos de *L. interrogans*.

TABELA IV

HEMO-SOROS NEGATIVOS CONTRA *L. INTERROGANS* E POSITIVOS CONTRA *L. BIFLEXA*, DISTRIBUÍDOS SEGUNDO A ESPÉCIE ANIMAL INVESTIGADA, BAHIA, 1977

ESPÉCIE ANIMAL	SOROS TESTADOS	NEGATIVOS CONTRA <i>L. INTERROGANS</i> E POSITIVOS CONTRA <i>L. BIFLEXA</i>		% DE POSITIVIDADE SOBRE SOROS TESTADOS	
		PATOC	RUFINO	PATOC	RUFINO
BOVINA	164	01	03	0,6	1,8
CAPRINA	95	02	0	2,1	
BUBALINA	160	0	0		
SUINA	68	02	32	2,9	47,0
EQUINA	25	0	01		4,0
CANINA	25	0	03		12,0
<b>TOTAL</b>	<b>537</b>	<b>05</b>	<b>39</b>	<b>0,9</b>	<b>7,3</b>

## DISCUSSÃO

Na presente investigação constatou-se, em hemo-soro de humanos, (pacientes hospitalares), concordância de 96,8% entre o antígeno de *L. biflexa* Patoc 1 e antígenos de *L. interrogans*. Essa concordância, em hemo-soro de animais de seis diferentes espécies, variou entre 57,1%, em eqüinos, a 1,5% em suínos (Tabela I). A eficiência do antígeno Patoc no teste de triagem no diagnóstico de leptospirose, em humanos, aqui assinalada, está de acordo com observações de outros pesquisadores, como MAILLOUX; 98,0% (1) e CORRÊA et alii, 98,8% (4). No que diz respeito a animais, baixos índices de concordância já foram assinalados, antes, por ADDAMIANO & BABUDIÈRE (1), tendo PINTO et alii (6) constatado, também, resultados insatisfatórios com o emprego do antígeno Patoc, no diagnóstico de leptospirose, em animais.

O antígeno Rufino, mostrou-se pouco eficiente (41,7%) no diagnóstico de triagem de leptospirose em humanos, apresentando, também, em hemo-soro de animais, percentuais insatisfatórios, discordando, assim, os presentes resultados da investigação de CACCHIONE et alii (2), os quais encontraram altos percentuais de concordância entre o antígeno Rufino e antígenos de *L. interrogans*. Os achados na presente investigação estão de acordo, entretanto, com observações que vêm sendo feitas por SANTA ROSA (x), que também está testando o antígeno Rufino no diagnóstico de triagem de leptospirose, em animais.

Os achados constantes da Tabela II em que 11,1% dos hemo-soros de humanos, testados, foram positivos para o antígeno Patoc e negativos para os antígenos de *L. interrogans*, atestam a importância do emprego desse antígeno, nas provas de soroprecipitação microscópica; essa observação foi também constatada por CORRÊA et alii (4) que em sua investigação encontraram 18 casos em que ocorreu aglutinação apenas com o antígeno Patoc.

Certamente os antígenos biflexa são capazes de aglutinar mais cedo em hemo-soro, como nos casos de pacientes com poucos dias de doença, sendo que, em alguns casos, os antígenos de *L. interrogans* só aglutinam, nesses pacientes, com maior número de dias de doença, como sugere a Tabela III.

No que diz respeito aos animais, constatou-se também casos de hemo-soros positivos para antígenos de *L. biflexa*, registrando 0,9% para Patoc e 7,3% para Rufino, sendo que em suínos o Rufino aglutinou, isoladamente, em 47,0% dos casos. Considerando que, quanto a animais, trabalhou-se com animais aparentemente saudáveis, não seria adequado sugerir uma explicação, conforme foi feito para os casos em humanos.

## CONCLUSÕES

Dos resultados da presente investigação, conclui-se, que:

1. O antígeno Patoc 1 é recomendável como teste de triagem no diagnóstico de leptospirose, em humanos.
2. O antígeno Rufino não é recomendável para o teste de triagem para o diagnóstico de leptospirose, em humanos.
3. Os dois antígenos não são recomendáveis para os testes de triagem para o diagnóstico de leptospirose, em animais.

(x) Comunicação pessoal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADDAMIANO, L. & BABUDIERI, B. Water Strains of *Leptospira* in the serodiagnosis of Human and Animal Leptospirosis. *Bull. Wld. Hlth Org.* 39: 925-934, 1968.
2. CACCHIONE, R.A.; CASCELLI, E.A. y MARTINEZ, E.S. *Leptospira biflexa* Rufino. Su uso en el diagnóstico de leptospirosis animal. *Rev. Invest. Agropec* 8 (1): 29-35, 1971.
3. CENTRO PANAMERICANO DE ZONÓSE. *Métodos de Laboratorio para Leptospiróses*. Nota Técnica nº 9. Organização Panamericana da Saúde, 1968.
4. CORRÊA, M.D.A.; NATALE, V.; SADATSUNE, T. e FLEURY, G.C. Valor prático do uso da *Leptospira semaranga* Patoc 1, no diagnóstico das leptospiroses humanas. *Rev. Inst. Med. trop.* S. Paulo, 12 (4): 284-287, 1970.
5. ELIAN, M. & NICOARA, I. El empleo de um Antígeno de la cepa Patoc de *L. biflexa* em investigaciones de campo sobre la leptospirosis. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.*: 498-502, junio, 1965.
6. PINTO, A.A.; SANTA ROSA, C.A., SADATUNE, T. e FLEURY, G.C. Reação de fixação de Complemento do Diagnóstico de Leptospirose com Antígeno Patoc 1. *Anais II Congresso Brasileiro de Microbiologia*, S. Paulo, julho, 1970.
7. SANTA ROSA, C.A. Diagnóstico Laboratorial das leptospiroses. *Rev. Microb.* 1 (2): 97-109, 1970.
8. STALHEIM, O.H.V. Quimioterapia y inmunización para el control de la leptospirosis en los animales domesticos. *VII Reunión interamericana sobre el control de la Febre Aftosa y otras zoonosis*. Publicación Científica nº 316 (Oficina sanitaria Panamericana): 169-180, 1976.

## RESUMO

Utilização das cepas Patoc 1 e Rufino de *L. complexo biflexa*, como antígeno de triagem no diagnóstico sorológico de leptospirose em humanos e em animais de seis diferentes espécies, em comparação com uma bateria de 19 antígenos de *L. complexo interrogans*. A cepa Patoc, nas provas de soroaglutinação, em humanos, apresentou baixos percentuais de concordância. A cepa Rufino apresentou baixos percentuais de concordância nas provas de soroaglutinação em humanos e em animais.

## SUMMARY

Patoc 1 e Rufino from *L. complexo biflexa* strains were employed as screening antigen in the serologic diagnose of leptospirosis in human and in six different animal species in comparison with a battery of 19 *L.*

**complexo interrogans** antigens. Patoc strain showed a 98,8%; accordance in the sera agglutination tests, in humans; in animal it showed a low percentage of accordance in the sera agglutination tests, in humans and in animals.