

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-LEPTOSPIRA SPP. EM DIFERENTES SISTEMAS DE CRIAÇÃO DE SUÍNOS

OCCURRENCE OF LEPTOSPIRA SPP. ANTIBODIES IN PIGS FROM DIFFERENT HOUSING SYSTEMS

**Carolina Fonseca OSAVA¹; Sandra Renata Sampaio SALABERRY²;
Carolina Cardoso Nagib NASCIMENTO²; Anna Monteiro Correia LIMA-RIBEIRO³,
Rafael Quirino MOREIRA²; Jacqueline Ribeiro de CASTRO², Victor Henrique Bittar RIGO¹**

1. Graduanda em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária – FAMEV, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, Brasil. carol@hotmail.com; 2. Mestrando(a) em Ciências Veterinárias, FAMEV – UFU, Uberlândia, MG, Brasil; 3. Professora, Doutora, FAMEV – UFU, Uberlândia, MG, Brasil.

RESUMO: A leptospirose é uma zoonose de grande importância sócio-econômica para a suinocultura. Neste estudo, objetivou-se determinar a ocorrência de anticorpos anti-Leptospira em 132 amostras de soro sanguíneo de suínos procedentes de três diferentes sistemas de produção: granja não tecnificada, granja tecnificada e granja que utiliza o sistema intensivo de suínos criados ao ar livre (SISCAL).

As amostras foram processadas através da técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) em campo escuro, utilizando os seguintes sorovares: Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae e Wolffi. A ocorrência de anticorpos anti-Leptospira nas três granjas foi de 47,1%, sendo que identificou-se 20%, 56% e 44,4% nas granjas não tecnificada, tecnificada e o SISCAL, respectivamente. Sessenta e duas amostras foram positivas para um ou mais sorovar, sendo mais frequentes o Icterohaemorrhagiae, Hardjo e Wolffi com ocorrência de 67,1%, 55,7% e 24%, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Diagnóstico. Leptospirose. Suíno. Zoonose.

INTRODUÇÃO

Os suínos podem ser acometidos por uma série de enfermidades que acarretam perdas produtivas e prejuízo econômico. Dentre estas, enfatiza-se a Leptospirose, uma zoonose de distribuição mundial, que representa risco para a saúde pública e afeta diretamente os índices produtivos da suinocultura (BADKE, 2001).

Os principais efeitos patogênicos da leptospirose em suínos estão relacionados com falhas reprodutivas, aborto no terço final da gestação, mumificação fetal, natimortalidade, aumento do intervalo entre partos, redução da fertilidade e produtividade do plantel infectado (ELLIS, 1989; RAMOS; SOUZA; LILENBAUM, 2006).

O diagnóstico da leptospirose animal é fundamentado nos aspectos clínico, epidemiológico e exames laboratoriais. A confirmação definitiva da infecção baseia-se na demonstração da presença do microorganismo ou de anticorpos específicos. A soroaglutinação microscópica (SAM), que detecta a presença de anticorpos anti-Leptospira no soro sanguíneo, é o procedimento laboratorial comumente utilizado para o diagnóstico da leptospirose (BOQVIST et al., 2002; FAINE et al., 1999; LEVETT, 2004).

Na suinocultura moderna e intensiva, a prevenção é a melhor forma de reduzir riscos e

custos, com a implementação de medidas de biossegurança, programas de vacinação, medicações profiláticas e programas de limpeza e desinfecção eficientes. A vacinação oferece uma proteção eficaz quando aliada às outras medidas preventivas, especialmente em granjas em que as condições ambientais favoreçam a infecção com leptospiros (SOBESTIANSKY; BARCELLOS; SESTI, 1998).

No Brasil vários sorovares de Leptospira interrogans foram relacionados a infecções em suínos. Fávero et al. (2002) encontraram em diferentes estados brasileiros, a soroprevalência de Gryppotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Autumnalis. Ramos e Lilenbaum (2002) relataram em dezoito granjas tecnificadas os sorovares Pomona, Copenhageni, Tarassovi, Hardjo, Bratislava, Wolffi. Freitas et al. (2004) isolaram o sorovar Canicola em duas amostras de fígado obtidas de abatedouro. A leptospirose em suínos ocorre em frequências consideráveis e varia de acordo com as regiões brasileiras estudadas (DELBEM et al., 2004). As vacinas comerciais protegem apenas contra alguns sorovares e, portanto, faz-se necessário determinar a soroprevalência de cada região em busca de uma imunoprofilaxia mais eficaz (LOBO et al., 2004).

Objetivou-se verificar a ocorrência de anticorpos anti-Leptospira spp. em suínos procedentes de três diferentes sistemas produtivos:

granja não tecnificada, granja tecnificada e granja que utiliza o sistema intensivo de suínos criados ao ar livre (SISCAL) localizadas nos municípios de Rio Verde (GO), Uberlândia e Uberaba (MG), bem como identificar os sorovares de maior prevalência.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 132 suínos que de acordo com sua procedência foram categorizados em três Granjas (A, B e C). Na Granja A, as amostras de sangue foram colhidas de 30 suínos em fase de terminação, ambos os sexos, sem histórico de vacinação, oriundos de granja não tecnificada localizada no município de Uberlândia (MG). A colheita de sangue da Granja B foi de 93 fêmeas reprodutoras vacinadas, provenientes de granja tecnificada do município de Rio Verde (GO). Na Granja C foram colhidas nove amostras de sangue de fêmeas reprodutoras vacinadas, criadas em SISCAL no município de Uberaba (MG).

As amostras sanguíneas foram colhidas por punção da veia marginal da orelha e acondicionadas em tubos estéreis tipo Vacutainer sem anticoagulante. O material foi refrigerado em caixas de isopor com gelo e enviado ao Laboratório de Doenças Infecto-Contagiosas da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (FAMEV/UFU) para obtenção do soro através da centrifugação do sangue por dez minutos a 3000 rpm. As amostras foram armazenadas a uma temperatura de -20°C (SANTA ROSA, 1970) até o momento da realização das análises.

As análises foram processadas conforme Fundação Nacional da Saúde (1995) e Magalhães, Silva e Moreira (2006), através da técnica de soroaglutinação microscópica para o diagnóstico da leptospirose. Utilizaram-se os sorovares Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, Icterohaemorrhagiae e Wolffi, considerados os mais

freqüentes na espécie suína (ELLIS, 1992; LOBO et al., 2004; SHIMABUKURO et al., 2003).

As *Leptospiras* utilizadas como antígenos foram mantidas no laboratório em estufa a 28°C, em meio líquido STUART (Difco®), enriquecido com 10% de soro estéril de coelho. Utilizaram-se dois tubos de ensaio, no primeiro tubo foram colocados 0,8 mL de solução salina tamponada a 0,9% e 0,2 mL da amostra de soro sanguíneo, obtendo uma diluição de 1:5 e, após, realizou-se a homogeneização com o auxílio do pipetador. No segundo tubo, colocou-se 0,9 mL de solução salina tamponada a 0,9% e 0,1 mL do primeiro tubo, com uma diluição final de 1:50. Posteriormente, foi acrescida uma gota de cada sorovar (0,03 mL), testado frente ao mesmo volume de soro sanguíneo, em uma placa de polietileno com 96 poços, resultando em um título de 1:100.

Em seguida, as amostras foram homogeneizadas e incubadas por 10 minutos a temperatura ambiente. Após o período de incubação, fez-se um pequeno esfregaço circular com cada amostra, até completarem 10 esfregaços da mistura de soro e sorovares diferentes na mesma lâmina, correspondendo a cada animal testado. Esta foi inspecionada por microscopia de campo escuro em um aumento de 100 vezes, com óleo de imersão. As amostras que apresentaram aglutinação média ou aglutinação muito alta (50 a 100%, respectivamente) foram consideradas positivas para o sorovar em questão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 132 amostras de soro analisadas pela prova de SAM, 62 foram reagentes, obtendo-se uma ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* em 47,1% dos suínos. No Quadro 1 verifica-se que alguns suínos foram reagentes a mais de um sorovar.

Quadro 1. Frequência de sorovares em suínos reagentes ao Teste de Soroaglutinação Microscópica para *Leptospira* sp. em Uberlândia/Uberaba, MG e Rio Verde, GO, 2008.

| SOROVARES | n | % |
|---------------------|----|------|
| Canicola | 06 | 8,6 |
| Grippotyphosa | 01 | 1,4 |
| Hardjo | 39 | 55,7 |
| Icterohaemorrhagiae | 47 | 67,1 |
| Wolffi | 24 | 34,2 |

A frequência do sorovar *Icterohaemorrhagiae* foi de 67,1%, seguido de *Hardjo* (55,7%) e *Wolffi* (34,2%), concordando com

Shimabukuro et al. (2003), que também notaram uma maior frequência para o sorovar *Icterohaemorrhagiae*. No entanto, *Delbem et al.*

(2002, 2004), em dois estudos, obtiveram freqüências superiores às encontradas neste trabalho 70,8% e 98,5%, respectivamente.

Apesar da variante sorológica Bratislava ser considerada comum em suínos, por serem os prováveis hospedeiros definitivos (ELLIS, 1992; LOBO et al., 2004), neste estudo não houve suíno reagente a este sorovar. Esperava-se que em pelo menos uma das Granjas ocorresse esta variante antigênica de leptospira. Na Figura 1 observa-se os sorovares encontrados nas Granjas A, B e C.

Nas Granjas A e B houve predomínio de soropositivos para o sorovar *Icterohaemorrhagiae* enquanto na Granja C apenas este sorovar foi

encontrado. A predominância do sorovar *Icterohaemorrhagiae* encontrada neste estudo, coincide com as observações realizadas por Lobo et al. (2004), os quais detectaram que 83,3% das vacinas comerciais mais utilizadas em suínos possuem o sorovar *Icterohaemorrhagiae* em sua composição, confirmando que este sorovar acomete a espécie suína. No entanto, os autores ainda relataram que 25% das vacinas comerciais possuem o sorovar Bratislava. A ocorrência do sorovar *Icterohaemorrhagiae* nesta pesquisa pode não estar relacionada a títulos vacinais, pois se estivesse, haveria sororreagentes para o Bratislava, o que não ocorreu.

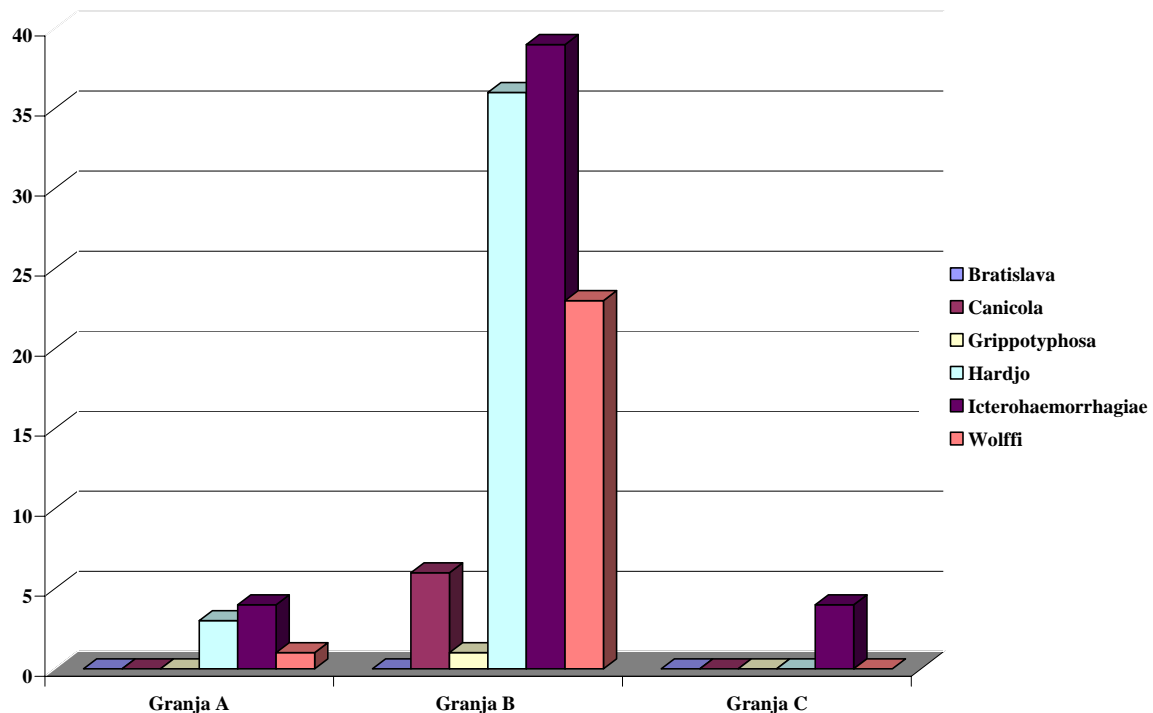


Figura 1. Freqüência de reação para os diferentes sorovares em suínos oriundos das Granjas A, B e C em Uberlândia/Uberaba, MG e Rio Verde, GO, 2008.

Distribuindo-se as amostras de sororreagentes de acordo com as categorias estabelecidas, na Granja A obteve-se uma freqüência de 20%, condizendo com Lima (1996), que encontrou 15,65% de soropositividade em materiais provindos de frigoríficos. A Granja B apresentou 56% de animais positivos para *L. interrogans*, concordando com Ramos, Souza, Lilenbaum (2006), que também obtiveram resultados semelhantes em fêmeas reprodutoras. E na Granja C observou-se uma freqüência de 44,4% de sororreagentes, discordando dos resultados de Filippesen et al. (2001), que não constataram nenhuma reação sorológica positiva para leptospirose em animais criados ao ar livre.

Esperava-se que na Granja B tivesse maior número de suínos reagentes, seguida das Granjas C e A. Isto porque a Granja A apesar de não ser tecnicada e não haver histórico de vacinação, o tempo de exposição ao agente foi curto, visto que era composta por suínos de terminação destinados ao abate. Ao contrário da Granja B, que era tecnicada, com histórico de vacinação e maior vida útil. A Granja C, onde os suínos criados ao ar livre estavam mais expostos ao risco de contaminação e contato direto com habitat natural de outras espécies potencialmente transmissoras, obteve resultados inferiores ao da Granja B.

Na Granja A levanta-se a hipótese de que a infecção pode ter sido causada pela falta de higienização das instalações e por um deficiente controle de roedores.

Deve-se levar em consideração que, os suínos poderiam ser oriundos de granja com possíveis falhas de manejo sanitário, pois foram provenientes de Granja não tecnificada com deficiências no sistema de produção, dificultando o controle sanitário.

A justificativa para a ocorrência de suínos sororreagentes na Granja B poderia estar embasada na possibilidade de uma infecção mantida pelo ambiente, sistema de criação ao qual os animais foram mantidos. As matrizes, por terem um período de vida superior aos suínos destinados ao abate, estão mais expostas a encontrar diferentes condições sanitárias. Delbem et al. (2004), analisando aglutininas anti-*Leptospira* em matrizes suínas para o sorovar *Icterohaemorrhagiae*, relataram que a fonte de infecção envolvida poderia ser os roedores.

Na Granja C os suínos foram criados ao ar livre, em contato direto com o ambiente e estavam sujeitos a infecções. Com isso, essa ocorrência de sororreagentes poderia ser justificada pelo modo em que viviam no ambiente, em pastos onde se criavam outras espécies animais e até em contato com vetores da doença. De acordo com Costa e Moticelli (1999) neste sistema de criação faz-se necessário realizar exames periódicos no plantel para controlar a infecção.

Há uma tendência mundial pela criação de suínos em ambientes que ofereçam bem-estar animal, como ocorre no SISCAL (EDWARDS, 2005; FILIPPSEN et al., 2001). No entanto, devem

ser adotadas medidas de prevenção, como a vacinação e o controle de roedores. Caso contrário, a utilização desse sistema seria um retrocesso no tocante à leptospirose.

Fica evidente a importância dos resultados, sejam como títulos vacinais ou a infecção propriamente dita. Para afastar possíveis fontes de infecção, sugere-se como profilaxia, monitoramento sorológico em qualquer sistema de criação, com testes frequentes, utilização de vacinas com os sorovares encontrados na região e medidas preventivas nas instalações (higiene, controle de roedores, baixa densidade animal).

CONCLUSÃO

A infecção por *Leptospira* sp. foi identificada nos suínos dos três sistemas de criação, numa frequência de 47,1%, sendo, respectivamente, 20%, 56% e 44,4% nas granjas não tecnificada, granja tecnificada e granja com sistema intensivo de suínos criados ao ar livre, com predominância dos sorovares *Icterohaemorrhagiae*, *Hardjo* e *Wolffi*. Deste modo, independente do sistema de criação utilizado, sugere-se adotar programas de limpeza e desinfecção eficientes, bem como medidas profiláticas de biossegurança, monitoramento sorológico e levantamento das sorovarietades regionais de *Leptospira* spp. para instituir vigilância sanitária adequada.

ABSTRACT: Leptospirosis is a zoonosis and an important social-economic aspect to the pig farming. In this study, aiming at the objective to determinate the occurrence of antibodies anti-*Leptospira* from 132 swine serum sample preceded from three different housing systems: intensive swine farm (high technology), intensive swine farm (low technology) and free range conditions. The samples were processed through the Microscopic Agglutination Test (MAT) in dark field, using different serovars: Bratislava, Canicola, Grippotyphosa, Hardjo, *Icterohaemorrhagiae* and *Wolffi*. The occurrence of antibodies anti-*Leptospira* from three different housing systems was 47,1%, being identified 20%, 56% e 44,4% in the intensive swine farm (high technology), intensive swine farm (low technology) and free range conditions, respectively. Sixty-two serum samples were positive for one or more serovar, being more frequent *Icterohaemorrhagiae*, *Hardjo* and *Wolffi*, with occurrence of 67,1%, 55,7% e 24%, respectively.

KEYWORDS: Diagnostic. Leptospirosis. Swine. Zoonosis.

REFERÊNCIAS

BADKE, M. R. T. Leptospirose. In: ENCONTROS TÉCNICOS ABRAVES, 2001. Concórdia. **Memórias...** Concórdia: EMBRAPA SUÍNOS E AVES, 2001. p. 1-4.

BOQVIST, S.; CHAU, B. L.; GUNNARSSON, A.; ENGVALL, E. O.; VAGSHOLM, I., MAGNUSSON, U. Animal and herd level risk factors for leptospiral seropositivity among sows in the Mekong delta, Vietnam. **Preventive Veterinary Medicine**, Netherlands, v. 53, p. 233-245, 2002.

- COSTA, O. A. D.; MONTICELLI, C. J. Por dentro do siscal. **Suinocultura Industrial**, São Paulo, n. 137, fev/mar, 1999.
- DELBEM, A. C. B.; FREITAS, J. C.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; MÜLLER, E. E.; OLIVEIRA, R. C. Leptospirosis in slaughtered sows: serological and histopathological investigation. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 33, p. 174-177, 2002.
- DELBEM, A. C. B.; FREIRE, R. L.; SILVA, C. A.; MÜLLER, E. E.; DIAS, R. A.; NETO, J. S. F.; FREITAS, J. C. Fatores de risco associados a soropositividade para leptospirose em matrizes suínas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 847-852, maio/jun, 2004.
- EDWARDS, S. A. Product quality attributes associated with outdoor pig production. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 94, p. 5-14, 2005.
- ELLIS, W. A. Leptospira australis infection in pig. **Pig Veterinary Journal**, Malmesbury, v. 22, p. 83-92, 1989.
- ELLIS, W. A. Leptospirosis in pig. **Pig Veterinary Journal**, Malmesbury, v. 28, p. 24-34, 1992.
- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272 p.
- FAVERO, A. C. M.; PINHEIRO, S. R.; VASCONCELOS, S. A.; MORAIS, Z. M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J. S. Sorovares de Leptospiras predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 4, p. 613-619, 2002.
- FILIPPSEN, L. F.; LEITE, D. M. G.; APARECIDO, A.; VARGAS, G. A. Prevalência de doenças infecciosas em rebanho de suínos criados ao ar livre na região sudoeste do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 299-302, 2001.
- FREITAS, J. C.; SILVA, F. G.; OLIVEIRA R. C.; DELBEM, A. C. B.; MÜLLER, E. E.; ALVES, L. A.; TELES, P. S. Isolation of Leptospira spp. from dogs, bovine and swine naturally infected. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 853-856, 2004.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DA SAÚDE (Brasil). **Manual de Leptospirose**. 2. ed. Brasília, 1995. 38p.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis: a forgotten zoonosis? **Clinical and Applied Immunology Reviews**, New York, v. 4, p. 435-448, 2004.
- LIMA, P. C. R. Diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: exames laboratoriais em porcas descartadas de frigoríficos e em reprodutores de granjas com e sem problemas de reprodução, durante o período de um ano. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 24, n. 1, p. 119-121, 1996.
- LOBO, E. A.; TAUTZ, S. M.; CHARLIE, C. F.; CONCEIÇÃO, A.; NETO, J. A. S. P. Estudo comparativo do padrão sorológico de animais domésticos potencialmente transmissores de leptospirose no Município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, entre os anos de 2002 e 2003. **Caderno de Pesquisa Série Biologia**, Santa Cruz do Sul, v. 16, n. 2, p. 47-64, jul./dez. 2004.
- MAGALHÃES, D. F.; SILVA J. A.; MOREIRA, E. C. Prevalência de aglutininas anti-Leptospira interrogans em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, 2001 a 2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, p. 167-174, 2006.

RAMOS, A. C. F.; LILENBAUM, W. Fatores que influenciam na ocorrência de aglutininas anti-Leptospira em suínos de criação tecnificada do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 20-29, 2002.

RAMOS, A. C. F.; SOUZA, G. N.; LILENBAUM, W. Influence of leptospirosis on reproductive performance of sows in Brazil. **Theriogenology**, Stoneham, v. 66, p. 1021-1025, 2006.

SANTA ROSA, C. A. Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 97-109, 1970.

SHIMABUKURO, F. H.; DOMINGUES, P. F.; LANGONI, H.; SILVA, A. V.; PINHEIRO, J. P.; PADOVANI, C. R. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospiras pelo isolamento microbiano e reação em cadeia de polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 4, n. 40, p. 243-253, 2003.

SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. E. S. N.; SESTI, L. A. **Suinocultura Intensiva. Produção, Manejo e Saúde do Rebanho**. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 1998.