



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

LUCIANA VELOSO MELO

**AVALIAÇÃO DO *STATUS* SANITÁRIO DO REBANHO SUÍDEO DO
ESTADO DO MARANHÃO EM RELAÇÃO À LEPTOSPIROSE**

SÃO LUÍS - MA

2017

LUCIANA VELOSO MELO

**AVALIAÇÃO DO *STATUS* SANITÁRIO DO REBANHO SUÍDEO DO
ESTADO DO MARANHÃO EM RELAÇÃO À LEPTOSPIROSE**

Monografia apresentada à
Coordenação ao Curso de Medicina
Veterinária da Universidade Estadual
do Maranhão como requisito para a
obtenção do grau de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Praseres
Chaves

SÃO LUÍS - MA

2017

LUCIANA VELOSO MELO

**AVALIAÇÃO DO *STATUS* SANITÁRIO DO REBANHO SUÍDEO DO
ESTADO DO MARANHÃO EM RELAÇÃO À LEPTOSPIROSE**

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Medicina Veterinária da Universidade
Estadual do Maranhão como requisito para a
obtenção do grau de Bacharel em Medicina
Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves

Aprovada em: ____/____/ 2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Daniel Praseres Chaves (Orientador)

Departamento de Patologia/ CCA/ UEMA

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

Departamento de Patologia/ CCA/ UEMA

Prof. Esp. Paulo de Vasconcelos Brito

Departamento de Patologia/ CCA/ UEMA

*“Viva como se fosse morrer amanhã. Aprenda
como se fosse viver para sempre”*

Mahatma Gandhi

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, primeiramente, aos meus pais Juracy e Maria da Graça por todo cuidado e atenção desde o meu nascimento, pelo amor incondicional e pelo apoio em todos os momentos da minha vida, mesmo que isso significasse eu ficar longe de vocês por um tempo. A todos da minha família que me ajudaram a chegar neste momento de realização, muito obrigada!

Agradeço aos meus irmãos, Cristiana e Vinícius, pela cumplicidade, pelos incentivos, pelos conselhos na minha vida pessoal e profissional e por serem companhias tão boas para mim.

Ao meu namorado e melhor amigo, Rafael, por estar ao meu lado em todos os momentos me ajudando sempre e me dando suporte para que eu me sentisse segura e sem duvidar de mim mesma, me encorajando para eu dar o meu melhor.

Agradeço aos meus animais de estimação, Ananda, Lily, Manchada, Tigrinho e Capirota pelo carinho, companheirismo e alegria sempre que me veem chegando em casa.

À Sofia, Bianca, Elisa e Júlia, minhas amigas de infância que estão presentes em todos os eventos importantes da minha vida, sempre dispostas a escutar, ajudar, aconselhar e fazer nossas amizade crescer mais e mais com o passar dos anos.

A Carlos, Yuri, Daniel, Luciano, Manoel e Francisco, meus amigos desde a escola, alguns desde criança, pelos momentos de descontração, de conselhos e de ajuda.

Agradeço à Catharina, Adriana, Aline, Leela, Uli e Ana Clara, vocês foram primeiras amigas que fiz na UEMA e, mesmo fora dela, continuaram perto de mim. Obrigada pela preocupação, pelo carinho e pelo apoio sempre. Agradeço, ainda, a Rodrigo que fez parte do nosso grupo logo depois e que se tornou igualmente parte de nós.

Gostaria de agradecer às minhas amigas Ana Clara, Thalyta, Ana Eliza, Ana Beatriz, Lucélia e Aleska que me acompanharam na maior parte da minha graduação. Cultivamos uma amizade linda, que me faz ter a certeza que não estaremos sozinhas mesmo que estejamos longe umas das outras.

À Walterlana, Juliana, Hallef, Caio, Erika, Celiz, Jéssica, Matheus e Diogo por terem me acolhido tão bem e por me fazer sentir tão bem-vinda e querida em tão pouco tempo. À Ellis, minha companheira de projeto que tanto me ajudou e que se preocupa sempre com cada um de nós.

A Silvio, que me acolheu desde o início do curso como estagiária em sua clínica, me incluindo sempre nos procedimentos realizados com paciência para me ensinar.

Ao meu orientador, Professor Daniel Praseres, quem eu admiro profundamente pelo profissional e pessoa que é. Obrigada pela oportunidade de trabalhar neste projeto, pela orientação e ensinamentos. À Gisele, pela oportunidade de trabalharmos em conjunto para a realização deste trabalho.

Agradeço ainda, aos professores da Instituição e aos profissionais do Hospital Veterinário que fizeram parte da minha formação e por terem compartilhado seus conhecimentos no decorrer dos anos.

Por fim, agradeço a todos que de certa forma ajudaram na realização desse trabalho.

RESUMO

A suinocultura vem crescendo de forma acentuada no Brasil, porém no estado do Maranhão, há escassez de dados a respeito do manejo e sanidade destes animais. Logo, este trabalho teve como objetivo avaliar o status sanitário do rebanho suíno em relação leptospirose no estado do Maranhão, Brasil. Foram coletadas amostras sanguíneas de 150 suínos realizando a prova de Soroaglutinação Micróscopica (SAM), na qual foram utilizados 24 sorovares do complexo anti-*Leptospira* spp. Das 150 (100%) amostras testadas pela SAM, 62 (41,3%) foram reagentes para um ou mais sorovares empregados na diluição 1:100. O sorovares mais freqüente foram Canícola 24\150 (16%), Sentot 22\150 (14,6%), Butembo 17\150 (11,3%), Tarassovi 14\150 (9,3%), Whitcombi 9\150 (6%) e Batavae 9\150 (6%). A alta frequência de Leptospirose no estado do Maranhão reflete a necessidade de adoção de medidas sanitárias para o controle dessa enfermidade.

Palavras-chave: Suinocultura, Leptospirose, Maranhão

ABSTRACT

Swine farming has been growing in Brazil, however in the state of Maranhão there is a lack of data towards management and sanity of these animals. Therefore, this study aimed to evaluate the health status of the swine herd in relation to leptospirosis in the state of Maranhão, Brazil. Blood samples of 150 pigs were collected and tested for Microscopic Seroagglutination (SAM), in which 24 serovars of the anti-*Leptospira* spp complex were used. From 150 (100%) samples tested by the SAM, 62 (41.3%) were reagents for one or more serovars used in the 1: 100 dilution. The most frequent serovars were Canicola 24\150 (16%), Sentot 22\150 (14.6%), Butembo 17\150 (11.3%), Tarassovi 14\150 150 (6%) and Batavae 9\150 (6%). The high frequency of Leptospirosis in the State of Maranhão reflects the need of adopting sanitary measures to control this disease.

Key-words: Swine farming, Leptospirosis, Maranhão

LISTA DE SIGLAS

DNA Deoxyribonucleic A

ELISA Enzyme-Linked Immunosorbent

Assay EMJH Ellighausen, Mc Cullough,
Johnson e Harris

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e

Estatística IN Instrução Normativa

MAPA Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento PCR Reação em Cadeia de

Polimerase

OIE Organização Mundial de

Saúde Animal SAM

Soroaglutinação Microscópica

USDA United States Department of

Agriculture WHO World Health

Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

° Grau

°C Graus Celsius

μL

Micro

litro

Mm

Micrô

metro

mg/Kg

Miligrama por

quilo mL Mililitro

N Número de amostras

% Porcentagem

pH Potencial

hidrogênico

Rpm Rotação

por minuto

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 Objetivos Gerais	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 Histórico.....	16
3.2 Etiologia.....	17
3.3 Epidemiologia	18
3.4 Transmissão	19
3.5 Patogênese	20
3.6 Sinais Clínicos	21
3.7 Diagnóstico.....	22
3.7.1 Diagnóstico direto	23
3.7.2 Diagnóstico indireto	23
3.8 Tratamento	24
3.9 Profilaxia.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1 Área de Estudo	27
4.2 Colheita das amostras	27
4.3 Preparo do antígeno.....	28
4.4 Soroaglutinação Microscópica (SAM).....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.	31
6 CONCLUSÕES	35
7 REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

No cenário mundial, a carne suína é a mais consumida, embora algumas restrições são de conhecimento geral em alguns países devido a hábitos alimentares, religião ou dogmas (GERVASIO, 2013).

O Brasil representa, atualmente, o quarto maior exportador mundial de carne suína, com mais de 37 milhões de cabeças. De acordo com o Departamento Americano de Agricultura - USDA (2015), o Brasil está atrás apenas da China, União Européia e Estados Unidos.

O país apresenta intensa atividade dentro da suinocultura, com isso há um aumento da densidade animal em algumas áreas geográficas, facilitando a disseminação e manutenção de agentes patogênicos nos rebanhos, o que pode acarretar em surtos de enfermidades que geram prejuízos econômicos. Uma possível problemática, ainda dentro da intensificação dessa atividade, é o risco de propagação de agentes infecciosos e doenças transmissíveis devido à movimentação dos animais entre regiões (SOBESTIANSKY, 1993).

O Maranhão possui o segundo maior rebanho suíno do Nordeste. No entanto dados mais aprofundados no que diz respeito ao manejo e sanidade destes animais são escassos. Sabe-se, porém, que o sistema de criação do estado é predominantemente extensivo, o que implica nível tecnológico e mão-de-obra especializada baixos dentro da produção.

A deficiência em um sistema de criação eficiente somada a um controle sanitário ausente, afeta o desempenho reprodutivo do rebanho, pois favorece o aparecimento de doenças. Enfatizando o sanidade da produção e as possíveis perdas econômicas, entre elas destaca-se a leptospirose (NEGRÃO et al., 2000).

A leptospirose é uma doença zoonótica, de prevalência elevada causada por bactéria, a qual pode ser encontrada em vários países, principalmente em os de clima tropical e subtropical. A infecção por leptospirosas tem sido comumente relatada em animais domésticos, homem, animais silvestres e roedores (ACHA; SZYFRES, 2013; CORCHO, 2008; OIE, 2014; SCHENCK, 1976; TRAGLIABUE ; FARINA, 1995).

Esta enfermidade está relacionada a condições sanitárias deficientes, situação comum em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (BRASIL, 2005). É considerada doença de risco ocupacional, atingindo diferentes profissionais, especialmente os que carecem de equipamentos de segurança adequados para o trabalho, tecnologia, qualificação de mão-de-obra e boa remuneração, o que pode aumentar o risco de infecção (ALMEIDA et al., 1994).

Além dos prejuízos para a saúde dos seres infectados, é uma importante causa de prejuízos em rebanhos de reprodução. No Brasil, a leptospirose tem sido uma das principais causas de falhas reprodutivas em vários estados (LANGONI et. al., 1995).

Do ponto de vista da Saúde Pública, de acordo com a Instrução Normativa (IN) no 50 de 14 de setembro de 2013, do MAPA, a leptospirose deve ser de notificação obrigatória ao serviço veterinário oficial, composto pelas unidades do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pelos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Animal (BRASIL, 2013).

Tendo em vista o crescimento internacional e nacional da suinocultura, a crescente demanda dos produtos desta criação, juntamente com a deficiência de dados relacionados ao manejo e sanidade dessa atividade no estado do Maranhão e considerando a importância econômica e para a saúde pública que a leptospirose representa, é de suma importância a busca por um direcionamento adequado que vise a melhoria da produção em todos os aspectos possíveis.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Fornecer subsídios para fundamentar políticas estaduais de controle e/ou erradicação da Leptospirose suína no Estado do Maranhão.

2.2 Específicos

- Verificar a ocorrência de anticorpos anti-Leptospira spp em suínos;
- Identificar os sorovares de maior prevalência nas criações de suínos;
- Fornecer dados científicos aos órgãos de defesa sanitária animal que fundamente a melhoria do status sanitário do rebanho suíno do Estado do Maranhão

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Histórico

Em 1800, no Cairo, a Leptospirose foi descrita pela primeira vez pelo médico francês Larrey. Em 1886, o patologista alemão Adolf Weil, descreveu a Leptospirose humana após observar em quatro pacientes sinais de febre, icterícia, hemorragia, comprometimento hepático e renal (BRASIL, 1995).

Em 1915, Inada et al. isolaram o agente etiológico da doença a partir de sangue de mineradores japoneses, no qual foi possível detectar as espiroquetas e os anticorpos específicos. Ainda nesse ano, Uhlenhut e Fromme e Hubener e Reiter realizaram o isolamento em cobaia com sangue de soldados doentes na França. Após a inoculação, eles detectaram a *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* (CACCHIONE, 1962; IDO e COLS, 1917).

Em suínos, o primeiro relato ocorreu em 1935 quando Sandek observou que o sangue de um suíno icterico aglutinou fortemente a *L. icterohaemorrhagiae*, além disso o indivíduo que o abateu apresentou icterícia 8 dias após o abate. Klarenbeeck e Winsser, em 1937, isolaram *L. icterohaemorrhagiae* em quatro leitões que apresentavam icterícia aguda, a sua inoculação em cobaia provocou a doença. Já em 1940, Mochtar examinou os rins de 104 suínos, em Batávia, e ao isolar a leptospira em cobaia verificou que o soro correspondia a *L. pomona*. Em 1943, Johnson encontrou nos suínos de South Queensland (Austrália), *L. pomona* e *L. bataviae* (ENRIETTI, 2001).

No Brasil, McDowel (1917) constatou pela primeira vez a leptospirose no país a partir de um estudo realizado no Pará. No mesmo ano, Aragão (1917) identificou a *Leptospira icterohaemorrhagiae* em seis *Rattus norvegicus* no Rio de Janeiro (ARAGÃO, 1917; BRASIL, 1995).

Em suínos, no Brasil, Guida (1947) realizou os primeiros isolamentos de leptospiras no estado de São Paulo, identificando *Leptospira tarassovi* (GUIDA, 1958). CASTRO et al. (1962), SANTA ROSA et al. (1962;1970;1973), CORDEIRO et al. (1974), OLIVEIRA et al. (1980) continuaram a linha de pesquisa, na qual descrevera, os isolamentos de *L. canicola*, *L. pomona*, *L.*

icterohaemorrhagiae, *L. hyos*. A presença de suínos portadores de *L. pomona* abatidos em frigoríficos também foi constatada por OLIVEIRA et al. (1983)

3.2 Etiologia

A leptospirose é uma doença infecto-contagiosa, zoonótica de distribuição mundial causada pela *Leptospira interrogans*. Esta enfermidade pertence à classe *Eubacteriales*, ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira* (TAGLIABUE e FARINA, 1995; FAINE, 1999; HAMOND, 2010; EUZÉBY, 2014).

Desde 1915 até 1989, a classificação foi apenas sorológica, onde o gênero *Leptospira* foi dividido em duas espécies, a *Leptospira interrogans*, que inclui todas as estirpes patogênicas; e *Leptospira biflexa*, que compreende as estirpes saprófitas isoladas do ambiente. Para a *Leptospira biflexa* foram descritos mais de 60 sorovares e para a *Leptospira interrogans* mais de 200 (SOBESTIANSKY et al., 2007).

A *Leptospira biflexa* possui três espécies: *L. biflexa*, *L. wolbachii* e *L. hollandia* e 38 sorovares distribuídas em seis sorogrupos (ALDER, MOCTEZUMA, 2010; GOMES, 2013; EUZÉBY, 2014).

A classificação para *L. interrogans* consiste a partir da *List of Prokaryotic with Standing in Nomenclature*, determinada por Jean Paul Euzéby. Dessa forma tem-se: *L. interrogans* (espécie tipo do gênero), *L. biflexa*, *L. borgpetersenii*, *L. inadai*, *L. wolbachii*, *L. meyeri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii*, *L. kirschneri*, *L. fainei*, *L. alexanderi*, *L. broomii*, *L. wolffii*, *L. kmetyi*, *L. licerasiae*, *L. alstonii*, *L. terpstrae*, *L. yanagawae*, *L. idonii*, *L. vanthielii* (EUZÉBY, 2014; GOMES, 2014).

Em suínos, os sorovares encontrados mais frequentemente causando infecção e a doença compreendem: Pomona, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Canicola, Gryppotyphosa, Bratislava e Muenchen. Sendo que os quatro primeiros já foram isolados em estudos no Brasil (SOBESTIANSKY et al., 2007).

3.3 Epidemiologia

A leptospirose é uma antropozoonose de ocorrência mundial. (CAMPOS et al., 2011). Sua epidemiologia está fortemente relacionada ao ambiente, pois é onde estão inseridas as condições para instalação do patógeno e sua disseminação. Dentre os sorovares identificados, nota-se a necessidade da umidade, a qual representa um papel essencial na cadeia epidemiológica da Leptospirose suína. Além desta, fatores climáticos também influenciam, como a estação de chuvas, temperatura, vento e umidade relativa do ar. As regiões tropicais e subtropicais são mais favoráveis ao surgimento da doença quando comparadas a regiões temperadas, secas e frias (SZYFRES, 1976; FAINE, 1982; BOQUIST et al., 2005). A taxa de morbidade é classificada como alta, podendo atingir todo o rebanho, por outro lado a taxa de mortalidade é considerada baixa (GÓMEZ, 2008).

Esta enfermidade está, ainda, intimamente ligada a questões socioeconômicas, visto que grupos que possuem acesso limitado à saúde de qualidade, que residem em moradias de condições precárias associado a falta de saneamento básico, estando assim expostos a enchentes e esgotos a céu aberto estão mais susceptíveis a contrair a doença (PELISSARI, 2011).

No Brasil, a leptospirose é uma enfermidade endêmica, representando um risco alto à saúde pública. Além dos fatores climáticos, o país encontra-se dentro do grupo de locais que crescem sem planejamento, onde o acúmulo de lixo é constante, o que facilita a proliferação de roedores nos centros urbanos e rurais e, conseqüentemente, pode levar a um maior número de casos registrados (BRASIL, 1996; BEZERRA et al., 2010; VIEIRA et al., 2012).

A variedade de sorovares presentes em rebanhos suídeos em sua ampla distribuição geográfica influencia diretamente a cadeia epidemiológica. As condições sanitárias das granjas, bem como a distância entre as mesmas e o trânsito de animais entre as propriedades também representam importância em relação aos fatores que favorecem o avanço da leptospirose em produção de suínos (BURRIEL et al., 2003).

3.4 Transmissão

As fontes de infecção da leptospirose são os reservatórios e portadores da bactéria, como os animais silvestres, domésticos e roedores. Estes podem apresentar sinais da doença ou não. Dentre estes reservatórios, os roedores ocupam uma posição de destaque principalmente na área urbana, pois deslocam-se com facilidade e são assintomáticos (BRASIL, 1995; SEHGAL, 2006). No meio rural, o roedor divide essa posição com os próprios animais infectados na propriedade, visto que o suíno contribui consideravelmente para a disseminação rápida da doença, pois o mesmo pode eliminar grande quantidade de leptospiros através da urina 30 a 60 dias pós infecção (SOUZA et al., 2012).

A eliminação da bactérias se dá principalmente através da urina (PIRES, 2010). A excreção urinária é intermitente e pode ser prolongada a depender do hospedeiro que alberga o agente e o sorovar envolvido (ELLIS, 1994). Os roedores apresentam leptospiúria por tempo prolongado, contendo a bactéria alojada nos rins, dessa forma, a urina é excretada no ambiente e assim contamina solo, água e alimentos (SLEIGHT, 1965). Estudos mostram que animais de produção infectados vem apresentando o agente não só na urina, mas no sêmen e em corrimentos vaginais, o que evidencia que além do trato urinário, o trato reprodutor também é considerado meio de colonização para a bactéria e posterior fonte de transmissão para outros animais (ELLIS, 1994).

A infecção dos suínos ocorre, principalmente, através das vias oral, venérea, pele lesionada, via conjuntiva ou mucosas (OLIVEIRA, 2007). Podendo ainda se contaminar no próprio ambiente ou por alimentos contaminados (DELBEM et al., 2002).

Sem um hospedeiro para habitar, as condições ótimas de sobrevivência das leptospiros incluem solo úmido, temperatura de 28°C e pH neutro ou levemente alcalino (PERRY e HEARDY, 2000). Experimentos realizados confirmaram até 180 dias de viabilidade de leptospiros nessas condições. O sorovar Pomona pode permanecer até seis meses em solos saturados de umidade, sobrevivendo apenas 30 minutos em solo seco. Temperaturas acima de 50°C matam as leptospiros, as quais são sensíveis a

detergentes e desinfetantes comuns (LEFEBVRE, 2004; GERARDI e ZIMMERMAN, 2005).

A leptospirose acomete grande parte dos animais domésticos, incluindo o homem (ACHA; SZYFRES, 2003). Sua transmissão engloba a interação entre os reservatórios da doença, o ambiente com condições favoráveis para seu desenvolvimento e os grupos humanos susceptíveis (HOMEM et al., 2001; BARCELLOS et al., 2003; SOUZA JUNIOR et al., 2006).

Dentro da produção, alguns fatores são determinantes em relação a permanência da infecção no ambiente, entre eles têm-se a aquisição e trânsito de animais, utilização de pasto e acesso a fontes de água dos quais outros animais de outras propriedades ou de outras espécies possam ter acesso, além de aglomerações de animais em exposições e leilões (WHO, 2003).

Dentre tantos fatores que contribuem para a disseminação e transmissão da doença, observa-se que cada granja produtora de suíno funciona de forma diferente em relação à viabilidades, permanência e transmissão da leptospira, pois o ambiente, bem como o manejo e instalações não serão semelhantes umas às outras (PIFFER et al., 1998)

3.5 Patogênese

As leptospirosas penetram o organismo dos suínos através da pele lesada e de mucosas em geral. O período de incubação dura de 2 a 5 dias (ROSE, 1966). Após esse tempo, o agente se multiplica no interstício e em fluidos orgânicos, levando o animal a um quadro de septicemia aguda, conhecido como leptospiremia, que dura em torno de 2 a 3 dias. Nessa fase, há disseminação hematogênica, afetando órgãos parenquimatosos, especialmente fígado, rins, baço, atingindo ainda, algumas vezes, os fetos nos quais há multiplicação do patógeno o que leva à morte e reabsorção do feto e abortos. (ROSE, 1966; FAINE, 1982; CORREA, 1992; ADLER E MOCTZETUMA, 2010).

A fase seguinte, crônica, é conhecida como leptospirúria. Nesta há a presença de anticorpos circulantes e de leptospira na urina, caracterizando esse período como fase da imunidade. A principal defesa contra a leptospirose é a

resposta humoral, dessa forma, dependendo da rapidez e eficiência da resposta imunológica, a infecção pode evoluir, levando à morte do hospedeiro, pode se tornar crônica ou o animal pode se curar. Nessa fase de cronicidade, as bactérias tendem a se instalar em locais como túbulos renais, olhos e útero, pois são locais de atividade de anticorpos pouco evidentes (COSTA et al., 1981; FAINE, 1994; ALT E BOLIN, 1996; SARAZÁ E VAZCAÍNO, 2002; BASTOS, 2006).

Os túbulos renais apresentam-se como estruturas de importância, visto que a urina é a principal via de eliminação do patógeno da Leptospirose. Dependendo do hospedeiro infectado e do sorovar identificado, a excreção do agente pode ocorrer por um longo período de tempo. Em animais de produção, a preocupação torna-se maior pois estes passam a ser fontes permanentes de infecção da doença em relação ao restante do rebanho e do ambiente (ELLIS, 1994; RIET-CORREA)

3.6 Sinais clínicos

Nos suínos, a infecção se apresenta como subclínica ou assintomática. Em muitos casos, o único sinal clínico perceptível da doença é o abortamento tardio. Os sinais clínicos apresentados variam dependendo da extensão das lesões e do órgão afetado. Na produção animal, as manifestações mais frequentes estão relacionadas ao sistema reprodutivo, como descarga vulvares, abortamentos no terço final da gestação, infertilidade, repetição de cio, natimortalidade e nascimento de leitões debilitados, que vêm a óbito nos primeiros dias de vida (GUIMARÃES et al., 1982; ELLIS, 1994; FERREIRA NETO et al., 1997; GIRIO et al., 1998; DELBEM et al., 2002).

Na forma aguda, pode-se observar febre a mastite focal não supurativa em animais adultos. Nos jovens, ocorre febre, anorexia, icterícia, hemoglobinúria e alta mortalidade. Os leitões que morrem por leptospirose apresentam anemia, hemorragias petequiais e sufusões subserosas e submucosas, esplenomegalia, aumento do volume do fígado e com áreas amareladas irregulares, rins congestionados e aumentados de volume também, com

hemorragias corticais em infecções recentes e com focos necróticos aczentados em infecções observadas após sete dias. Nos casos graves, hemorragias petequiais subpleurais e hepatização dos lobos pulmonares, hemorragias petequiais no epicárdio e endocárdio podem ser observadas. Os linfonodos podem estar edematosos e aumentados de volume (BORDIN, 1992; CORREA E CORREA, 1992; SOBESTIANSKY et al., 1999; SOTO et al., 2007). Este quadro clínico é comumente associado ao sorovar *Icterohaemorrhagiae*. Em animais jovens, na fase de aleitamento, pode-se ter, ainda, casos de encefalite no qual o animal apresenta incoordenação motora e quadros convulsivos com movimentos de pedalagem (FAINE, 1982).

Na forma crônica, comum nos suínos adultos, a leptospirúria está associada ao sorovar *Pomona*. Os suínos são considerados hospedeiros de manutenção do mesmo. Aos sorovares *Canicola* e *Icterohaemorrhagiae* juntamente com o *Pomona* são atribuídos a infertilidade, abortamentos e natimortalidade (BASTOS, 2006; ELLIS, 1999).

A ocorrência de leptospirose em uma criação de suínos no setor gestacional leva ao aumento de infertilidade das fêmeas reprodutoras, prejudicando a taxa de parto do plantel (EDWARDS, 1979).

Enquanto as fêmeas mais velhas se tornam imunes, no primeiro incidente da doença na criação, todas as faixas etárias estão susceptíveis ao abortamento (DANNEMBERG et al., 1975).

3.7 Diagnóstico

As técnicas de diagnóstico laboratorial objetivam detectar de forma direta ou indireta o agente ou o seu material genético (SANTA ROSA et al., 1969; FAINE et al., 1999). Na identificação de leptospirose suína, o ideal é combinar provas sorológicas e a detecção direta do patógeno (LARSSON et al., 1984).

3.7.1 Diagnóstico direto

Na fase aguda da doença, utiliza-se duas formas principais de diagnóstico laboratorial direto: colheita de sangue heparinizado e urina para exame direto em microscópio de campo escuro; e pelo cultivo bacteriano em meio bacteriológico e inoculação em cobaias (VASCONCELLOS, 1979; BOLIN et al., 1989; QUINN et al., 1994; KRAUSS et al., 2003; DE LA MAZA et al., 2004; ADLER E MOCTEZUMA, 2010).

Ambos os métodos apresentam algumas desvantagens. O primeiro mostra-se com baixa sensibilidade, exige examinador qualificado e há a necessidade de avaliação de várias amostras de um mesmo animal (VASCONCELLOS, 1979; BOLIN et al., 1989). O segundo método também apresenta baixa sensibilidade, requer alta demanda de tempo e é considerada laboriosa, além disso o cultivo das amostras pode falhar, pois as bactérias podem morrer antes da inoculação em meio de cultura (OLIVEIRA, 1988; SHIMABUKURO et al., 2003).

As técnicas de biologia molecular vêm ganhando destaque por mostrarem maior sensibilidade e praticidade, proporcionando um diagnóstico rápido, especialmente nos casos em que outras provas seriam inviáveis. A técnica de PCR para o diagnóstico de leptospirose suína é específica, sensível e rápida, sendo assim, considerada um importante método de avaliação laboratorial (SHIMABUKURO, et al., 2003; SOTO et al., 2007)

Através do teste de ELISA de captura, técnicas na pesquisa de leptospirosas vêm sendo aperfeiçoadas. As técnicas de imuno-histoquímica aumentam a capacidade de detecção das leptospirosas íntegras ou fragmentadas (SCANZIANI et al., 1989; DEY et al., 2004; HAANWINCKEL et al., 2004).

3.7.2 Diagnóstico indireto

O método mais utilizado para pesquisa de leptospirose é a soroaglutinação microscópica (SAM), principalmente em suínos. É referência

preconizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pela OIE (VASCONCELLOS, 1979; COSTA et al., 1998; FAINE et al., 1999; BRASIL, 2002, OIE, 2014). A interpretação desse teste pode ser influenciada pelo uso de vacinas polivalentes e por reações cruzadas que ocorrem entre sorogrupos diferentes, especialmente na fase aguda da enfermidade (FAINE, 1994; OLIVEIRA, 1999). Assim, é imprescindível saber do histórico de vacinas antileptospirose suína em fêmeas reprodutoras para a interpretação dos resultados, já que títulos de anticorpos vacinais podem ser observados nos animais (SOBESTIANSKY et al., 1999)

A técnica de ELISA é capaz de identificar imunoglobulinas específicas da classe IgM, IgG e IgA, facilitando, assim a distinção da infecção recente da ocorrida previamente com apenas uma amostra sorológica. Dessa forma, este método é considerado mais sensível e específico que a SAM (DEY, et al., 2004).

3.8 Tratamento

O controle da infecção é feito por meio de antibioticoterapia, que além de conter a bacteremia e seus efeitos no hospedeiro clinicamente afetados, visa reduzir a eliminação do agente pela urina, sêmen e secreção vaginal dos animais que se encontram na fase crônica da doença (FIGUEIREDO et al., 2013).

As leptospirosas são sensíveis a várias drogas antimicrobianas. Pesquisas mostram que essas bactérias apresentam alta sensibilidade à penicilina G, ampicilina, amoxilina, eritromicina e fluoroquinolonas. São resistentes a cefalotina, clorafenicol e sulfonamidas. A droga de eleição é a estreptomicina aplicada por via parenteral, na concentração de 25 mg/kg de peso vivo, no entanto há algumas restrições pois têm-se relatos de resíduos desse medicamento nos alimentos de origem animal (GUIMARÃES, et al., 1982; ELLIS, 2006; PRESCOTT, 2006).

3.9 Profilaxia

Uma produção suinícola proporciona diversas formas viáveis para a permanência e transmissão da leptospirose através de características favoráveis do ambiente, manejo e instalações. Logo, um programa de controle da doença eficiente precisa levar em consideração o quadro geral, o que inclui o homem, as condições ambientais e os reservatórios (PIFFER et al., 1998; COELHO, 2011; HASHIMOTO, 2012).

Em relação aos animais, vacinas já se encontram disponíveis no mercado brasileiro. O esquema de vacinação consiste na aplicação de duas doses nas primíparas, obedecendo um intervalo de 14 dias entre as doses e entre a última dose e a cobertura. Matrizes com mais de um parto devem ser vacinadas no período de lactação, 14 dias antes da cobertura ou na primeira semana de lactação. Enquanto que os machos devem receber a vacina semestralmente, após a aplicação das duas doses iniciais (CARVALHO, 2005; SOTO et al., 2007).

No combate aos animais que atuam como reservatórios da doença, é importante não prover um ambiente para a sua proliferação. Dessa forma, os insumos devem ser armazenados em ambiente com forro no telhado, telas protetores em janelas e frestas, além de um rigoroso controle no fluxo de entrada e saída. O recolhimento e o destino do lixo produzido na granja deve ter fim em locais apropriados (CARVALHO NETO, 1986).

No que tange às instalações, o manejo de desinfecção é essencial para a eliminação patógeno presente, sendo uma alternativa o vazio sanitário obedecendo ao sistema - tudo dentro, tudo fora - (SOBESTIANSKY et al., 1999). Além disso, deve-se realizar a drenagem de áreas alagadas nas proximidades da propriedade, instalar bebedouros automáticos e higienização periódica dos reservatórios de água (DELBEM, et al., 2004).

Outro fator a se considerar é a aquisição de animais reprodutores de outras granjas, pois há o risco destes possuírem a infecção, aumentando o risco de transmissão para o restante da granja (MORAES, 1999). Dessa forma, na

realização da inseminação artificial, deve-se utilizar sêmen tratado com medicamentos antimicrobianos (FIGUEIREDO, 2013).

Em casos de animais positivos, o descarte de fêmeas com mais de seis partos e comprovadamente soro-reagentes para a leptospirose podem auxiliar na redução de perpetuação da enfermidade (SOTO et al., 2007).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

O estudo foi conduzido no estado do Maranhão que possui uma área territorial de 331.983,293 Km², localizado a Noroeste da Região Nordeste. Limita-se ao Norte com o Oceano Atlântico, Sul e Sudoeste ao estado do Tocantins, Leste e Sudeste com o Piauí e ao Oeste com o Pará. O Estado contém 217 municípios e uma população estimada em 6.794.301 habitantes (IBGE, 2013a) e um rebanho suíno total de 1.233.492/cabeças. (IBGE, 2013b).

Esta pesquisa foi realizada a partir de amostras provenientes de matadouros sem serviço oficial de inspeção localizados nas regionais de Açailândia, Balsas, Barra do Corda, Caxias, Codó, Imperatriz, Pinheiro e São Luís.

Figura 1. Suínos abatidos em abatedouros sem inspeção oficial. A- Animal abatido no chão; B- Local improvisado para evisceração do animal



Fonte: Galvão (2016)

Os lotes de animais destinados ao abate continham aproximadamente de três a dez cabeças. Os animais não manifestaram sinais clínicos da doença. Em algumas propriedades, o abate era realizado no próprio local. De acordo com os proprietários, os suínos eram oriundos de propriedades que utilizavam o

sistema de criação extensivo. Portanto, os animais não viviam dentro de confinamentos, não havia alimentação balanceada de forma que buscavam seu próprio alimento ou alimentavam-se de resíduos de refeições humanas.

Um número menor de animais eram provenientes de propriedades que utilizavam sistema de criação intensiva. Nestes a rastreabilidade específica dos animais, com identificação da propriedade foi possível de ser realizada, ao contrário dos suínos de criação extensiva.

4.2 Colheita das amostras

Foram colhidas 150 amostras de sangue durante o abate de diversos rebanhos suínos localizados no estado do Maranhão para diagnóstico de Leptospirose. Antes da realização da sangria, constatou-se o tipo de sistema de criação, a origem dos animais e o nível de entendimento dos marchantes a respeito da Leptospirose mediante entrevista. Os animais amostrados não apresentaram histórico de vacinação de Leptospirose, ou lesões características da doença. O número de amostras foi definido conforme a disponibilidade de animais durante o abate.

Durante a sangria dos animais, colheu-se 10 ml de sangue em tubos sem anticoagulante. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Doenças Infecciosas do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), onde o soro foi obtido através da sua separação do sangue total por meio da centrifugação a 900rpm por cinco minutos. O soro foi armazenado em microtubos de polietileno e conservado a -20°C até o momento da realização do teste de SAM.

4.3 Preparo do antígeno

O antígeno foi preparado utilizando-se culturas vivas de 24 variantes sorológicas de *Leptospira interrogans* mantidas em meios sólido de FLETCHER (1928) e meio semi-sólido EMJH, suplementados com soro de coelho, filtrado em membrana Millipore estéril para retenção de resíduos. Os dois meios foram

preparados, esterilizados e posteriormente transferidos para 24 tubos de ensaio e adicionados o meio de FLETCHER e aos outros 24 tubos foram adicionados o meio de EMJH. Em seguida, os tubos foram incubados em estufa bacteriológica à temperatura de 28° a 30°C durante 7 a 14 dias. O repique das cepas foi realizado semanalmente em novos tubos contendo os dois meios. Seguindo o protocolo do laboratório, todas as culturas foram examinadas ao microscópico de campo escuro antes de iniciar a técnica sorológica.

4.4 Soroaglutinação Microscópica (SAM)

Para o diagnóstico sorológico de *Leptospira* spp, foi realizado a técnica sorológica de Soroaglutinação Microscópica (SAM), descrita por Galton et al. (1965) e Cole, Sulzer e Pulssely (1973), recomendada pela WHO (1967) e OIE (2010). Foram utilizados antígenos vivos compostos por 24 sorovares do complexo *Leptospira* spp, provenientes do banco do Laboratório de Diagnóstico de Doenças Infecciosas da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), listados na Tabela .

Cada amostra de soro foi diluída a 1:50 (0,1mL de soro testado + 0,4mL de solução tamponada de Sorensen com pH 7,2). Com o auxílio do pipetador, 30µL dessa diluição foram distribuídos em placas de porcelana escavada. Após a distribuição, foi adicionado 30µL de cada antígeno correspondente, de acordo com a numeração das placas, obtendo-se uma diluição de 1:100. As amostras foram testadas para 24 sorovares do complexo *Leptospira* spp. As diluições de 1:100 foram, então, transferidas das placas para lâminas de fundo fosco, para visualização das reações de aglutinação no microscópico de campo escuro. Foram consideradas reações positivas quando 50% ou mais das *Leptospiras* apresentavam aglutinação por campo microscópico.

Para interpretação da prova SAM foi considerado reação positiva a presença de aglutininas anti-*Leptospira* spp nas amostras com aglutinação microscópica igual ou superior a 50 em relação ao controle positivo. A leitura o grau de aglutinação consistiu no seguinte critério: 1 + (menos de 50% de

Leptospira aglutinada), 2 + (cerca de 51% a 74% de aglutinações) e 3 + (75 a 100% de aglutinações). Foram então consideradas positivas as amostras examinadas com título igual ou superior a 1:100, com 50% de aglutinação ou desaparecimento das células do campo, em microscopia de campo escuro.

Tabela 1 - Coleção de antígenos do complexo *Leptospiraspp* de referência utilizados na prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM), segundo espécie e sorovar.

ESPÉCIE	SOROVAR
<i>L. interrogans</i>	Australis
<i>L. interrogans</i>	Brastilava
<i>L. interrogans</i>	Wolffi
<i>L. interrogans</i>	Hardjo
<i>L. interrogans</i>	Pomona
<i>L. interrogans</i>	Autumnalis
<i>L. interrogans</i>	Hebdomadis
<i>L. interrogans</i>	Canicola
<i>L. interrogans</i>	Sentot
<i>L. interrogans</i>	Copenhageni
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae
<i>L. interrogans</i>	Pyrogenes
<i>L. interrogans</i>	Cynopteri
<i>L. borgpetersenii</i>	Butembo
<i>L. borgpetersenii</i>	Castellonis
<i>L. borgpetersenii</i>	Javanica
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi
<i>L. borgpetersenii</i>	Whitcombi
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa
<i>L. noguchi</i>	Panama

L. santarosai

Bataviae

L. santarosai

Shermani

L. biflexa

Andamana

L. santarosai

Guaricura

Fonte: OIE(2010)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo observou-se que das 150 amostras analisadas, 62 (41,3%) foram reagentes a pelo menos um dos 24 sorovares da coleção de antígeno anti-*Leptospira* spp. Através do método SAM, os sorovares mais frequentemente encontrados incluem Canícola 24/150 (16%), Sentot 22/150 (14,6%), Butembo 17/150 (11,3%), Tarassovi 14/150 (9,3%), Castelone 10/150 (6,66%), Batavae 9/150 (6%) e Whitcombi 9/150 (6%). Outros sorovares também foram encontrados tais como: Australlis, Bratislava, Autumnallis, Cynopte, Grippytyphosa, Hebdomadis, Compenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panamá, Pomona, Pyrogenes, Hadjo, Wolf, Andamana e Guaricura, porém numa frequência menor (Tabela 2).

Tabela 2 - Frequência de sorovares anti-*Leptospira* spp diagnosticados em 150 suínos abatidos no estado do Maranhão, 2017

Sorovares	Reagentes	
	n	%
Australlis	4	2,67
Bratislava	2	1,33
Autumnallis	1	0,67
Butembo	17	11,3
Castelone	10	6,67
Batavae	9	6
Canicola	24	16
Sentot	22	14,6
Whitcombi	9	6
Cynopte	4	2,67
Grippytyphosa	3	2
Hebdomadis	2	1,33

Compenhageni	7	4,67
Icterohaemorrhagiae	3	2
Javanica	1	0,67
Panama	1	0,67
Pomona	4	2,67
Pyrogenes	1	0,67
Hadjo	2	1,33
Wolf	1	0,67
Shermani	0	0
Tarassovi	14	9,3
Andamana	2	1,33
Guaricura	2	1,33

Fonte: Elaborada pela autora

Os dados encontrados no presente estudo são similares aos obtidos na pesquisa de Santos et al. (2011) realizada na cidade de Itabuna- BA, na qual foi analisado o sangue de 72 animais através da PCR, para presença de DNA da *Leptospira interrogans*, constatando percentual de 19,44% de positividade, equivalente a 14 amostras reagentes.

Shimabukuro et al. (2003) realizaram estudo com 131 suínos abatidos em matadouro localizado em Botucatu-SP, no qual obteve 48 amostras sorológicas positivas, com um percentual de ocorrência de anticorpos anti-leptospira de 36,64%. Nessa pesquisa, o sorovar mais encontrado foi o Icterohaemorrhagiae.

Tais dados corroboram o estudo feito no estado do Paraná por Delbem et al. (2000), que obtiveram 24 fêmeas reagentes de um total de 36 amostras através da técnica SAM, caracterizando 66,67% de positividade, sendo o sorovar Icterohaemorrhagiae o mais encontrado. Estes autores encontraram também os sorovares Castellonis, Grippotyphosa, Pomona e Fortbragg. Ainda no Paraná, Hashimoto et al. (2008) analisaram amostras de sangue e rim de 240

animais, observando 25 positivos, sendo que destes 65,71% reagiram para *Icterohaemorrhagiae*.

No estado da Paraíba, os dados encontrados por Azevedo et al. (2009) diferem do presente estudo. 126 amostras foram analisadas, das quais 18 foram positivas. O sorovar de maior ocorrência foi o *Autumnalis*, porém o autor observou ainda os sorovares *Copenhageni*, *Sentot*, *Butembo*, *Pomona*, *Tarassovi* e *Cynopteri*.

Em 2002, Favero et al realizaram um estudo retrospectivo no Brasil abrangendo os anos de 1984 a 1997. Foram realizados 15.558 exames sorológicos, dos quais 8.568 eram referentes a suínos. Destes, 24,46% apresentaram soropositividade. No estado de Minas Gerais, os sorovares mais frequentes foram *Grippotyphosa* e *Icterohaemorrhagiae*, no Rio Grande do Sul, o sorovar *Pomona* foi o de maior ocorrência, em Pernambuco e no Rio de Janeiro, foram os sorovares *Pomona* e *Icterohaemorrhagiae*, no Ceará, identificou-se o sorovar *Autumnalis* e nos estados de Goiás, Paraná, Santa Catarina e São Paulo, o sorovar de maior ocorrência foi o *Icterohaemorrhagiae*.

Em relação ao Maranhão, Gonçalves et al. (2011) observaram, através de um inquérito sorológico para leptospirose em 150 suínos oriundos dos estados do Piauí e do Maranhão, a presença de anticorpos anti-leptospira em 4,7% dos animais. O sorovar de maior ocorrência foi o *Icterohaemorrhagiae*. Entretanto, observou-se, ainda, a ocorrência dos sorovares *Canicola*, *Autumnalis*, *Pomona* e *Pyrogenes*.

No Maranhão, a criação de suínos carece de investimento, o que dificulta a implantação de granjas de alto nível tecnológico. Dessa forma, esta atividade preconiza a produção para consumo próprio (GONÇALVES, 2010). Outro fator que influencia na ausência de produção tecnificada é o alto valor da alimentação de sistema de criação intensiva (NEPOMUCENO, 2010). Fato, este, observado nas granjas do presente estudo, em que os animais eram deixados para se alimentar por conta própria, muitas vezes utilizando restos de alimentação humana.

A alta frequência do sorovar Canícola observada neste estudo sugere infecção accidental, uma vez que havia cães nos locais de abate dos animais (Figura 1). A presença de equinos, caprinos, ovinos e caninos também é considerado um fator de risco importante. A criação de diferentes espécies na mesma propriedade representa uma fonte constante de infecção aos animais (RADOSTITS et al., 2002).

Figura 2. Criação suinícola com presença de cães.



Fonte: Galvão (2016)

Em 2011, Paixão et al., encontraram em animais silvestres de vida livre e de cativeiro, soropositividade de 89% para um ou mais sorovares de *Leptospira spp*, identificando os sorovares Australlis, Autumnalis, Shermani, Sentot, Cynopteri, Butembo, Grippytyphosa, Hebdomais, Icterohaemorrhagiae, Canícola e Tarassovi. Além do sorovar Canícola, outros encontrados nesta pesquisa sugerem que há presença de animais selvagens de vida livre nas granjas.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que a ocorrência de *Leptospira* em suínos foi elevada, tendo o sorovar Canícola como a maior frequência, seguido dos sorovares Sentot, Butembo, Tarassovi, Castelone, Batavae e Whitcombi.

Dessa forma, fica claro que o abate clandestino representa uma problemática preocupante no cenário da suinocultura maranhense, sendo facilitado pela carência de medidas sanitárias na produção e ausência de fiscalização adequada, além do fato da atividade suinícola ser, em sua maioria, baseada em sistema de criação extensivo.

Portanto, torna-se importante aumentar o controle sanitário pelos órgãos de defesa, principalmente nas regiões onde a suinocultura é menos tecnificada, visando estabelecer protocolos de controle e prevenção de doenças e programas de educação que incluam os produtores e profissionais envolvidos no manejo e abate dos animais, visto que estão diretamente expostos a agentes patogênicos.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3 ed. Washington, D.C.: Pan American Health Organization, 2003. v. 1, p. 28-45.
- ADLER, B.; MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Vet. Microbiol.**, v. 140, n. 3, p. 287-296, 2010.
- ADLER B, Moctezuma AP. *Leptospira*. In: Gyles CL, Prescott JF, Songer G, Thoen CO. (Ed.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 4.ed. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2010. p.527-548.
- ALT DP, Bolin C. Preliminary evaluation of antimicrobial Agents for treatment of *Leptospira interrogans* serovar pomona infection in hamsters and swine. **Am. J. Vet. Res**, v.57, p.59-62, 1996.
- ALMEIDA, L.P.; MARTINS, L.F.S.; BROD, C.S. Levantamento soroepidemiológico de leptospirose em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental em localidade urbana da região sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.28, n.1, p.76-81, 1994.
- BARCELLOS, C.; LAMMERHIRT, C. B.; ALMEIDA, M. A. B.; SANTOS, E. Distribuição espacial da leptospirose no Rio Grande do Sul, Brasil: recuperando a ecologia dos estudos ecológicos. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1283-1292, set./out., 2003.
- BASTOS, M. **Leptospirose**. Disponível em: <<http://www.cca.ufes.br/caklbacteri.htm>>. Acesso em: 14 mar. 2006.
- BEZERRA, D. C. et al. Pesquisa de aglutininas anti-*Leptospira* em soros sanguíneos de asininos (*Equus Asinus*) e de condutores de veículos de tração animal na cidade de São Luís, MA, Brasil. **Ciê. Animal Bras.**, v. 11, n. 4, p. 931-937, 2010.
- BOLIN CA, ZUERNER RL, TRUEBA G. Effect of vaccination with a pentavalent vaccine containing *leptospira interrogans* serovar hardjo type hardjo-bovis vaccine on type hardjo-bovis infection of cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v.50, p.2004-2008, 1989.
- BOQUIST S, Hothi UT, Magnusson A. Annual variations in *leptospira* seroprevalence among sows in southern vietnam. **Trop. Anim. Health. Prod.**, v.6, p.443-449, 2005.
- BORDIN, E.L. **Contribuição ao diagnóstico em patologia suína**. 2.ed. São Paulo: Editora Roca, 1992. 192p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. **Manual de leptospirose**. 2. ed. Brasília, DF, 1995.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica – Leptospirrose**. Secretaria de Vigilância em Saúde/MS, Caderno 8, CID10:A27, p.502-520. Brasília,DF, 2005. Disponível em: Biblioteca Virtual do Ministério da Saúde: <<http://www.saude.gov.br/bvs>>. Acesso em: 16 nov. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 50, de 24 de setembro de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília DF, n. 186, 25 set. 2013. Seção 1, p. 47.

BURRIEL, A.R. et al. Sorological evidences of *brucella* species and *Leptospira interrogans* sorovars in greek swine herds. **Journal of Swine Health and Production**, v. 11, n. 4, p. 186-189, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 50, de 24 de setembro de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 186, 25 set. 2013. Seção 1, p. 47.

CAMPOS, H. et al. Leptospirose saúde ambiental, saneamento básico e urbanização. **Revista de Trabalhos Acadêmicos**, América do Norte, 2, jun. 2011. Disponível em: <http://www.vestibularead.universo.edu.br/index.php?journal=1reta2&page=article&op=view&path%5B%5D=352>. Acesso em: 26 Out. 2016.

REVISTA de Trabalhos Acadêmicos, América do Norte, 2, jun. 2011. Disponível em: <http://www.vestibularead.universo.edu.br/index.php?journal=1reta2&page=article&op=view&path%5B%5D=352>. Acesso em: 26 out. 2014.

CARVALHO LFOS. **Vacinas e vacinações em suinocultura intensiva**. In: Seminário Internacional de Aves e Suínos - Avesui, Suinocultura: saúde e meio ambiente, 4, 2005, Florianópolis, SC. Anais... Florianópolis: AVESUI, 2005. p.14. Resumo.

CARVALHO NETO C. **Estudos sobre a resistência a warfarina em roedores da cidade de São Paulo, SP**. 1986. 74f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 1986.

CORRÊA, W .M.; CORRÊA, C.N.M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora Médica Científica, 1992. 843p.

CORCHO et al. **Leptospiroses humana, uma enfermidade esquecida**. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Havana, Cuba, 2008.

COSTA AV et al. Estado imunológico na leptospirose. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**,

v.41, p.93-100, 1981.

DE LA MAZA LM et al. (Ed.). **Color atlas of medical bacteriology**. Washington, DC: ASM Press, 2004. p.266-267.

DELBEM ACB et al. Leptospirosis in slaughtered sows: serological and histopathological investigation. **Braz. J. Microbiol**, v.33, p.174-177, 2002.

DELBEM ACBF et al. Fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas. **Ciência Rural**, v.34, p.847-852, 2004.

DEY S, MOHAN CM, KUMART MAS. Recombinant LipL32 antigen-based single serum dilution ELISA for detection of canine leptospirosis. **Vet. Microbiol**, v.103, p.99-106, 2004.

ELLIS WA. Leptospirosis. In: Straw BE, D´allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ, Leman AD (Ed.). **Diseases of swine**. 9.ed. Ames, IA: Blackwell, 2006. p.691-700.

ELLIS WA. Leptospirosis in pig. **Pig. Vet. J.**, v.28, p.24-34, 1992.

ELLIS WA. **Leptospirosis as a cause of reproductive failure**. Veterinary Clinics of North America: food animal practice, v.10, n.3, p.463-478, 1994.

ELLIS W.A. Leptospirosi. In: STRAW B.E., D´ALLAIRE S., MENGELING W.L., TAYLOR D.J. & LEMAN A.D. (Eds.), **Diseases of swine**. 9 ed. Iowa State University Press, Iowa. p. 691-700. 2006.

EDWARDS, J.D.; DAINES, D.A Leptospirosis outbreak in a piggery. **New Zealand Veterinary Journal**, v.27, n.11, p.247-248, 1979.

EUZÉBY, J. P. **List of prokaryotic names with standing in nomenclature**. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/leptospirosis.html>>. Acesso em: 07.out.2013.

EUZÉBY, J. P. **List of prokaryotic names with standing in nomenclature**. Disponível em: <<http://www.bacterio.net/leptospirosis.html>>. Acesso em: 10.jul.2014.

FAINE S (Ed.). **Leptospira and leptospirosis**. Boca Raton, FL: CRC, 1994. 353p.

FAINE, S. **Leptospira and Leptospirosis**. 2. ed. Melbourne: MedSci, 1999.

FÁVERO A.C.M.,et al. Sorovares de leptospiras predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, v. 32, p. 613-619. 2002.

FERREIRA NETO JS, et al. **Leptospira interrogans serovar icterohaemorrhagiae and the reproductive performance of sows**. Prev Vet Med, v.31, p.87-93, 1997.

FREITAS, JC et al. *Leptospira* spp from dogs, bovine and swine naturally infected. **Ciência Rural**. v. 34, p. 853- 856, 2004.

FIGUEIREDO IL et al. Interrelação entre frequência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. e exams histopatológicos (Hematoxilina-eosina e Warthin-Starry) em suínos abatidos no semiárido paraibano. **Arq. Inst. Biológico**. 2013, v.80, p. 27-34

GERARDI MH, ZIMMERMAN MC. (Ed.). **Wastewater pathogens**. Hoboken, NJ: Wiley-Interscience, 2005. p.67- 68.

GERVASIO, E. W. **Suinocultura - Análise da Conjuntura Agropecuária: SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná**. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/SuinoCultura_2012_2013.pdf>. Acesso em: 10 dez. 2016.

GIRIO R J S , et al. **Alterações reprodutivas, hematológicas e anatomopatológicas em fêmeas suínas com títulos de anticorpos contra *Leptospira interrogans* sorotipo icterohaemorrhagiae**. R Bras Ci Vet 5: 99-103, 1998.

GOMES, J. P. **Gênero *Leptospira* spp**. Favet/UFRGS. 2013. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Leptospira%204-2013-1.pdf>>. Acesso em: 14 ago.2013.

GOMES, M. J. P. **Gênero *Leptospira* spp Microbiologia clínica veterinária**. Favet/ UFRGS, 2014. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C6%AAnero%20Leptospira%302-2014-1.pdf>>. Acesso em: 01 mar.2016.

GONÇALVES LMF. **Aglutininas anti-leptospiras em suínos e comprometimento renal**. Teresina. 2009, 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal-Universidade Federal do Piauí), 2009.

GONÇALVES, LMF, Costa FAL. **Leptospiroses em suínos no Brasil**. 2010.

GUIMARÃES et al. Epidemiologia e controle da leptospirose em bovinos: papel do portador e seu controle terapêutico. **Comun. Cienta. Fac. Med. Vet. Zootec. USP**, v.6-7, p.21-34, 1982/1983.

HAANWINCKEL MCS, MEGID J, SOUZA LC. Avaliação da prova de imunoperoxidase como recurso diagnóstico na leptospirose animal. **Arq. Inst.**

Biol. São Paulo, v.71, p.293-301, 2004.

HAMOND, C. **Avaliação do impacto da leptospira no desempenho atlético de equinos.** Dissertação (Mestrado Ciência Animal). Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2010.

HASHIMOTO V Y, Associação entre as lesões renais microscópicas e a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp em suínos aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico da região norte do estado do Paraná. *Semina: C. Agrárias*, v. 29, p. 875-880, 2008.

HOMEM, V. S. F. et al. Estudo epidemiológico da leptospirose bovina e humana na Amazônia Oriental Brasileira. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 2, p. 173-180, mar./abr., 2001.

JACKSON P.G.G. & COCKCROFT P.D. 2007. **Handbook of pig medicine.** Saunders Elsevier, Edinburgh. 296p.

KRAUSS H et al. (Ed.). **Zoonosis:** infectious diseases transmissible from animals to humans. 3.ed. Washington DC: ASM Press, 2003. p.203-205.

LANGONI H. Leptospirose: aspectos de saúde animal e de saúde pública. **Rev. Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 2: p. 52-58, 1995.

LARSSON CE, Leptospirose suína: inquérito sorológico e bacteriológico em municípios dos estados de São Paulo, do Paraná e de Santa Catarina. **Rev. Fac. Med. Vet. Zootec**, USP, v.21, p.43-50, 1984.

LEFEBVRE BL. Spiral-curved organisms V: leptospira. In: Hirsh DC, MacLachlan NJ, Walker RL. (Ed.). **Veterinary microbiology.** 2.ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2004. p.148-152.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Veterinary**, v. 14, p. 296-326, 2001.

MIRAGLIA, F. **Pesquisa de leptospiras no aparelho reprodutor, fígado, rim e urina de fêmeas suínas abatidas no período de abril de 2003 a agosto de 2004, em matadouro localizado no Estado de São Paulo.** 2005. Tese-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MORES N. Cuidados com a leitoa de reposição. **Instr. Téc. Suinocultor**, n.14, p.1-2, 1999.

NEGRÃO, A. M. G.; MOLNAR, E.; MOLNAR, L. Leptospirose em bovinos abatidos em matadouros no Estado do Pará. **Rev. Cienc. Agrar.**, Belém, n. 33, p. 77-86, jan./jun. 2000.

NEPOMUCENO R C. **Inclusão da quirera de arroz em rações de suínos na fase de creche**. Fortaleza. 2010 66f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, 2010.

OIE. **Leptospirosis**. 2010. Chapter 2.2.4. Disponível em: [HTTP://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00043.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/a_00043.htm)>. Acesso em: 12 mar. 2017.

OLIVEIRA SJ. Leptospirose em suínos. **Hora Vet**, v.7, n.41, p.5-8, 1988.

PAIXÃO, M. S. et al. Soroprevalência para Leptospirose em animais silvestres de vida livre procedentes do centro de conservação da fauna silvestre de Ilha Solteira, SP. **Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 2, p. 210-213, jul/dez., 2011.

PELISSARI, D. M. et al. Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000- 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 4, p. 565- 574, 2011.

PERRY G, HEARDY R. **A scientific review of leptospirosis and implications for quarentene policy**. Camberra, Australia: Canberra Publisher, 2000. 115p.

PIFFER IA, PERDOMO CC, SOBESTIANSKY J. Efeitos de fatores ambientais na ocorrência de doenças. In: Sobestiansky J. (Ed). **Suinocultura Intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. Brasília,DF: Embrapa-SPI, 1998. p.257-274.

PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. FEALQ, v. 2, cap. 51, p. 971-975, 2010.

PRESCOTT JF. Antimicrobial therapy of selected bacterial infections. In: Giguere S, Prescott JF, Baggot JD, Walker, RD, Dowling PM. (Ed.). **Antimicrobial therapy in veterinary medicine**. 4.ed. Ames: Blackwell, 2006. p.388.

QUINN PJ, CARTER ME, MARKEY B, CARTER GR. (Ed.). **Clinical veterinary microbiology**. 9.ed. London: Wolfe, 1994. p.292-299.

RADOSTITS O. M. et al. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 1737.

RIET-CORREA, F.; LEMOS, R. A. A. Leptospirose. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e equinos**. 2 ed., São Paulo: Varela, v. 1, 2001.

ROSE, G.W. Mechanism of tissue cell penetration by *Leptospira pomona*: active, penetration studies in vitro. **American Journal Veterinary Research**, n.27, p.1461- 1471, 1966.

SANTA ROSA CA, et al. Nove anos de leptospirose no Instituto Biológico de São

Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.29-30, p.19-27, 1969/1970.

SANTOS T.N.et al. Diagnóstico molecular de leptospirose em suínos abatidos clandestinamente no município de Itabuna-BA. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.33, n. 4, p.195-199, 2011

SARAZÁ, M.L.; SÁNCHEZ-VAZCAÍNO, J.M. **Mecanismo de infeccion de lãs enfermedades animales**. Porcine, n.68, p.13-26, 2002.

SCANZIANI E, SIRONI G, MANDELI G. Immunoperoxidase studies on leptospiral nephritis of swine. **Vet. Pathol**, v.26, p.442-444, 1989.

SCHENCK, J.A.P. **Isolamento de leptospira do sorogrupo hebdomadis de tatus (*Dasyus novemcintus*) capturados no Estado de Minas Gerais**. 1976. 75f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.1976.

SEHGAL, S.C. Epidemiological patterns of leptospirosis. **Indian J. Med. Microbiol.**, New Delhi, v. 24, n. 4, p. 70-75, 2006.

SHIMABUKURO FH, et al. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospirose pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**, v.40, p.243- 253, 2003.

SOBESTIANSKY, J et al (Ed.). **Clínica e patologia suína**. 2.ed. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 1999. 464p.

SOTO FRM, et al. Leptospirose suína. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo, v.74, p.379-395, 2007.

SOUZA JÚNIOR, M.F.; LOBATO, Z. I. P.; LOBATO, F. C. F. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do estado do Tocantins. **Rev. Socied. Brasil. de Med. Tropical**, v.39, p. 292-294, 2006.

SZYFRES SB. **La leptospirosis como problema de salud humana y animal em America Latina y el area del Caribe**. In: Reunión Interamericana sobre el Control de la Fiebre Aftosa y otras Zoonosis, 8, Cidade da Guatemala, 1975. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud, 1976. p.125-141. (Publicación Científica, 316).

TAGLIABUE S, FARINA R. Inchiesta siero epidemiologica sulla diffusione delle leptospirosi negli animali domestici ed alcune specie selvatiche. **Selez Vet**, v.36, p.941-953, 1995.

VASCONCELLOS SA. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. **Comun. Cient.**

Fac. Med. Vet. Zootec. USP, v.3, p.189- 195, 1979.

VIEIRA, M. L. Interação de Leptospira interrogans com o sistema proteolítico plasminogênio/plasmina: análise, caracterização e possíveis implicações na infecção. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012.

WHO. Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003. YANAGAWA, R.; KAWASSIMA, H.; HIROTA, E. Studies on the bovine leptospirosis in Japan. I. Epizootiological investigations. **Expl. Rep. Govt. Exp. Stn. Anim. Hyg.**, v. 29, p. 261-275, 1955.