

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
CAMPUS DE PATOS

LEPTOSPIROSE EM SUÍNOS DE ABATE: ESTUDO SOROLÓGICO E  
HISTOPATOLÓGICO

ÍTALO LEITE FIGUEIREDO

PATOS-PB  
ABRIL 2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
CAMPUS DE PATOS

LEPTOSPIROSE EM SUÍNOS DE ABATE: ESTUDO SOROLÓGICO E  
HISTOPATOLÓGICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Ítalo Leite Figueiredo  
MESTRANDO

Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo  
ORIENTADOR

PATOS – PB  
ABRIL 2011

## FICHA DE AVALIAÇÃO

NOME: FIGUEIREDO, Ítalo Leite

TÍTULO: Leptospirose em suínos de abate: estudo sorológico e histopatológico

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Banca Examinadora:

Dr. Sérgio Santos de Azevedo

Instituição: UFCG/ Patos-PB

Assinatura: \_\_\_\_\_

Dr. Rinaldo Aparecido Mota

Instituição: UFRPE/Recife – PE

Assinatura: \_\_\_\_\_

Dr. Antonio Flávio Medeiros Dantas

Instituição: UFCG/ Patos-PB

Assinatura: \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por antes de tudo, ter me permitido viver e testemunhar toda Sua glória. Também por sempre ter vindo em meu auxílio, mesmo nos momentos em que eu O esqueci. Senhor, muito obrigado!

Aos meus pais Antônio e Socorro que sempre me apoiaram em minhas decisões, algumas vezes contrariando a si próprios, demonstrando confiança e apoio incondicional. Muito obrigado!

Aos meus irmãos Ana Letícia e Giuliano, que mesmo em conflito, sempre estivemos um ao lado do outro, protegendo e apoiando.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sérgio Santos de Azevedo por ter me conduzido e guiado da melhor maneira para a concretização desta conquista.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, especialmente aos professores Dr. Franklin Riet-Correa, Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas e Dra. Sara Vilar Dantas Simões. Muitas vezes nos relutamos em receber suas críticas, mas hoje saibam que elas contribuíram ativamente para o meu crescimento profissional.

Aos meus colegas e amigos de pesquisa: Layze, Robério, Meyre, Silvano, Luana, Arthur e Carla. Obrigado pelo apoio imprescindível na execução deste trabalho.

Aos funcionários do CSTR: dona Franscinete, dona Joana e Jonas, que contribuíram diretamente para o desenvolvimento deste projeto. Muito obrigado.

Aos médicos veterinários e magarefes do abate de suínos do matadouro público de Patos, pela (im) paciência em nos receber e principalmente pelo auxílio nos primórdios deste projeto.

A CAPES, por financiar e prestar apoio não só a mim, mas a todos aqueles que acreditam na pesquisa como uma ferramenta para o crescimento pessoal e coletivo.

Finalmente... aos meus queridos amigos, e bem mais que isso, que a vida me presenteou: Antônio Carlos, Dantas, George, Robson, Ady, Samuell, Jean, Eline e Mariana. Vocês me mostraram o quanto supremo e sublime é a amizade em toda sua essência. Muito obrigado por fazer parte da minha vida.

Obrigado...

*Aos animais...*

*Por toda sua essência, ternura, inocência, fragilidade, força e amizade.  
Muito obrigado... e perdoem-me por ser humano.*

*“I’m only a man looking for a dream  
and it’s not easy to be me...”*

David Gray

## SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	08
LISTA DE FIGURAS.....	09
INTRODUÇÃO.....	10
CAPÍTULO I – REVISÃO DE LITERATURA.....	11
Leptospirose Suína.....	12
REFERÊNCIAS.....	32
CAPÍTULO II – ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO.....	44
Leptospirose em suínos de abate: estudo sorológico e histopatológico.....	46
Abstract.....	46
Resumo.....	47
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAI E MÉTODOS.....	49
Animais e diagnóstico sorológico da infecção por <i>Leptospira</i> spp.....	49
Análises histopatológicas.....	49
Análise estatística.....	50
RESULTADOS.....	50
DISCUSSÃO e CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS.....	54

**LISTA DE QUADROS**

- QUADRO 1 Distribuição de títulos de anticorpos anti-leptospiras em suínos soropositivos abatidos no matadouro público de Patos, Paraíba, segundo os sorovares infectantes, no período de setembro a novembro de 2009.....60
- QUADRO 2 Condição sorológica em suínos abatidos no matadouro público de Patos, Paraíba, com e sem lesões histológicas sugestivas de leptospirose, no período de Setembro a Novembro de 2009.....61

**LISTA DE FIGURAS**

- FIGURA 1 Corte histológico de parênquima renal mostrando atrofia glomerular, espessamento discreto da cápsula de Bowman (cabeça de seta) e infiltrado inflamatório mononuclear com necrose do epitélio tubular (seta) característico da nefrite intersticial. (H.E. Obj. 20X).....62

## INTRODUÇÃO

O presente trabalho foi elaborado visando cumprir as exigências do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande. Este trabalho é composto por dois capítulos.

O primeiro trata de uma revisão de literatura acerca dos principais aspectos referente à leptospirose na espécie suína. Foram pesquisados livros, artigos científicos, notas técnicas, teses, dissertações, anis de congressos, dentre outros, buscado em bases de dados como: Google, PubMed, Scielo, LILACS. Os termos pesquisados foram: leptospirose, *Leptospira* spp, suínos, zoonose, sorologia, soroaglutinação, histopatologia, lesões, nefrite intersticial, Whartin-Starry. Foram levantados os principais aspectos e perspectivas dessa importante moléstia que afeta a atividade suinícola mundial, bem como desperta atenção das autoridades de saúde pública devido seu caráter zoonótico.

O segundo capítulo discute os resultados obtidos em trabalho de experimentação, realizado em suínos abatidos no matadouro público da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. Nesses animais foram coletadas amostras para realização de exames sorológicos, os quais foram comparados com técnicas de histopatologia. Os resultados foram editados na forma de artigo científico, de acordo com as normas do periódico **Pesquisa Veterinária Brasileira**, para o qual será submetido para publicação, atendendo também às exigências do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande para obtenção do título de mestre em medicina veterinária.

**CAPÍTULO I**  
**REVISÃO DE LITERATURA**  
**Leptospirose Suína**

## 1. ETIOLOGIA

A etiologia do quadro clínico descrito por Adolf Weil em 1882 foi demonstrada inicialmente em 1915 no Japão e na Alemanha. O quadro era caracterizado pelo aparecimento súbito de febre alta, esplenomegalia e icterícia (GOMES, 2007). Posteriormente, Nogushi criou o gênero *Leptospira* (do grego Lepto = delgado, spira = novelo). Desde 1915 até 1989, a classificação foi apenas sorológica, onde o gênero *Leptospira* foi dividido em duas espécies, a *Leptospira interrogans*, que compreende todas as estirpes patogênicas; e *Leptospira biflexa*, reunindo as estirpes saprófitas isoladas do ambiente. Para a *Leptospira biflexa* foram descritos mais de 60 sorovares e para a *Leptospira interrogans* mais de 200 (FAINE, 1994; LEVETT, 2001). Devido ao surgimento de novas categorias de informações de valor taxonômico potencial no final do século XX, a taxonomia de bactérias sofreu grandes mudanças. Esses avanços possibilitaram a diferenciação de organismos anteriormente alocados em grupos heterogêneos, fomentando o descobrimento de dissimilaridades que antes não podiam ser detectadas (CANHOS et al., 1989).

Dikken et al. (1978) propôs a classificação das espécies do gênero *Leptospira* baseada no grau de parentesco do DNA. O gênero foi dividido em 17 espécies definidas, com pelo menos, 70% de parentesco (DNA) e cuja sequência contém uma divergência de, pelo menos, 5% de bases não pareadas. Esta classificação coexiste com a antiga classificação sorológica na qual o antissoro é utilizado para estabelecer parentesco entre as amostras isoladas. As características antigênicas decorrentes de antígenos da parede da bactéria, de natureza lipo-polissacarídica, possibilitam a diferenciação sorológica que supera a cifra de 200 sorovares para as espécies patogênicas os quais por parentesco antigênico são reagrupados em sorogrupos (FAINE, et al., 1999; LEVETT, 2001).

As leptospiros foram reclassificadas em genomespécies, não correspondendo às duas espécies anteriores, já que os sorovares patogênicos e não patogênicos podem ocorrer dentro de uma mesma espécie. O gênero *Leptospira* está dividido em grupos patogênicos e saprófitas. As espécies patogênicas contêm 8 espécies e as saprófitas possuem 5 espécies distintas. As genomespécies patogênicas são: *Leptospira interrogans* senso stricto, *Leptospira borgpetersenii*, *Leptospira santarosai*, *Leptospira inadai*, *Leptospira nogushi*, *Leptospira weilli*, *Leptospira kirschneri* e *Leptospira fainei*. As saprófitas correspondem: *Leptospira meyeri*, *Leptospira wolbachii*, *Leptospira biflexa*, *Turneria parva* (proposta) e *Leptonema illin* (GOMES, 2007).

1 São células helicoidais flexíveis com 0,1  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 6 - 20  $\mu\text{m}$  de  
2 comprimento. São fracamente coradas pelos corantes anilínicos. Entretanto, são visíveis  
3 quando coradas pela prata (Warthin-Starry ou Levaditi). São Gram negativas, mas quando  
4 coradas pelo Giemsa, algumas se coram em vermelho, outras, em azul. As células não coradas  
5 são visíveis pela microscopia de contraste ou pela microscopia de campo escuro. A  
6 conformação helicoidal é para o lado direito (molas de relógio), ocorrendo ganchos típicos em  
7 uma ou nas duas extremidades. Dois flagelos periplasmáticos (fibrila axial e endoflagelo)  
8 ocorrem em cada célula onde está inserido em cada extremidade e raramente se sobrepõe na  
9 região central. Sua multiplicação é por fissão transversa. Movimentam-se ativamente, através  
10 de rotações e flexões ao longo de seu próprio eixo. São aeróbias e quimioorganotróficas,  
11 utilizando ácidos graxos ou álcoois graxos, possuindo 15 ou mais átomos de carbono como  
12 fonte de energia. Não utilizam carboidratos ou aminoácidos como fonte de energia. As  
13 leptospiros são espiroquetas uniformes quanto ao aspecto morfológico e fisiológico, mas  
14 diferem quanto ao aspecto sorológico e epidemiológico (GOMES, 2007).

15 Por serem bactérias que dependem do ferro para crescer e se multiplicar, os  
16 sorovares patogênicos produzem hemolisinas que destroem eritrócitos, liberando na  
17 circulação uma grande quantidade do ferro complexado do grupo heme, já que este nutriente  
18 não é facilmente encontrado na forma livre no hospedeiro (FAINE, 1959; WANDERSMAN e  
19 STOJILJKOVIC, 2000; LEE, et al., 2002; LOUVEL et al., 2006). Logo, a capacidade de  
20 gerar hemólise parece ser essencial para a sobrevivência e para o sucesso reprodutivo das  
21 leptospiros patogênicas, não ocorrendo, no entanto, este processo nos sorovares saprófitas.  
22 (CARVALHO et al., 2010). As hemolisinas - juntamente com os filamentos axiais (para  
23 penetração em “saca-rolhas”), membrana externa (capa) e proteínas sorovariantes específicas  
24 - constituem os principais fatores de virulência do agente.

25 O habitat das leptospiros inclui: água estagnada, solo úmido, matéria orgânica em  
26 decomposição, plantas, animais e o homem. Em ausência de parasitismo, as condições ótimas  
27 de sobrevivência das leptospiros são umidade, temperatura de 28° C e pH neutro ou  
28 levemente alcalino (PERRY & HEARDY, 2000). Registros experimentais confirmam até 180  
29 dias de viabilidade de leptospiros nestas condições (BLENDEN, 1975). O sorovar Pomona  
30 pode persistir até seis meses em solos saturados de umidade, sobrevivendo apenas trinta  
31 minutos em solo seco. Exposição a temperaturas acima de 50° C causa a morte das  
32 leptospiros, que também são sensíveis a detergentes e desinfetantes comuns  
33 (SOBESTIANSKY et al., 1999).

1           As leptospiras são cultivadas em meios artificiais, contendo 10% de soro de coelho  
2 ou 1% de albumina sérica bovina com adição de ácidos graxos de cadeia longa e pH 6,8–7,4.  
3 A temperatura ótima para seu crescimento está entre 28°- 30°C. Leptospiras são catalase e  
4 oxidase positiva. Os cultivos devem ser checados para a presença de contaminantes, após 3–4  
5 dias e subcultivadas após 7–21 dias, embora elas possam sobreviver em cultivo líquido  
6 (deixado parado) por meses e, algumas vezes, por anos (FAINE et al., 1999). Os meios podem  
7 tornar-se seletivos pela adição de vários antimicrobianos, sendo os mais comuns a 5-  
8 fluoruracila e sulfado de neomicina, embora polimixina B, rifampicina e vancomicina possam  
9 ser utilizados. Um meio freqüentemente utilizado é o meio de Ellinghausen—McCullough—  
10 Johnson—Harris (EMJH), o qual adiciona 1% de albumina sérica bovina e Tween 80 (fonte  
11 de ácidos graxos de cadeia longa). Meios líquidos e semi-sólidos, contendo soro incluem o  
12 meio de Korthof (Peptona, NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, CaCl<sub>2</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) e Fletcher  
13 (Peptona, extrato de carne, NaCl, e agar). Podem atravessar membranas filtrantes de 0,45 µm  
14 de diâmetro (GOMES, 2007).

## 16   **2. PATOGÊNESE**

18           A suscetibilidade do suíno em contrair a infecção por leptospiras foi conhecida em  
19 1944, quando Gsell, na Suíça, demonstrou a etiologia da meningite em leitões (SANTA  
20 ROSA et al., 1962a). As leptospiras penetram ativamente através da pele íntegra (em  
21 condições especiais que favoreçam a dilatação dos poros, como ocorre quando da  
22 permanência por tempo prolongado em coleções de água contaminada) ou escarificada e das  
23 mucosas (ocular, digestiva, respiratória e gênito-urinária) (BLENDEN, 1975).

24           Após transporem as barreiras naturais do organismo, multiplicam-se ativamente no  
25 interstício e nos fluidos orgânicos (sangue, linfa e líquido), caracterizando um quadro  
26 septicêmico agudo denominado fase de leptospiremia. O período de incubação é de 2 a 5 dias,  
27 ocorrendo disseminação hematogênica com localização e proliferação em órgãos  
28 parenquimatosos, particularmente, fígado, rins, baço e, algumas vezes, as meninges. As lesões  
29 primárias são decorrentes da ação mecânica do microrganismo nas células endoteliais dos  
30 vasos. A consequência direta dessa lesão nos vasos de pequeno calibre são as hemorragias,  
31 seguidas da formação de trombos com consequente bloqueio do suprimento sanguíneo nas  
32 áreas acometidas (infartos) (ROSE, 1966; FAINE, 1982). A icterícia ocorre principalmente  
33 devido à lesão hepática, e não à destruição de hemácias. Também penetram e multiplicam-se  
34 nos fetos, podendo levar à morte e reabsorção fetal, abortamento ou prole fraca. A

1 leptospiremia dura, em geral, de dois a três dias, há uma fase febril discreta e já no quarto dia  
2 as leptospiras estão presentes nos rins onde causando nefrite intersticial (CORRÊA &  
3 CORRÊA, 1992).

4 Se a resposta imune do hospedeiro for efetiva para suplantar as lesões e conseqüentes  
5 alterações funcionais, dá-se início ao segundo período clínico, denominado leptospirúria,  
6 referido como de imunidade, com presença de anticorpos circulantes, e de presença de  
7 leptospiras na urina. Nesta fase as leptospiras tendem a persistir em lugares como túbulos  
8 renais, câmara anterior do olho e útero, uma vez que nesses locais a atividade de anticorpos é  
9 mínima (BASTOS, 2010; SARAZÁ & VAZCAÍNO, 2002). A excreção urinária de  
10 leptospiras é intermitente e pode ser de longa duração, dependendo dos hospedeiros animais  
11 acometidos e do sorovar de leptospira envolvido. Nos roedores infectados a presença de  
12 leptospiras na urina pode ser permanente. Em animais de produção acometidos de  
13 Leptospirose, o agente tem sido evidenciado na urina, no sêmen e em corrimentos vaginais, o  
14 que confirma não só a colonização dos túbulos renais como também dos órgãos reprodutores  
15 e das glândulas anexas, (ELLIS, 1994). A partir da instalação do período de imunidade e  
16 leptospirúria, algumas lesões poderão ser estabelecidas, devido agora a persistência do  
17 microrganismo em locais específicos onde ocorrem reações de hipersensibilidade do tipo III,  
18 nas quais há a deposição nos tecidos de imunocomplexos formados “in vivo”. A partir deste  
19 mecanismo são explicadas as lesões renais e as oculares (uveítes). (TURNER, 1967).

20 Os sinais clínicos apresentados pelo hospedeiro infectado são variáveis de acordo  
21 com a extensão das lesões e o tipo de órgão atingido. Dentre os animais de produção  
22 explorados em ecossistemas rurais, as manifestações clínicas mais freqüentes são as da esfera  
23 reprodutiva com abortamento, usualmente no terço final da gestação, infertilidade,  
24 esterilidade ou o nascimento de produtos a termo debilitados que morrem nos primeiros dias  
25 de vida (GUIMARÃES et al., 1982/1983; ELLIS, 1994; FERREIRA NETO , et al., 1997;  
26 DELBEM, et. al. 2002). No entanto, alguns sinais particulares podem ser observados de  
27 acordo com a espécie animal e em determinadas faixas etárias. Nos suínos, a infecção é  
28 subclínica ou assintomática. Abortamento tardio é, muitas vezes, o único sinal clínico da  
29 doença. Entretanto, quando presente, a leptospirose nos suínos pode se apresentar  
30 basicamente nas formas aguda e crônica. Na forma aguda, podem ocorrer febre e mastite focal  
31 não supurativa e leptospirúria em animais adultos. Em suínos jovens, principalmente leitões,  
32 pode ocorrer febre, anorexia, icterícia, hemoglobinúria e alta mortalidade, principalmente de  
33 recém-nascidos. Geralmente, o sorovar associado com este quadro é o *Icterohaemorrhagiae*.  
34 Também nos animais jovens, durante a fase de aleitamento, podem ocorrer casos de encefalite

1 caracterizados por incoordenação motora e convulsões com movimentos de pedalagem  
2 (FAINE, 1982). Na forma crônica da leptospirose suína, comum nos animais adultos, pode  
3 ocorrer a leptospirose, geralmente com o sorovar Pomona, sendo os suínos considerados  
4 hospedeiros de manutenção. A infertilidade, com a ocorrência de abortamentos e natimortos, é  
5 comum aos sorovares Canicola, Pomona e Icterohaemorrhagiae (BASTOS, 2010; ELLIS,  
6 1999).

7 A cura da leptospirose aguda coincide com a suspensão da bacteremia e  
8 aparecimento de anticorpos circulantes, geralmente durante a segunda semana pós-infecção.  
9 Os anticorpos protetores são do tipo IgM e IgG, estando dirigidos, principalmente para os  
10 antígenos da estrutura externa. Os anticorpos aglutinantes, principalmente IgM, podem ser  
11 detectados por muito tempo (anos) após a cura, não sendo indicativo do estado imune nem do  
12 estado de portador. O portador renal pode existir, na ausência de anticorpos ou pode  
13 desaparecer antes do desaparecimento dos anticorpos. A imunidade que se instaura depois da  
14 cura é sólida e específica para o sorotipo. Entretanto pode ocorrer abortamento repetido em  
15 vacas infectadas com o sorovar Hardjo (GOMES, 2007).

16

### 17 **3. EPIDEMIOLOGIA**

18

19 Constituindo uma antroponose direta, a leptospirose acomete primariamente os  
20 animais selvagens, sinantrópicos e domésticos. O homem comporta-se como hospedeiro  
21 terminal, acidental, podendo se infectar pelo contato direto (animais de estimação, exposição  
22 direta aos fluidos e secreções animais, trabalhos em granjas ou matadouros) ou indiretamente,  
23 através do ambiente (água, solo). Sua distribuição geográfica é cosmopolita, sendo que na  
24 América Latina, África e Ásia, os níveis de ocorrência são elevados devido às condições  
25 ambientais de ordem físico-química e sócio-econômico-cultural que favorecem a persistência  
26 e a disseminação da infecção (BLENDEN, 1975; GOMES, 2007).

27 Uma ampla variedade de espécies vertebradas pode ser infectada pelas leptospirose,  
28 entretanto atualmente os mamíferos domésticos de produção, trabalho e companhia, tanto nas  
29 áreas rurais como urbanas, são os que apresentam maior significado epidemiológico.  
30 Investigações executadas em ecossistemas silvestres, não modificados pela ação humana,  
31 referem à presença de infecção em roedores, marsupiais, carnívoros e edentados. Nos  
32 ecossistemas rurais e urbanos, o principal reservatório de leptospirose são os roedores  
33 sinantrópicos entre os quais o *Rattus norvegicus* (ratazana ou rato de esgoto) ocupa uma  
34 posição de destaque (VASCONCELLOS, 1987; VASCONCELLOS, 1993;

1 VASCONCELLOS, 1997). Cogita-se que neste último grupo de animais, a interação  
2 hospedeiro-parasita possui uma condição de equilíbrio, onde os animais acometidos  
3 frequentemente não apresentam qualquer sinal da infecção.

4 Dentre os fatores ligados ao agente etiológico que favorecem a persistência dos focos  
5 de leptospirose, deve-se destacar especialmente ampla variação antigênica; relativo grau de  
6 sobrevivência ambiental em ausência de parasitismo (registros experimentais confirmam até  
7 180 dias na dependência de teor de umidade, proteção contra raios solares e pH neutro ou  
8 levemente alcalino) e grande variedade de hospedeiros vertebrados suscetíveis (BLENDEN,  
9 1975 ).

10 A infecção está classificada como uma doença da lista B, no Office International des  
11 Épizooties (OIE), grupo ao qual pertencem as doenças transmissíveis de grande importância  
12 do ponto de vista sócio-econômico e/ou sanitário, com considerável repercussão no comércio  
13 internacional de animais e produtos de origem animal (BLAHA, 1989; PERRY & HEARDY,  
14 2000). No Brasil, a leptospirose faz parte das doenças incluídas no Programa nacional de  
15 Sanidade Suídea (PNSS) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).  
16 Segundo o regulamento do MAPA (BRASIL, 2002), “Toda granja de suídeos certificada  
17 deverá ser livre de peste suína clássica, doença de Aujeszky, brucelose, tuberculose, sarna, e  
18 livre ou controlada para leptospirose”. Estabelece ainda, nas NORMAS PARA  
19 CERTIFICAÇÃO DE GRANJAS DE REPRODUTORES SUÍDEOS, que:

20 3.3.8. Para a Leptospirose, as granjas terão duas opções.

21 3.3.8.1 Nas granjas de reprodutores consideradas livres de leptospirose, será obrigatório o  
22 controle sorológico, devendo ser realizadas provas sorológicas de microaglutinação, com  
23 intervalo de seis meses. Os soros devem ser testados frente aos sorovares *L. canicola*, *L.*  
24 *grippothyphosa*, *L. hardjo*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. Pomona*, *L. Bratislava* e  
25 apresentando resultados negativos.

26 3.3.8.2. A critério da autoridade sanitária competente, poderão ser acrescentados outros  
27 sorovares.

28 3.3.8.3. As granjas de reprodutores consideradas controladas para leptospirose, pelo uso de  
29 vacina, deverão conter no certificado a expressão “Granja vacinada para leptospirose”,  
30 devendo a vacina a ser utilizada conter todos os sorovares constantes no item 3.3.8.1.

31

### 32 **3.1. Cadeia epidemiológica da Leptospirose suína**

33

34 Os suínos são suscetíveis a vários sorovares (FAINE, 1982), sendo considerados  
35 hospedeiros definitivos dos sorovares *Pomona*, *Bratislava* e *Tarassovi* e hospedeiros  
36 acidentais dos sorovares *Icterohaemorrhagiae*, *Canicola*, *Autumnalis*, *Hardjo* e *Grippotyphosa*

1 (ELLIS, 1992). Assumem papel de reservatórios de leptospiras, inclusive para outras espécies e  
2 para o homem, por apresentarem algumas particularidades tais como: ao se infectarem  
3 apresentam prolongado período de leptospiremia, geralmente sem externar sinais clínicos;  
4 apresentam na urina, em poucos dias (20-30 dias) após a infecção, alta concentração de  
5 leptospiras viáveis e podem eliminá-las por período superior a um ano (SOBESTIANSKY et  
6 al.,1999).

7 A aquisição de fêmeas e machos para reprodução originários de outras granjas  
8 assume um importante papel na transmissão da leptospirose suína, com o risco de serem  
9 adquiridos animais portadores da doença (MORES, 1999). Ambientes por onde circulam  
10 roedores são constantemente contaminados também por leptospiras eliminadas pela urina  
11 destes animais (SANTA ROSA et al., 1980). O *Rattus norvegicus* ocupa uma posição de  
12 destaque na transmissão da leptospirose suína, sendo uma importante fonte de infecção  
13 (VASCONCELLOS, 1987). Os suínos infectam-se através do contato com água ou alimentos  
14 contaminados, com urina, fetos abortados e descargas uterinas de animais portadores. A  
15 infecção pode ocorrer pela via oral, venérea, pele lesada, conjuntiva ou outras mucosas  
16 (SANTA ROSA et al., 1980). Entre 30 e 60 dias após a infecção, a urina de um suíno  
17 infectado pode conter grande quantidade de leptospiras que contribuirão para a disseminação  
18 do agente numa granja. Os portadores podem eliminar leptospiras intermitentemente, até  
19 vários meses após a infecção (SOBESTIANSKY et al., 1999). Assume importância na  
20 suscetibilidade da leptospirose suína as primíparas ou marrãs, originárias da própria granja ou  
21 recém-adquiridas, que podem abortar. Na primeira entrada da leptospirose suína em uma  
22 granja, fêmeas mais velhas podem também ser afetadas, com quadros de abortamento, elevada  
23 taxa de mumificação fetal, natimortalidade e leitões com baixa vitalidade. Os leitões lactantes  
24 infectados por leptospiras apresentam debilidade geral. Animais mais velhos, principalmente  
25 na fase de recria e terminação, são pouco susceptíveis à doença (SOTO et al., 2007).

26

### 27 **3.2. Isolamentos de *Leptospira* spp em suínos no Brasil e no mundo**

28

29 Um dos primeiros isolamentos de *Leptospira* spp a partir de amostras biológicas de  
30 suínos foi realizado na Austrália por Johnson em 1939. As leptospiras pertenciam aos  
31 sorovares Pomona e Tarassovi. A partir de então o sorovar Pomona foi isolado na Itália,  
32 Argentina, Estados Unidos, Rússia, Portugal e França. Nos Estados Unidos, além do sorovar  
33 Pomona, foram isolados os sorovares Grippotyphosa e Bratislava. No Canadá foram isolados  
34 os sorovares Bratislava e Pomona. No Chile foram isolados sorovares Bratislava, Kennewicki,

1 San Martini, Pomona, Icterohaemorrhagiae e Canicola sendo que os quatro últimos também  
2 foram isolados em países como Venezuela e Peru. O sorovar Bratislava também foi isolado de  
3 suínos na Alemanha e Irlanda. Em Cuba e Portugal o sorovar Mosdok foi isolado a partir de  
4 amostras renais de suínos. Na Ásia foram isolados os sorovares Pomona e Tarassovi (SOTO  
5 et al., 2007). Além dos sorovares Pomona e Tarassovi, Perry & Heardy (2000) isolaram na  
6 Austrália os sorovares Bratislava e Hurstbridge.

7 No Brasil *Leptospira* spp tem sido isolada a partir de amostras de suínos desde a  
8 metade do século XX. Um dos primeiros estudos foi realizado por Guida (1947), que isolou  
9 três amostras de leptospiros de seis suínos procedentes do Município de Rio Claro, Estado de  
10 São Paulo. O sorovar Hyos também foi isolado por Guida (1958) a partir de amostras de rins  
11 de suínos do Estado de São Paulo, e leptospiros com reação sorológica para os sorovares  
12 Grippotyphosa, Australis, Ballum, Canicola, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi foram isoladas  
13 de rins de suínos clinicamente normais, procedentes do Município de Rio Claro, Estado de  
14 São Paulo. Guida et al. (1959), ao investigarem um surto de leptospirose em suínos em uma  
15 granja no Município de São Paulo, Estado de São Paulo, isolaram o sorovar Canicola através  
16 de teste de isolamento em cobaias e prova de SAM. Ainda no Estado de São Paulo, o sorovar  
17 Canicola foi isolado de rim de suíno aparentemente normal por Castro et al. (1962). Santa  
18 Rosa et al. (1962a) isolaram o sorovar Pomona a partir da urina de uma fêmea suína que havia  
19 abortado, e a partir de 283 amostras de rins de suínos, clinicamente sadios, abatidos para  
20 consumo humano em matadouro do Estado de São Paulo, isolaram cinco estirpes de  
21 leptospiros, sendo um do sorovar Icterohaemorrhagiae e quatro pertencentes ao sorovar Hyos  
22 (SANTA ROSA et al., 1962b). A partir de fetos suínos abortados, o sorovar Pomona foi  
23 isolado nos Estados de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (SANTA ROSA et al., 1973;  
24 OLIVEIRA et al., 1980). Freitas et al. (2004), realizaram um estudo em Londrina, Estado do  
25 Paraná, onde foram analisadas amostras de fígado, obtidos em abatedouro, de 36 fêmeas  
26 suínas naturalmente infectadas, e na ocasião isolaram *Leptospira* spp sorovar Canicola em  
27 duas amostras das 36 amostras. Shimabukuro (2003), a partir de 88 amostras de rins de suínos  
28 abatidos em frigorífico localizado na região de Botucatu, Estado de São Paulo, apesar de não  
29 ter sido feita tipificação, suspeitou por sorologia ter isolado os sorovares Icterohaemorrhagiae  
30 e Autumnalis. Miraglia (2005) isolou cinco estirpes do fígado, órgãos reprodutivos e rins de  
31 137 fêmeas suínas abatidas em frigorífico provenientes de granjas do Estado de São Paulo  
32 tipificadas como pertencentes ao sorogrupo Pomona.

33

34

### 3.3. Inquéritos sorológicos para *Leptospirose* suína no Brasil e no mundo

Desde a década de 50, paralela e conjuntamente com as tentativas de isolamento, inquéritos sorológicos para *Leptospira* spp têm sido realizados em todos os continentes do globo. No Oriente Médio, Van der Hoeden em 1956 (SOTO et al., 2007) evidenciou títulos para o sorovar Canicola em quatro criações de Israel. Michna & Campbell (1969), investigaram 91 propriedades de criações de suínos na Escócia onde examinaram, pela SAM, 695 animais, nos quais houve o predomínio para o sorovar Canicola (73,3%). Em 14 propriedades houve 79 reatores para o sorovar Icterohaemorrhagiae. Na ocasião afirmaram que os sorovares de maior frequência de registro na espécie suína no mundo são Pomona, Tarassovi, Canicola e Icterohaemorrhagiae. Hathaway & Little (1981), detectaram altas taxas de amostras reagentes para o sorovar Icterohaemorrhagiae, no entanto, o sorovar Canicola também foi identificado na Irlanda e na Escócia. Na Rússia, Parlov et al. (1971), detectaram os sorovares Pomona, Tarassovi, Bataviae, Grippytyphosa e Saxkoebing através da SAM em 347 suínos de granjas comerciais. Os sorovares Pomona e Tarassovi estavam envolvidos em 83% das amostras reagentes.

Na Europa, a *Leptospirose* em suínos, pelo sorovar Australis, emergiu como em países como Alemanha, Itália, França e Holanda (HATHAWAY & LITTLE, 1981; HARTMANN, et al., 1984). Perea et al. (1994), em inquérito sorológico para a *Leptospirose* suína, examinaram 521 fêmeas originárias de 28 granjas da região sudoeste da Espanha, Província de Badajoz, encontrando 10,56% de animais sororeagentes em um total de 39,28% de criações afetadas, com a presença dos sorovares: Pomona (6,53%), Castellonis (1,15%), Sejroe (1,15%), Grippytyphosa (0,96%), Australis (0,38%), Icterohaemorrhagiae (0,19) e Hebdomadis (0,19%).

Nos EUA, Jenkins et al. (1979), realizaram no Estado do Alabama sorologia para a *Leptospirose* suína em 627 animais e obtiveram 19,3% de sororeagentes sendo os sorovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hardjo e Grippytyphosa os mais frequentes. Foram identificados também, em menor número, os sorovares Ballum, Autumnalis, Pyrogenes e Bataviae. Miller et al. (1990), também nos EUA, no Estado de Iowa, evidenciaram sorologias positivas para *Leptospira interrogans* em 78% dos 578 casos de falhas reprodutivas de fêmeas suínas. Os sorovares mais frequentes foram Kennewicki e Grippytyphosa.

No Peru, o sorovar Canicola foi identificado através da sorologia como o de maior frequência na criação suína (PAZ-SOLDAN et al., 1991). Na Austrália, Chappel (1998) examinou 10.440 amostras de soro de suínos abatidos em Victória e encontrou a prevalência

1 de 3,7 % sororeagentes para o sorovar Pomona. Um estudo realizado em suínos selvagens  
2 nesse país, de 195 amostras examinados, 20% soroconverteram para a Leptospirose. Destas,  
3 63% sororeagiram para o sorovar Pomona e somente dois dos 195 animais sororeagiram para  
4 o sorovar Hardjo. O restante dos animais soroconverteram para: Canicola, Copenhageni,  
5 Grippytyposa, Szwajizak, Tarassovi e Zanoni (SOTO et al., 2007).

6 No Japão, Kazami et al. (2002), investigaram a soropositividade em fêmeas suínas de  
7 dois criatórios das cidades de Gumma e Chiba com nascimento de leitões fracos, prematuros e  
8 natimortos. Os resultados revelaram elevados títulos para os sorovares Copenhageni, Canicola  
9 e Icterohaemorrhagiae.

10 Em levantamento sorológico conduzido com matrizes suínas no sul do Vietnã em  
11 1990, as variantes de leptospiros prevalentes foram: Autumnalis, Akiyama, Bratislava, Jez,  
12 Icterohaemorrhagiae, Kantorowicz, Pomona, Borgpetersenii Tarassovi, Kirschneri e  
13 Grippytyphosa. Variações na soroprevalência foram encontradas para os sorovares Bratislava  
14 e Icterohaemorrhagiae (BOQUIST et al., 2005).

15 No Brasil, levantamentos sorológicos realizados por Reis et al. (1973) em Minas  
16 Gerais, Oliveira (1977) em Santa Catarina e Rio Grande do Sul, Larsson et al. (1984) em São  
17 Paulo, Paraná e Santa Catarina e Langoni et al. (1995) em São Paulo, detectaram o  
18 predomínio de anticorpos contra os sorovares Pomona e Icterohaemorrhagiae. Fávero et al.  
19 (2002) analisando resultados dos exames sorológicos de leptospirose suína, no período de  
20 1987 a 1997, constataram maior frequência de reações para o sorovar Icterohaemorrhagiae  
21 (33,0% a 66,6%) nos Estados de SP, SC, PR e GO, para o sorovar Pomona (100%, 33,3% e  
22 47,7%) no RS, RJ e PE respectivamente, para o sorovar Grippythyphosa (33,3%) em MG e  
23 para o sorovar Autumnalis (50%) no CE. Delbem et al. (2002), no período de 1999 a 2000,  
24 pesquisando em propriedades de suínos da região norte do Paraná, detectaram maior  
25 frequência de reações para o sorovar Icterohaemorrhagiae. O mesmo foi observado por  
26 Shimabukuro et al. (2003) que também relataram predomínio do sorovar Icterohaemorrhagiae  
27 em suínos de abatedouro da região de Botucatu no Estado de São Paulo. Azevedo et al.  
28 (2008), ao analisarem 131 amostras de suínos abatidos no matadouro público da cidade de  
29 Patos, Estado da Paraíba, Brasil, encontraram uma prevalência de 33,6% de aglutininas anti-  
30 *Leptospira* spp. O sorovar mais frequente foi o Pomona (29,0%), com 38 animais  
31 sororeagentes. Também foram constatadas reações sorológicas para os seguintes sorovares:  
32 Pyrogenes (2,3%), Canicola (1,5%) e Shermani (0,8%). Eles relatam que nesse estudo, houve  
33 diferença significativa na soroprevalência para o sorovar Pomona em relação aos demais  
34 sorovares.

#### 1 4. A DOENÇA NO HOMEM E A IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA

2  
3 O caráter zoonótico é um dos aspectos mais importantes da leptospirose. A doença  
4 vem se consolidando cada vez mais, quer como zoonose, quer como problema de saúde  
5 pública, assumindo papel importante na patologia humana devido à taxa de letalidade que  
6 pode ser alta, principalmente em indivíduos acometidos pela forma ictérica (GOMES, 2007;  
7 BRASIL, 1995). A infecção é considerada uma doença de risco ocupacional, atingindo  
8 diferentes categorias profissionais, especialmente trabalhadores em arrozais e canaviais,  
9 mineração, abatedouros e saneamento ambiental, além de tratadores de animais. Essas  
10 atividades geralmente são executadas na ausência de recursos tecnológicos e de equipamentos  
11 de segurança, por mão-de-obra desqualificada e mal remunerada, o que aumenta ainda mais o  
12 risco de infecção (ALMEIDA et al., 1994). Em alguns países, a leptospirose é considerada  
13 doença ocupacional para magarefes, fazendeiros e veterinários (BATISTA, 2007).

14 O primeiro relato encontrado na literatura sobre Leptospirose em suínos é de  
15 Wagener que em 1942 descreveu na Alemanha a transmissão da doença ao homem. No  
16 Brasil, um dos primeiros relatos de uma possível transmissão da leptospirose suína ao homem  
17 foi feito por Guida em 1959 onde em um surto de leptospirose suína em uma granja da cidade  
18 de São Paulo-SP, dois tratadores dos suínos desta criação apresentaram títulos de aglutininas  
19 de 1:400 e 800 para o sorovar Canicola, no entanto, não foram constatados sintomas  
20 característicos da doença (SOTO et al., 2007). Campagnolo et al. (2000), analisaram um surto  
21 de leptospirose com 240 habitantes no Missouri (EUA), associado com 1.700 suínos  
22 infectados pela doença e concluíram que a leptospirose representou um risco para os  
23 produtores e funcionários que abatem suínos. Procedimentos como higiene adequada das  
24 instalações, saneamento e educação em saúde dos funcionários foram medidas essenciais para  
25 a redução do risco de exposição por leptospirosas.

26 Os produtores e funcionários que trabalham diretamente no abate de suínos têm risco  
27 ocupacional de adquirirem a leptospirose suína (SOTO et al., 2007). Apesar do risco  
28 ocupacional, a incidência de pessoas sororeagentes à prova de aglutinação em indivíduos com  
29 grande contato com animais infectados é consideravelmente baixa, e casos clínicos no homem  
30 são incomuns. A infecção humana ocorre, principalmente, pelo contato com urina ou  
31 conteúdo uterino infectados. Indivíduos podem se infectar pela manipulação de vísceras ou  
32 urina de fêmeas que abortaram pela *L. interrogans* sorotipo Pomona. As leptospirosas podem  
33 ser encontradas no leite durante o período febril, no quadro agudo da doença, mas sua  
34 permanência é muito curta e em geral não resistem à pasteurização (GOMES, 2007).

## 5. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da leptospirose suína pode ser realizado através de sinais epidemiológicos da doença, sinais clínicos dos animais e confirmados por diferentes métodos laboratoriais (FAINE et al., 1999). Entretanto, segundo Ellis (2006) o diagnóstico clínico é difícil, pois os sinais clínicos são quase inaparentes e por esta razão, o diagnóstico usualmente se baseia nos resultados de exames laboratoriais. As diversas técnicas laboratoriais visam à detecção direta ou indireta do agente ou do seu material genético (FAINE et al., 1999; SANTA ROSA et al., 1970). Para a determinação da ocorrência da leptospirose suína em um rebanho, indica-se a associação de meios diagnósticos, ou seja, a combinação de provas sorológicas e bacteriológicas (LARSSON et al., 1984). As técnicas de histopatologia são em geral inespecíficas e apenas auxiliam no processo diagnóstico.

### 5.1. Diagnóstico epidemiológico

Devido ao grande grau de dependência ambiental das leptospiras, a epidemiologia da leptospirose suína está intimamente relacionada ao ambiente, uma vez que este fornece as condições para instalação de um foco de infecção que irá disseminar o agente uma vez que são microorganismos muito delicados e muito sensíveis às adversidades do ambiente tais como luz solar, temperaturas elevadas ou muito baixas e ausência de umidade. Dos múltiplos sorovares já identificados, são comuns a todos a necessidade de umidade e extrema sensibilidade ao meio ambiente. Dessa forma, a umidade passa a ser então um fator ambiental de grande importância epidemiológica na leptospirose suína. As leptospiras podem persistir e até multiplicar-se em um meio ambiente favorável durante vários meses. Como as leptospiras saem do corpo do hospedeiro, principalmente pela urina, a transmissão exige exposição a materiais do ambiente contaminados pela urina dos animais infectados (SOTO et al., 2007). Assim, como a ocorrência da leptospirose suína é determinada pelo grau de umidade, fatores climáticos como estação de chuvas, temperatura, vento e umidade relativa do ar influem de maneira importante na epidemiologia da doença. Ecologicamente, as regiões tropicais e subtropicais são mais favoráveis para a doença do que as regiões temperadas, secas e frias (FAINE, 1982).

Uma vez que o agente se refugia da resposta imune do hospedeiro, e deste consegue uma saída, como a urina na leptospirose suína, o hospedeiro se converte em reservatório, cujo papel é de grande importância no ciclo da infecção (SOTO et al., 2007). Fatores como idade e

1 gênero (principalmente as fêmeas), influem profundamente na presença da leptospirose em  
2 uma granja. Outro fator importante é a ampla variedade de espécies susceptíveis que também  
3 se comportam como reservatórios. No caso dos suínos, os roedores, muito comuns nas granjas  
4 devido à abundância de alimento e abrigo, são importantes reservatórios de diversos sorovares  
5 de leptospiras. Essas informações são fundamentais e devem ser coletadas durante a  
6 investigação *in locu* e podem auxiliar no diagnóstico epidemiológico da leptospirose (FAINE,  
7 1982; SIMÕES, 1986).

8 A densidade da população de animais, em geral bastante alta nas criações industriais  
9 de suínos, constitui uma característica epidemiológica fundamental que influi diretamente na  
10 ocorrência da leptospirose no plantel. Quanto maior a proporção de animais por unidade de  
11 área, aumenta-se o risco de exposição por contato direto a fonte comum. Um pequeno número  
12 de animais portadores em um ambiente favorável (úmido) pode contaminar rapidamente todo  
13 o meio, dificultando que um indivíduo escape da exposição (SOTO et al., 2007).

14 A procedência dos animais adquiridos também assume grande importância. Fêmeas  
15 reprodutoras adquiridas podem ser oriundas de granjas ou de exposições de animais onde a  
16 leptospirose pode estar presente. A introdução destes animais em novas unidades favorecerá a  
17 disseminação das leptospiras. Veículos e visitantes também podem ser meios de transmissão  
18 da leptospirose suína (MORES, 1999; SOBESTIANSKY et al., 1999).

## 19

### 20 **5.2. Diagnóstico clínico**

21

22 O diagnóstico da forma clínica da leptospirose suína é difícil uma vez que  
23 dificilmente os animais, principalmente os adultos, externam sintomas. Animais portadores de  
24 leptospiras passam despercebidos pelos tratadores e pela inspeção ante-mortem nos  
25 matadouros-frigoríficos, sendo às vezes identificadas lesões sugestivas de leptospirose apenas  
26 na inspeção post-mortem. Em animais jovens, os sinais clínicos como febre, anorexia,  
27 icterícia e hemoglobinúria podem ser sugestivos de leptospirose (CORRÊA & CORRÊA,  
28 1992). Nas fêmeas suínas, os sinais clínicos afetam a esfera reprodutiva com a ocorrência de  
29 abortamentos, partos distócicos, leitegadas pequenas, baixo número de nascidos totais,  
30 mumificação fetal, natimortalidade e nascimento de leitões fracos que não sobreviverão,  
31 aumentando significativamente o índice de mortalidade (SOTO et al., 2007). Outras moléstias  
32 infecciosas como a brucelose, parvovirose, peste suína e pseudorraiva podem também  
33 determinar quadros clínicos semelhantes (SOBESTIANSKY et al., 1999).

### 1 5.3. Diagnóstico laboratorial direto

2  
3 Na ocorrência da forma clínica da Leptospirose suína, com presença de lesões,  
4 podem ser utilizadas duas formas principais de diagnóstico laboratorial direto. A primeira por  
5 colheita de sangue heparinizado e urina, para exame direto em microscópio de campo escuro  
6 ou contraste de fase. Uma gota de sangue é examinada a fresco entre lâmina e lamínula. A  
7 urina é submetida a enriquecimento por centrifugação e o sedimento é analisado. Este teste  
8 apresenta algumas desvantagens que limitam sua utilização, tais como: baixa sensibilidade,  
9 necessidade de examinador qualificado, avaliação de várias amostras de um mesmo animal  
10 devido a eliminação intermitente de leptospira pela urina e lise bacteriana pelo pH ácido da  
11 urina (BOLIN et al., 1989; VASCONCELLOS, 1979). O segundo método é realizado pelo  
12 cultivo bacteriano em meio bacteriológico como o de Fletcher, ou por inoculação em cobaias  
13 e hamsters (CORRÊA & CORRÊA, 1992). A cultura de leptospira a partir de fluidos  
14 corporais é a forma mais adequada, mas apresenta como desvantagem alta demanda de tempo,  
15 chegando a levar mais de seis meses (OLIVEIRA, 1988), é muito laboriosa, com uma baixa  
16 sensibilidade. O diagnóstico *post mortem* pode falhar, pois as leptospirosas podem morrer antes  
17 da inoculação no meio de cultura (SHIMABUKURO et al., 2003). Contudo, o isolamento do  
18 agente permite o diagnóstico definitivo, pois propicia a identificação do sorovar infectante  
19 que é necessário para a condução de estudos epidemiológicos e profiláticos da doença  
20 (FAINE et al., 1999; VASCONCELLOS, 1987).

21 Apesar das limitações, as técnicas de biologia molecular vêm se destacando por  
22 preencherem as lacunas de sensibilidade e praticidade das outras provas diagnósticas  
23 utilizadas na pesquisa de leptospirosas. Como o alvo dessas técnicas é o DNA, uma molécula  
24 muito estável que pode ser facilmente detectado ainda quando da utilização de amostras  
25 autorizadas e/ou contaminadas, a utilização desses métodos proporciona o diagnóstico rápido  
26 e sensível, particularmente nos casos em que outras provas seriam inviáveis. A técnica de  
27 PCR é específica, sensível e rápida para o diagnóstico da leptospirose suína, sendo um  
28 importante meio de diagnóstico, bem como para investigações epidemiológicas (SOTO et al.,  
29 2007). Trabalhos com bovinos evidenciaram que esta técnica é capaz de detectar de 5 a 10  
30 leptospirosas/ml de urina. Entretanto, ela utiliza alta tecnologia e de grandes investimentos  
31 (GOMES, 2007).

32 Técnicas recentes na pesquisa de leptospirosas em fluidos têm sido aperfeiçoadas  
33 através do teste de ELISA de captura ou pela imuno-histoquímica (IHQ). Os resultados  
34 obtidos com estas técnicas ampliam a capacidade de detecção das leptospirosas íntegras ou

1 fragmentadas. O agente é detectado com o auxílio de anticorpos específicos marcados com  
2 enzimas como peroxidase ou com fluoresceína (GOMES, 2007).

3 As técnicas de impregnação pela prata como a técnica de Levadite e a Warthin-Starry  
4 são utilizadas rotineiramente na identificação de alguns tipos de espiroquetas, entretanto  
5 alguns inconvenientes como problemas de estabilidade dos reagentes, custo elevado, falhas  
6 em identificar microorganismos ou seus produtos antigênicos principalmente quando em meio  
7 intracelular e coloração de estruturas não identificadas como leptospiras podem limitar sua  
8 utilização (ALVES, 1987; SCANZIANI et al., 1989). Alguns autores, porém, referem ótima  
9 estabilidade, menor custo e tempo no processamento da técnica de Warthin-Starry quando  
10 comparada a outras provas argênticas (HAANWINCKEL et al., 2004).

#### 11 12 **5.4. Diagnóstico laboratorial indireto**

13  
14 A técnica da SAM é o método de diagnóstico indireto mais praticado para pesquisa  
15 de Leptospirose, principalmente em suínos, mesmo com a disponibilidade de várias outras  
16 técnicas. É também o método de referência preconizado pela Organização Mundial da Saúde  
17 e é considerada uma técnica sorogrupo específico (FAINE et al., 1999).

18 O ponto de partida da SAM é a diluição dos soros de 1:100, na mistura final  
19 soro/antígeno. A execução de exames em diluições inferiores a este valor aumenta a  
20 frequência de reações inespecíficas. (VASCONCELLOS et al., 1990). Os soros são triados  
21 nesta diluição frente a uma coleção de antígenos do laboratório e a segunda etapa da reação  
22 será o reteste do mesmo com as variantes sorológicas em que houve aglutinação na triagem,  
23 porém em uma série de diluições geométricas de razão dois (titulação). O título do soro é, por  
24 definição, a recíproca da sua maior diluição aonde ainda ocorre aglutinação (SANTA ROSA,  
25 1970).

26 A coleção de antígenos mantida por um laboratório que execute o teste SAM como  
27 método de rotina pode variar de uma localidade para a outra e também segundo as espécies  
28 animais cujos soros são examinados. No entanto, para fins de Vigilância Epidemiológica, é  
29 recomendável que as coleções sejam constituídas com pelo menos uma variante sorológica  
30 por sorogrupo e de algumas estirpes de importância regional (FAINE, 1982).

31 A interpretação da SAM pode sofrer interferência por fatores tais como o uso de  
32 vacinas polivalentes (OLIVEIRA, 1999) e devido às reações cruzadas que ocorrem entre  
33 sorogrupos distintos, principalmente na fase aguda da doença (FAINE, 1994). Assim o  
34 histórico do uso de vacinas contra a Leptospirose suína em fêmeas reprodutoras é importante

1 para a interpretação dos resultados, uma vez que esses animais podem apresentar títulos de  
2 anticorpos vacinais. Entretanto, os títulos de anticorpos vacinais detectáveis na SAM não  
3 ultrapassam a titulação 1:400 e tendem a diminuir até atingir níveis não perceptíveis em,  
4 aproximadamente, dois meses. Apesar do decréscimo dos títulos de anticorpos vacinais, o  
5 animal estará protegido por até 6 meses através da formação de IgG estimulada pela  
6 vacinação (SOBESTIANSKY et al., 1999). O anticorpo inicialmente formado pelo estímulo  
7 vacinal é a IgM que é detectada prioritariamente no teste da SAM, e posteriormente ocorre a  
8 formação de IgG.

9 A técnica de ELISA é uma técnica de valor na detecção de imunoglobulinas  
10 específicas da classe IgM, IgG e IgA, possibilitando a distinção da infecção recente, da  
11 ocorrida no passado, com uma única amostra de soro. Essa técnica é mais sensível e  
12 específica que a reação de soroprecipitação. Há pesquisa de IgM no líquido cefalorraquidiano  
13 (LCR) pela técnica de ELISA e o emprego da saliva para o diagnóstico rápido da leptospirose,  
14 detectando anticorpos específicos da classe IgM (GOMES, 2007).

15 As lesões decorrentes da presença do agente em cortes histológicos podem ser  
16 identificadas pela coloração Hematoxilina-Eosina. Alterações histológicas em suínos durante  
17 a fase aguda da leptospirose foram relatadas por Hanson e Tripathy em 1986. Essas alterações  
18 são caracterizadas por lesão tubular renal (necrose e/ou degeneração), necrose focal do fígado,  
19 infiltração linfocítica da glândula adrenal e meningoencefalite associada à infiltração  
20 linfocítica perivascular. Durante a fase crônica da doença, as principais alterações  
21 histopatológicas ocorrem no rim e são caracterizadas por uma nefrite intersticial focal que  
22 pode assumir caráter progressivo. O infiltrado inflamatório, que consiste de linfócitos,  
23 macrófagos e plasmócitos, pode ser extenso em algumas áreas. Alterações como fibrose e/ou  
24 atrofia dos glomérulos, espessamento da cápsula de Bowman contendo material eosinofílico  
25 granular podem estar presentes. Demais alterações consistem em atrofia ou hiperplasia e  
26 presença de debris necróticos no lúmen tubular e hemorragias no espaço intersticial  
27 (HASHIMOTO, 2006).

28 Diversos estudos para o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico laboratorial  
29 mais sensíveis e específicas que as atualmente utilizadas têm sido realizados. Destaca-se entre  
30 eles os trabalhos com a técnica de diagnóstico precoce que utilizou anticorpos fluorescentes  
31 dirigidos contra a proteína de membrana LipL32 existente somente em sorovares patogênicos.  
32 Outros estudos avaliaram a reação de contraímunoeletroforese como teste gênero-específico  
33 para diagnóstico da leptospirose suína. O procedimento apresentou segurança, rapidez e

1 facilidade de execução com baixo custo, sendo ideal para a análise de grande número de  
2 amostras (SOTO et al., 2007).

3

## 4 **6. CONTROLE E PROFILAXIA**

5

6 O controle e profilaxia da infecção em suínos são feitos baseados na vacinação dos  
7 animais suscetíveis, nas ações de controle sobre as fontes de infecção (animais domésticos e  
8 sinantrópicos) buscando a diminuição de leptospiros eliminadas no ambiente e no  
9 mapeamento e eliminação dos fatores que aumentam a sobrevivência das leptospiros em ausência  
10 de parasitismo no ambiente (GUIMARÃES et al., 1982/1983).

11

### 12 **6.1. Controle através de antibioticoterapia**

13

14 Com vistas à prevenção, o tratamento medicamentoso das fontes de infecção tem por  
15 objetivo principal reduzir a transmissão do agente. Os antibióticos utilizados irão cessar a  
16 eliminação do agente através da urina, sêmen e secreção vaginal.

17

18 Dos diversos produtos ensaiados para tal fim a estreptomicina aplicada pela via  
19 parenteral, usualmente na concentração de 25 mg/kg de peso vivo, têm sido a medicação de  
20 escolha (GUIMARÃES, et al., 1982/1983) entretanto, têm sido aventadas restrições quanto a  
21 presença de resíduos deste antibiótico nos alimentos de origem animal (ELLIS, 1994). Badke  
22 (2001) sugere uma associação de Penicilina e Dihidroestreptomicina, ocorrendo assim um  
23 sinergismo. Enquanto a penicilina age na parede da leptospira, a Dihidroestreptomicina  
24 interfere no RNA (ribossomo). Os resultados de estudos realizados em modelos biológicos  
25 experimentais. (ALT & BOLIN, 1996; SANTOS, et. al., 2001) convergem para uma possível  
26 utilização de outros antimicrobianos, como as cefalosporinas.

26

### 27 **6.2. Medidas preventivas aplicadas aos suscetíveis**

28

29 As vacinas atualmente disponíveis no mercado brasileiro contra a leptospirose são  
30 polivalentes, produzidas com cepas íntegras inativadas do agente. Os sorovares comumente  
31 utilizados para produção da vacina são: Canicola, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni,  
32 Pomona, Grippotyphosa e Bratislava. O esquema de vacinação mais freqüente consiste na  
33 aplicação de duas doses da vacina nas marrãs ou primíparas, com um intervalo de 14 dias  
34 entre as doses e entre a última dose e a cobertura. Fêmeas matrizes acima de um parto devem

1 ser vacinadas durante a lactação, em torno de 14 dias antes da cobertura ou na primeira  
2 semana de lactação. Para os machos, a vacinação deve ser semestral após a aplicação das duas  
3 doses iniciais da vacina (CARVALHO, 2005).

4 Nos animais domésticos de produção (suínos e bovinos) tem ocorrido uma tendência  
5 para o estabelecimento de uma sistemática de vacinação associada ao ciclo reprodutivo  
6 individual das fêmeas ao invés do esquema tradicional de uma vacinação simultânea de todos  
7 os componentes da população no menor espaço de tempo possível. A determinação da relação  
8 custo/benefício dos programas de controle da leptospirose animal, incluindo avaliação da  
9 vacinação isolada ou combinada ao tratamento com antibióticos e modificações ambientais é  
10 um ponto de destaque (MOREIRA, 1994).

11 As bacterinas anti-leptospirose de uso animal são controladas segundo protocolos  
12 internacionais que incluem testes de inocuidade e de potência (BEY & JOHNSON, 1986), no  
13 entanto a despeito de atenderem estas exigências foi constatado que em algumas ocasiões os  
14 animais vacinados adquirem proteção contra a doença, mas não contra a infecção e podem  
15 eliminar leptospirosas via urina (PIMENTEL, 1999).

16 É sabido que as vacinas anti-leptospirose em suínos previnem a ocorrência da  
17 doença, entretanto, a especificidade dos sorovares é fator limitante na eficiência das vacinas  
18 (mortas com células integras) (SOTO et al., 2007). Apesar do consenso de que a proteção é  
19 sorovar específica (PRESCOTT et al., 1991), tem sido investigada a proteção cruzada entre  
20 representantes de um mesmo sorogrupo (COSTA et al., 1998; TABATA et al. 2002).

21 A interferência da vacinação nos resultados dos testes de diagnóstico tem sido  
22 investigada e parece ser possível o ajuste de concentrações de antígeno vacinal de modo a ser  
23 conferida a proteção exigida com pouca influência nos resultados dos testes sorológicos  
24 (FAVERO et al., 1997).

25 Em granjas de suínos positivas para a leptospirose, a erradicação da doença é difícil.  
26 Programas de descarte de fêmeas acima de seis partos e comprovadamente sororeagentes para  
27 a leptospirose suína podem contribuir para a diminuição das fontes de infecção (SOTO et al.,  
28 2007).

### 30 **6.3. Medidas de combate aos reservatórios animais sinantrópicos**

31  
32 Os representantes da família Muridae (*Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* e *Mus*  
33 *musculus*) são animais originários do continente asiático que através das grandes navegações  
34 ocorridas no passado foram distribuídos por todo o globo, persistindo graças à extrema

1 capacidade de adaptação. No Brasil, esses animais estão presentes nos ecossistemas rurais e  
2 urbanos e mantém estreito vínculo com os seres humanos que propiciam as condições de  
3 abrigo e alimentação. As medidas de combate a esses reservatórios incluem a modificação  
4 ambiental, as medidas preventivas, as medidas ofensivas, uso técnico de raticidas e a  
5 educação em saúde que pressupõe a introdução de novos hábitos culturais. A presença de  
6 estirpes de roedores geneticamente resistentes a warfarina já foi confirmada no Brasil  
7 (CARVALHO NETO, 1986).

8

#### 9 **6.4. Medidas preventivas aplicadas às vias de transmissão**

10

11 As vias de eliminação implicadas com a disseminação da Leptospirose suína incluem  
12 urina, sêmen, produtos do abortamento e as secreções vaginais. (ELLIS et al., 1985; ELLIS, et  
13 al., 1986). Os mecanismos de contágio podem ser indiretos: contato com materiais  
14 contaminados (alimentos, água, fômites) e a prática da inseminação artificial quando o sêmen  
15 é colhido de doadores infectados; ou direto: transmissão venérea pela cópula. (SLEIGHT &  
16 WILLIAN'S, 1961). Há controvérsias quanto à transmissão da leptospirose via inseminação  
17 artificial (KIKTENKO, et al., 1976). Além do controle sanitário dos doadores de sêmen  
18 (HEINEMANN, et al.1999; HEINEMANN et al., 2000), estudos sobre novas combinações de  
19 antibióticos acrescentados aos diluidores de sêmen oferecem métodos seguros para o  
20 bloqueio desta via de transmissão (MIRAGLIA, et al., 2001).

21

22 Piffer et al. (1998), afirmaram que uma granja suinícola oferece múltiplas maneiras  
23 para a viabilidade, permanência e transmissão da leptospirose através de características  
24 favoráveis do ambiente, do manejo e das instalações. DELBEM et al. (2004) relataram que as  
25 leptospirosas são lançadas ao meio ambiente principalmente através da urina de roedores, e que  
26 os microrganismos encontram nas coleções de águas paradas, representadas por áreas  
27 alagadiças, bebedouros do tipo canaleta e reservatórios de água não higienizados  
28 periodicamente, condições para sobreviver e meios para alcançar um suíno suscetível. Como  
29 as leptospirosas são eliminadas no ambiente compartilhado por vários animais, a prevenção da  
30 infecção é estreitamente dependente de medidas de saneamento da granja e de diagnóstico da  
31 doença, que muitas vezes são difíceis de serem praticadas principalmente em granjas que não  
32 são tecnificadas (DELBEM et al., 2004). Devido a sua sensibilidade a diversos desinfetantes e  
33 detergentes, o manejo de desinfecção da granja com a realização do vazio sanitário no sistema  
34 “all in all out”, “tudo dentro, tudo fora” são medidas importantes na eliminação do agente  
presente nas instalações das granjas suinícolas (SOBESTIANSKY et al., 1999).

1 Conjuntamente, realizar a drenagem das áreas alagadiças próximas às instalações dos suínos,  
2 a substituição dos bebedouros do tipo canaleta pelos automáticos e a higienização periódica  
3 dos reservatórios de água. Quando não for possível a troca por bebedouros automáticos,  
4 sugere-se um programa de higienização periódica dos bebedouros do tipo canaleta, pois tal  
5 prática parece ter sido eficiente para os reservatórios de água (DELBEM et al., 2004).

6 As práticas de saneamento ambiental da granja são importantes para o controle da  
7 Leptospirose suína, no entanto, atenção especial também deve ser dada ao destino das  
8 excretas dos animais. Estudos experimentais podem ser realizados para a determinação de  
9 tratamentos desse material que assegurem a destruição de leptospiras e possibilitem o  
10 aproveitamento racional e seguro destes subprodutos para a adubação orgânica ou como fonte  
11 de energia (DIESCH, 1971).

12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

## 1 REFERÊNCIAS

2  
3 ALMEIDA, L.P.; MARTINS, L.F.S.; BROD, C.S. Levantamento soroepidemiológico de  
4 leptospirose em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental em localidade urbana da  
5 região sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.28, n.1, p.76-81, 1994.

6  
7 ALT, D.P.; BOLIN, C.P. Preliminary evaluation of antimicrobial agents for treatment of  
8 *Leptospira interrogans* serovar Pomona infection in hamsters and swine. **American Journal**  
9 **Veterinary Research**, v.1, n.57, p.59-62, 1996.

10  
11 ALVES, V.A.F.; VIANNA, M.R.; YASUDA, P.H.; DE BRITO, T. Detection of Leptospiral  
12 antigen in the human liver and kidney using an immunoperoxidase staining procedure. **J.**  
13 **Pathol.**, v.159, p.123-131, 1987.

14  
15 AZEVEDO, S. S. et al. Prevalence of anti-*Leptospira* spp. Antibodies in swine slaughtered in  
16 the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Arq. Inst.**  
17 **Biol., São Paulo**, v.75, n.4, p.517-520, out./dez., 2008.

18  
19 BADKE, M.R.T. 2001. **Leptospirose**. Disponível em  
20 <<http://www.cnpsa.embrapa.br/abravessc/pdf/Memorias2001/1manoelrenato.pdf>> Acessado  
21 em 2 dez. 2010.

22  
23 BASTOS, M. **Leptospirose**. Disponível em:<<http://www.cca.ufes.br/caklbacteri.htm>>.  
24 Acesso em: 29 jun. 2010.

25  
26 BATISTA, C. S. A. **Estabelecimento da Leptospirose por Infecção Experimental em**  
27 **Hamsters (*Mesocricetus auratus*) com *Leptospira interrogans* Sorovar Canicola, Estirpe**  
28 **lo4, pela Exposição Cutânea Íntegra e com Abrasões e seu Potencial de Transmissão**  
29 **Ambiental. 2007.** Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às  
30 Zoonoses) – Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às  
31 Zoonoses. USP, São Paulo-SP.

32  
33 BEY, R.F.; JOHNSON, R.C. Current status of leptospiros vaccines. **Progress Veterinary**  
34 **Microbiology Immunology**. V. 2, p.175-197, 1986.

- 1 BLAHA, T. **Applied Veterinary Epidemiology**. Amsterdam: Elsevier, 1989. p.95-103.  
2
- 3 BLENDEN, D.C. Aspectos epidemiológicos de La leptospirosis. In: **REUNION**  
4 **INTERAMERICANA SOBRE EL CONTROLE DE LA FIEBRE AFTOSA Y OTRAS**  
5 **ZOONOSIS**, 8., 1975, Guatemala. Washington, Organizacion Panamericana de La Salud,  
6 1976, p.160-168. (Publicacion Científica, 316).  
7
- 8 BOLIN, C. A.; ZUERNER, R. L.; TRUEBA, G. Effect of vaccination with a pentavalent  
9 vaccine containing *Leptospira interrogans* serovar Hardjo type Hardjo-bovis vaccine on type  
10 Hardjo-bovis infection of cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 12, p.  
11 2004-2008, 1989.  
12
- 13 BOQUIST, S.; HOTH, U, T.; MAGNUSSON, A. Annual variations in *Leptospira*  
14 seroprevalence among sows in Southern Vietnam. **Tropical Animal Health Production**, v.6,  
15 n.37, p.443-449, 2005.  
16
- 17 BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de  
18 Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de**  
19 **Leptospirose**. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1995. 98 p.  
20
- 21 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa  
22 Agropecuária. **Instrução Normativa nº 19 de 15 de Fevereiro de 2002. Normas para a**  
23 **Certificação de Granjas de Reprodutores Suídeos**. Brasília-DF. 2002.  
24
- 25 CAMPAGNOLO, E.R.; W ARWICK, M.C.; M ARX, H.L.; C OWART, R.P.; DONNEL,  
26 H.D.; GAJANI, M.D.; BRAGG, S.L.; ESTEBAN, J.E.; ALT, D.P.; TAPPERO, J.W.; BOLIN,  
27 C.A.; ASHFORD, D.A. Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans  
28 exposed to infected swine. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.216,  
29 p.676-682, 2000.  
30
- 31 CANHOS, V.P.; SOUZA, S.; CANHOS, D.AL. (Ed.). **Catálogo nacional de linhagens –**  
32 **Bactérias**. Campinas: Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, 1989.  
33 v.1.  
34

- 1 CARVALHO E, BARBOSA AS, GÓMEZ RM, OLIVEIRA ML, ROMERO EC,  
2 GONÇALES AP, MORAIS ZM, VASCONCELLOS SA, HO PL. Evaluation of the  
3 expression and protective potential of leptospiral sphingomyelinases. **Current Microbiology**,  
4 v.60, n.2, p.134-142, 2010.  
5
- 6 CARVALHO, L.F.O.S. Vacinas e vacinações em suinocultura intensiva. In: **SEMINÁRIO**  
7 **INTERNACIONAL DE AVES E SUÍNOS - AVESUI, SUINOCULTURA: SAÚDE E**  
8 **MEIO AMBIENTE**, 4., 2005, Florianópolis, SC. Anais. Florianópolis: 2005. 14p.  
9
- 10 CARVALHO NETO, C. **Estudos sobre a resistência a warfarina em roedores da cidade de**  
11 **São Paulo, SP**. São Paulo, 1986, 74p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade  
12 de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP. 1986.  
13
- 14 CASTRO, A.F.P.; SANTA ROSA, C.A.; CALDAS, A.D. Isolamento de *L. canicola* de suínos  
15 abatidos em matadouro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.29, p.193-197, 1962.  
16
- 17 CHAPPELL, R.J. Prevalence and geographic origin of pigs with serological evidence of  
18 infection with *Leptospira interrogans* serovar Pomona slaughtered in abattoir in Victória,  
19 Australian. **Veterinary Microbiology**, v.62, n.3, p.235-242, 1998.  
20
- 21 CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**.  
22 2.ed. Rio de Janeiro: Editora Médica Científica, 1992. 843p.  
23
- 24 COSTA, M.C.R.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C.; MARTINS, N.R.S. Avaliação da  
25 imunidade cruzada entre *Leptospira hardjo* e *L. wolffi*. **Arquivos Brasileiros de Medicina**  
26 **Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n.1, p.11-17, 1998.  
27
- 28 DELBEM, A.C.B.; FREITAS, J.C.; BRACARENCE, A. P. F. R. L.; MÜLLER, E.E.;  
29 OLIVEIRA, R.C. Leptospirosis in slaughtered sows: serological and histopathological  
30 investigation. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p. 174-177, 2002.  
31
- 32 DELBEM, A.C.B.F.; SILVA, R.L.F.; SILVA, C.A.; MÜLLER, E.E.; DIAS, R.A.; NETO,  
33 J.S.F.; FREITAS, J.C. Fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em  
34 matrizes suínas. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.847-852, 2004.

- 1 DIESCH, S.L. Survival of Leptospire in cattle manure. **Journal of American Veterinary**  
2 **Medical Association**, v. 159, n.11, p. 1513- 1517, 1971.
- 3
- 4 DIKKEN, H.; KMETY, E. Serological typing methods of leptospire. In: Bergan, T.; Norris,  
5 J. Methods in Microbiology. **Academic Press**. London. p. 259–307, 1978.
- 6
- 7 ELLIS, W.A.; O'BRIEN, J.J.; CASSELLS, J.A .; NEILL, S.D.; HANNA, J. Excretion of  
8 *Leptospira interrogans* serovar hardjo following calving or abortion. **Research Veterinary**  
9 **Science**, v. 39, p. 296-298, 1985.
- 10
- 11 ELLIS, W.A.; CASSELLS, J.A.; DOYLE, J. Genital leptospirosis in bull. **Veterinary**  
12 **Record**, v. 118, p. 333, 1986.
- 13
- 14 ELLIS, W.A. Leptospirosis in pig. **The Pig Veterinary Journal.**, v.28, p.24-34, 1992.
- 15
- 16 ELLIS, W.A . Leptospirosis as a cause of reproductive failure. **Veterinary Clinics of North**  
17 **America: Food Animal Practice**, v. 10, n.3, p.463-478, 1994.
- 18
- 19 ELLIS, W.A. Leptospirosis. In: STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.;  
20 TAYLOR, D.J.; LEMAN, A.D. (Ed.). **Diseases of swine**. 7.ed. Ames: Iowa State University,  
21 1999. p.483-493.
- 22
- 23 ELLIS, W. A. Leptospirosis. In : STRAW, B.E.; D'ALLAIRE, S.; MENGELING, W.L.;  
24 TAYLOR, D.J.; LEMAN, A.D. (Ed.) . **Diseases of Swine**. 9.ed. Ames, Iowa: Iowa State  
25 University, 2006. Cap.41, p.691-700.
- 26
- 27 FAINE, S. Iron as a growth requirement for pathogenic leptospira. **Journal of General**  
28 **Microbiology**. v.20, p.246-251, 1959.
- 29
- 30 FAINE, S. Guidelinis for the control of leptospirosis. Geneva: **World Health Organization;**  
31 **1982 (WHO Offset publication 67)**.
- 32
- 33 FAINE, S. **Leptospira and Leptospirosis**. Boca Raton: CRC, 1994. 353p.
- 34

- 1 FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2ed.  
2 Melbourne: Medisci, 1999.
- 3
- 4 FÁVERO, A.C.M.; MANGERONA, A.C.S.; ALESSI, L.J.; MORAIS, Z.M.; PINHEIRO,  
5 S.R.; FERREIRA NETO, J.S.; VASCONCELLOS, S.A. Aglutininas pós-vacinais em bovinos  
6 imunizados com bacterina tetravalente contra a leptospirose. Influência de reações pré-  
7 vacinais, homólogas e heterológicas. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 64, n. 2,  
8 p.45-55, 1997.
- 9
- 10 FÁVERO, A.C.M. et al. Sorovares de Leptospiras predominantes em exames sorológicos de  
11 bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. **Ciência**  
12 **Rural**, Santa Maria, v.32, n.4, p. 613-619, 2002.
- 13
- 14 FERREIRA NETO, J.S.; VASCONCELLOS, S.A.; ITO, F.H.; MORETTI, A.S.A.;  
15 CAMARGO, C.R.A.; SAKAMOTO, S.M.; MARANGON, S.; TURILLI, C.; MARTINI, M.  
16 *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae and the reproductive performance of  
17 sows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 31, p. 87-93, 1997.
- 18
- 19 FREITAS, J.C.; SILVA, F.G.; OLIVEIRA, R.C.; DELBEM, A.C.B.; MÜLLER, E.E.;  
20 ALVES, L.A.; TELES, P.S. Isolation of *Leptospira* spp. from dogs, bovine and swine  
21 naturally infected. **Ciência Rural**, v.34, n.3, p.853-856, 2004.
- 22
- 23 GOMES, M.J.P. **Leptospira spp.** Microbiologia Clínica. 2007. Disponível em  
24 <<http://www.ufrgs.br/labacvet/pdf/lepto.pdf>> Acessado em 01 fev. 2011.
- 25
- 26 GUIDA, V.O. Sobre a presença de leptospira em suínos no Brasil. **Arquivos do Instituto**  
27 **Biológico**, São Paulo, v.18, p.285-287, 1947.
- 28
- 29 GUIDA, V.O. Identificação sorológica de amostras de *Leptospira* (L. hyos), isoladas de  
30 suínos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.25, p.73-75, 1958.
- 31
- 32 GUIDA, V.O.; CINTRA, M.L.; SANTA ROSA, C.A.; CALDAS, A.D. Leptospirose suína  
33 provocada pela *L. canicola* em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.26,  
34 p.49-54, 1959.

- 1 GUIMARÃES, M.C.; CÔRTEZ. J.A.; VASCONCELLOS, S.A.; ITO, F.H. Epidemiologia e  
2 controle da leptospirose em bovinos: papel do portador e seu controle terapêutico.  
3 **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da**  
4 **Universidade de São Paulo**, v.6/7, n.1/4, p.21-34, 1982/1983.
- 5
- 6 HAANWINCKEL, M.C.S.; MEGID, J.; SOUZA, L.C. Avaliação da prova de  
7 imunoperoxidase como recurso diagnóstico na Leptospirose animal. **Arq. Inst. Biol.**, São  
8 Paulo, v.71, n.3, p.293-301, jul./set., 2004.
- 9
- 10 HARTMANN, E.G.; VAN HOUTEN, M.; FRIK, J.F. Humoral immune reponse of dogs after  
11 vaccination against Leptospirosis measured by an IgM- an IgG- specific ELISA. **Veterinary**  
12 **Immunology Immunopathology**, v.7, p.245-254, 1984.
- 13
- 14 HASHIMOTO, V. Y. **Associação da Leptospirose com lesões renais macroscópicas tipo**  
15 **“white spots” em suínos aparentemente sadios, abatidos em frigorífico da região norte**  
16 **do estado do Paraná**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-  
17 graduação em Ciência Animal, UEL, Londrina-PR.
- 18
- 19 HATHAWAY, S.C.; LITTLE, T.W. A. Prevalence and clinical significance of leptospiral  
20 antibodies in pigs in England. **The Veterinary Record**, v.108, n.11, p.224-228, 1981.
- 21
- 22 HEINEMANN, M.B.; GARCIA, J.F.; NUNES, C.M.; MORAIS, Z.M.; GREGORI, F.;  
23 CORTEZ, A.; VASCONCELLOS, S.A.; VISINTIN, J.A.; RICHTZENHAIN, L.J. Detection  
24 of leptospire in bovine semen by polymerase chain reaction. **Australian Veterinay Journal**,  
25 v. 77, n.1, p. 32-34, 1999.
- 26
- 27 HEINEMANN, M.B.; GARCIA, J.F.; NUNES, C. M.; GREGORI, F.; MORAIS, Z.M.;  
28 VASCONCELLOS, S. A .; RICHTZENHAIN, L.J. Detection and differentiation of  
29 *Leptospira* spp serovars in bovine semen by polymerase chain reaction and restritction  
30 fragment lenght polymorphism. **Veterinary Microbiology**, v. 73, p. 261-267, 2000.
- 31
- 32 JENKINS, E.M.; HARRINGTON, R.; GBADAMOSI, S.G.; BRAYE, E.T. Survey of  
33 leptospiral agglutinins in the sera of swine of southeastern Alaban. **American Journal**  
34 **Veterinary Research**, v.40, n.7, p.1019-1021, 1979.

- 1 KAZAMI, A.; WATANABE, H.; HAYASHI, T.; KOBAYASHI, K.; OGAWA, Y.;  
2 YAMAMOTO, K.; ADACHI, Y. Serological survey of leptospirosis in sows with premature  
3 birth and stillbirth in Chiba and Gunma prefectures of Japan. **Journal Veterinary Medical  
4 Science**, v.64, n.8, p.735-737, 2002.
- 5  
6 KIKTENKO, V.S.; BALASHOV, N.G.; RODINA, V.N. Leptospirosis infection through  
7 insemination of animals. **Journal Hygiene Epidemiology, Microbiology and Immunology**,  
8 v. 20, p. 207-213, 1976.
- 9  
10 LANGONI, H.; CABRAL, K.S.M.; JACOBI, H. Inquérito soroepidemiológico para  
11 Leptospirase suína. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS  
12 ESPECIALISTAS EM SUÍNOS**, 7., 1995, Blumenau. Anais. Blumenau, 1995. p.153.
- 13  
14 LARSSON, C.E.; YASUDA, P.H.; SANTA ROSA, C.A.; COSTA, E.O. Leptospirase suína.  
15 Inquérito sorológico e bacteriológico em municípios dos Estados de São Paulo, do Paraná e de  
16 Santa Catarina. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da  
17 Universidade de São Paulo**, v.21, n.1, p.43-50, 1984.
- 18  
19 LEE SH, KIM S, PARK SC, KIM J. Cytotoxic activities of leptospira interrogans hemolysin  
20 sphh as a pore-forming protein on mammalian cells. **Infection and Immunity**, v.70, p.315-  
21 322, 2002.
- 22  
23 LEVETT, P.N. **Leptospirosis**. In: *Clinical Microbiology Veterinary*, v.14, p.296-326, 2001.
- 24  
25 LOUVEL HS, BOMMEZZADRI N, ZIDANE C, BOURSAUX-EUDE S, CRENO S,  
26 MAGNIER A, ROUY Z, MÉDIGUE C, SAINT GIRONS I, BOUCHIER C, PICARDEAU  
27 M. Comparative and functional genomic analyses of iron transport and regulation in  
28 leptospira spp. **The Journal of Bacteriology**, v.188, p.7893-7904, 2006.
- 29  
30 MICHNA, S.W; CAMPBELL, R.S.F. Leptospirosis in pigs: epidemiology, microbiology and  
31 pathology. **The Veterinary Record**, n.6, v.84, p.135-138, 1969.
- 32  
33 MILLER, D.A.; WILSON, M.A.; OWEN, W.J.; BERAN, G.W. Porcine leptospirosis in Iowa.  
34 **Journal Veterinary Dentistry**, v.2, n.3, p.171-175, 1990.

- 1 MIRAGLIA, F. **Emprego da penicilina – Estreptomicina, Amoxicilina, ou Cefotiofur**  
2 **sódico no diluidor Gema-citrato, para destruir Leptospiras em sêmen bovino**  
3 **experimentalmente contaminado por *Leptospira santarosai* sorovar guaicurus.** São Paulo,  
4 2001. Dissertação (Mestrado) FMVZ-USP.
- 5
- 6 MIRAGLIA, F. **Pesquisa de leptospiras no aparelho reprodutor, fígado, rim e urina de**  
7 **fêmeas suínas abatidas no período de abril de 2003 a agosto de 2004, em matadouro**  
8 **localizado no Estado de São Paulo.** 2005. 126p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina  
9 Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- 10
- 11 MOREIRA, E.C. **Avaliação de métodos para erradicação de leptospirose em bovinos**  
12 **leiteiros.** 1994. 94p. Tese (Doutorado) - Escola de Medicina Veterinária, Universidade  
13 Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1994.
- 14 MORES, N. Cuidados com a leitoa de reposição. **Instrução Técnica para o Suinocultor,**  
15 n.14, p.1-2, 1999.
- 16
- 17 OLIVEIRA, S. J. Presença de aglutininas antileptospiras em suínos e bovinos com e sem  
18 sinais de infecção. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério Finamor”,**  
19 v.4, p.57-64, 1977.
- 20
- 21 OLIVEIRA, S. J.; PIANTA, C.; SITYA, J. Abortos em suínos causados por *Leptospira*  
22 *Pomona* no Rio Grande do Sul. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério**  
23 **Finamor”,** n.7, p.47-49, 1980.
- 24
- 25 OLIVEIRA, S.J. Leptospirose em suínos. **Hora Veterinária,** v.7, n.41, p.5-8, 1988.
- 26
- 27 OLIVEIRA, S.J. Nova ameaça à reprodução em suínos, além da leptospirose? **Hora**  
28 **Veterinária,** v.19, n.111, p.87-90, 1999.
- 29
- 30 PARLOV, F.N.; KHAIBRAKHIMANOVA, R.K.; ILIN, K.I.; UTEKAEVA, F.S.  
31 Epidemiology of leptospirosis. **Veterinariya,** n.4, p.56-57, 1971.
- 32
- 33 PAZ-SOLDAN, S.V.; DIANDERAS, M.T.; WINDSOR, R.S. *Leptospira interrogans* serovar  
34 *canicola*: a casual agent of sow abortations in Arequipa, Peru. **Tropical Animal Health**

- 1 **Production**, v.43, n.4, p.233-240, 1991.
- 2
- 3 PEREA, A.; G ARCIA, R.; MALDONADO, A.; T ARRADAS, M.C.; LUQUE, I.;  
4 ASTORGA, R.; ARENAS, A. Prevalence of antibodies to different *Leptospira interrogans*  
5 serovar in pigs on large farms. **Zentralbl Veterinarmed Bulletin**, v.41, n.7/8, p.512-516,  
6 1994.
- 7
- 8 PERRY, G.; HEARDY, R. **A Scientific Review of Leptospirosis and implications for**  
9 **quarentene policy**. Austrália: Editora Canberra, 2000. 115p.
- 10
- 11 PIFFER, I.A.; P ERDOMO, C.C.; SOBESTIANSKY, J. Efeitos de fatores ambientais na  
12 ocorrência de doenças. In: **Suinocultura Intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**.  
13 Brasília: Embrapa-SPI, 1998. cap.13. p.257-274.
- 14 PIMENTEL, V. L. **Avaliação da dinâmica de anticorpos aglutinantes antileptospiricos,**  
15 **pós-vacinais, em cães errantes pela prova de soroaglutinação microscópica. Botucatu.**  
16 1999. 95 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,  
17 Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu, Botucatu,  
18 1999.
- 19
- 20 PRESCOTT, J. F.; FERRIER, R. L.; NICHOLSON, V. M.; JOHNSTON, K. M.; HOFF,  
21 B. Is canine leptospir osis underdiagnosed in southern Ontario? A case report an serological  
22 survey. **Canadian Veterinary Journal**, v. 32, p. 481-486, 1991.
- 23
- 24 REIS, R; RUY, E; PENA, C.M. Pesquisa de aglutininas antileptospiras em bovinos e suínos  
25 em Minas Gerais, Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte,  
26 v.25, n.1, p.11-14, 1973.
- 27
- 28 ROSE, G.W. Mechanism of tissue cell penetration by *Leptospira pomona*: active, penetration  
29 studies in vitro. **American Journal Veterinary Research**, n.27, p.1461-1471, 1966.
- 30
- 31 SANTA ROSA, C.A.; CASTRO, A.F.P.; TROISE, C. Isolamento de *Leptospira Pomona* de  
32 suíno em São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.29, n.3, p.165-174,  
33 1962a.
- 34

- 1 SANTA ROSA, C.A.; PESTANA DE CASTRO, A.F.; TROISE, C. Isolamento de leptospira  
2 Icterohaemorrhagiae e leptospira Hyos de suínos abatidos em matadouro. **Arquivos do**  
3 **Instituto Biológico**, São Paulo, v.29, p.285-291, 1962b.
- 4
- 5 SANTA ROSA, C.A.; CASTRO, A.F.P.; SILVA, A.S.; TERUYA, J.M. Nove anos de  
6 leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.29/30,  
7 p.19-27, 1969/1970.
- 8
- 9 SANTA ROSA, C.A.; CAMPEDELI, O.; CASTRO, A.F.P. Suínos como reservatórios de  
10 leptospiras no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.3, n.40, p.243-246,  
11 1973.
- 12
- 13 SANTA ROSA, C.A.; SULZER, C.R.; YANAGUITA, R.M.; SILVA, A.S. Leptospirosis in  
14 wildlife in Brazil: isolation of sorovars canicola, pyrogenes, and grippotyphosa. **International**  
15 **Journal of Zoonoses**, v.7, p.40-43, 1980.
- 16
- 17 SANTOS, G.O.; CARDOSO, S.A.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; CORTEZ, A.;  
18 FÁVERO, A.C.M.; MIRÁGLIA, F.; PINHEIRO, S.R.; AMOS, C.A.A. Emprego do ceftiofur  
19 sódico ou da estreptomomicina para a terapia da Leptospirose em hamsters experimentalmente  
20 infectados com o sorovar pomona. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.1,  
21 p.1-8, 2001.
- 22
- 23 SARAZÁ, M.L.; SÁNCHEZ-VAZCAÍNO, J.M. Mecanismo de infeccion de las enfermedades  
24 animales. **Porcine**, n.68, p.13-26, 2002.
- 25
- 26 SCANZIANI, E.; SIRONI, G.; MANDELI, G. Immunoperoxidase studies on leptospiral  
27 nephritis of swine. **Vet. Pathol.**,v.26, p.442-444, 1989.
- 28
- 29 SHIMABUKURO, F.H. **Pesquisa de suínos portadores renais de leptospiras pelo**  
30 **isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de**  
31 **animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose**. Botucatu. 2003. 62 p.  
32 Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade  
33 Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, Botucatu, 2003.
- 34

- 1 SIMÕES, M.L.N. Investigação de foco de leptospirose. In: **ENCONTRO NACIONAL EM**  
2 **LEPTOSPIROSE**, 1., 1986, Salvador. *Anais*. v.1, p.25.
- 3
- 4 SLEIGHT, S.D.; WILLIAM'S J.A. Transmission of bovine leptospirosis by coition and  
5 artificial insemination of animals. A preliminary report. **Journal American Veterinary**  
6 **Association** v. 138, p. 151-152, 1961.
- 7
- 8 SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D.; MORES, N.; CARVALHO, L.F.; OLIVEIRA, S.  
9 **Clínica e patologia suína**. 2.ed. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 1999. 464p.
- 10
- 11 SOTO F.R.M., VASCONCELLOS S.A., PINHEIRO S.R., BERNARSI F. & CAMARGO  
12 S.R. Artigo de revisão: Leptospirose suína. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.74, n.4, p.379-395,  
13 out./dez, 2007.
- 14 TABATA, R.; SCANAVINI NETO, H.; ZUANAZE, M. A . F.; OLIVEIRA, E.M.D.; DIAS,  
15 R. A .; MORAIS, Z.M. ITO, F.H.; VASCONCELLOS, S. A . Cross neutralizing antibodies in  
16 hamsters vaccinated with leptospiral bacterins produced with three serovars of serogroup  
17 sejroe. **Brazilian Journal of Microbiology**, V. 33, p. 267-270, 2002.
- 18
- 19 TURNER, L.H. Special Article. Leptospirosis I. **Transactions of the Royal Society of**  
20 **Tropical Medicine and Hygiene**. v. 61, n.6, p. 842-855, 1967.
- 21
- 22 VASCONCELLOS, S.A. Diagnóstico laboratorial da leptospirose. **Comunicações**  
23 **Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São**  
24 **Paulo**, v. 3, n.3/4, 189-195, 1979.
- 25
- 26 VASCONCELLOS, S.A. O papel dos reservatórios na manutenção da leptospirose na  
27 natureza. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**  
28 **da Universidade de São Paulo**, v.11, n.1, p. 17-24, 1987.
- 29
- 30 VASCONCELLOS, S.A.; OHTSUBO, I.; YASUDA, P. H.; MORETTI, A.S.A.; ITO, F.H.;  
31 PASSOS, E.C.; CÔRTEZ, J.A. Efeito da concentração do soro sobre a sensibilidade e  
32 especificidade da reação de soroaglutinação microscópica aplicada ao diagnóstico da  
33 leptospirose suína, tendo como antígeno a *L. biflexa* estirpe Buenos Aires. **Brazilian Journal**  
34 **of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 27, n.1, p.33-39, 1990.

1 VASCONCELLOS, S. Leptospirose Animal. **ENCONTRO NACIONAL EM**  
2 **LEPTOSPIROSE**, 3. Rio de Janeiro, p. 62-66, 1993.

3

4 VASCONCELLOS, S.A. Leptospirose. **Biológico**, São Paulo, v. 59, n.1, p. 29-32, 1997.

5

6 WANDERSMAN C, STOJILJKOVIC I. Bacterial heme sources: the role of heme,  
7 hemoprotein receptors and hemophores. *Current Opinion in Microbiology*, v.3, p.215-220,  
8 2000.

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

**CAPÍTULO II**  
**ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

O presente trabalho foi formatado de acordo com as normas da Revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**, conforme o que estabelece a Norma nº 01/2009 de 04 de Fevereiro de 2009, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural – Campus de Patos-PB.

# 1 **Leptospirose em suínos de abate: estudo sorológico e histopatológico**<sup>1</sup>

2  
3 Ítalo L. Figueiredo<sup>2</sup>, Severino S. S. Higino<sup>2</sup>, Clebert J. Alves<sup>2</sup>, Cláudia Del Fava<sup>3</sup>,  
4 Maria E. Carretero<sup>3</sup>, Sérgio S. Azevedo<sup>2</sup>

5  
6 **ABSTRACT.-** Figueiredo I.L., Higino S.S.S., Alves C.J., Del Fava C., Carretero M.E. &  
7 Azevedo S.S. 2011. [Serology for *Leptospira* spp and histopathological findings in  
8 slaughtered pigs in the Patos City, Paraíba, Brazil] Sorologia para *Leptospira* spp e  
9 achados histopatológicos em suínos abatidos na cidade de Patos, Paraíba, Brasil. *Pesquisa*  
10 *Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Laboratório de Doenças Transmissíveis, Unidade  
11 Acadêmica de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade  
12 Federal de Campina Grande, Av. Universitária s/n, Patos, PB 58700-970, Brasil. E-mail:  
13 [sergio.azevedo@pq.cnpq.br](mailto:sergio.azevedo@pq.cnpq.br)

14 Leptospirosis is worldwide recognized for its zoonotic character and represent an  
15 important cause of reproductive failure in livestock. Serological and histopathological tests  
16 are constantly used as diagnostic tool of infection. This work was conducted in slaughtered  
17 pigs in the Patos City, Paraíba State, Brazil aimed to determine the frequency of anti-  
18 leptospira antibodies and to compare the serological findings with the histopathological  
19 findings of kidney, liver, ovary and uterus. The microscopic agglutination test (MAT) was  
20 performed on 126 animals. The histopathological examination performed in sections of livers,  
21 kidneys, ovaries and uterus stained with hematoxylin-eosin (H.E.) were performed in 20  
22 animals randomly chosen (10 from group with serological titre  $\geq$  100 and 10 from group  
23  $<$ 100). Parallely was carried direct search of leptospires by Warthin-Starry technique in  
24 kidney samples from all animals seropositive and in 10 seronegative animals underwent HE.  
25 In the 126 animals examined, 18 (14.6%) were seropositive, with prevalence of reactions to  
26 Autumnalis serovar (11 animals; 8.73%). Four seropositive and two seronegative animals  
27 showed diferent degrees of inflammatory infiltrate and necrosis in liver or kidney. The ovaries  
28 and uterus no showed lesions. Direct analysis of leptospires by Warthin-Starry technique no  
29 revealed positive animals in any sample tested. In the face of seropositivity found (14.6%),  
30 suggest the importance of awareness by producers about the implementation of preventive

<sup>1</sup>Recebido em ...

Aceito para publicação em ...

<sup>2</sup>Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR),  
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB,  
58700-970, Brasil. \*Autor para correspondência: [sergio.azevedo@pq.cnpq.br](mailto:sergio.azevedo@pq.cnpq.br).

<sup>3</sup>Instituto Biológico, Avenida Conselheiro Rodrigues Alves, 1.252 - CEP 04014-002, São Paulo - SP –  
Brasil

1 measures aimed at preventing, or at least reduce the spread of leptospiras in pigs and  
2 therefore, block the possible transmission of the agent to humans.

3  
4 INDEX TERMS: leptospirosis, swine, histopathology, lesions, zoonosis.

5  
6 **RESUMO.-** A leptospirose é mundialmente reconhecida por seu caráter zoonótico e por  
7 representar uma importante moléstia reprodutiva em animais de produção. Os exames  
8 sorológicos e histopatológicos são constantemente utilizados como ferramenta para o  
9 diagnóstico da infecção. Este trabalho foi realizado em suínos abatidos no município de Patos,  
10 Estado da Paraíba, Brasil com o objetivo de determinar a frequência de anticorpos anti-  
11 *Leptospira* spp, comparando os achados sorológicos com exames histopatológicos de rim,  
12 fígado, ovário e útero. A soroaaglutinação microscópica foi realizada em 126 animais. Os  
13 exames histopatológicos realizados em cortes de fígado, rim, ovário e útero, corados pela  
14 hematoxilina-eosina (H.E.) foram realizados em 20 animais escolhidos aleatoriamente, sendo  
15 10 do grupo com títulos  $\geq 100$  e 10 do grupo com títulos  $< 100$ ). Paralelamente foi realizada  
16 pesquisa direta de leptospiras pela técnica de Warthin-Starry em amostras de rim de todos os  
17 animais soropositivos e nos 10 animais soronegativos submetidos à H.E. Dos 126 animais  
18 examinados, 18 (14,6%) foram soropositivos, com predominância de reações para o sorovar  
19 Autumnalis (11 animais; 8,73%). Quatro animais soropositivos e dois animais soronegativos  
20 apresentaram infiltrado inflamatório e necrose de graus variados em um dos rins e no fígado.  
21 Os ovários e úteros examinados não apresentaram lesões. A pesquisa direta de leptospiras  
22 pela técnica de Warthin-Starry não revelou animais positivos em nenhuma amostra testada.  
23 Em face da soropositividade encontrada (14,6%), sugere-se a importância da conscientização  
24 por parte dos produtores acerca da implantação de medidas de prevenção adequadas com o  
25 objetivo de impedir, ou pelo menos diminuir, a disseminação da leptospiras em suínos e,  
26 consequentemente, bloquear a possível transmissão do agente para os seres humanos.

27  
28 TERMOS DE INDEXAÇÃO: leptospirose, suíno, histopatologia, lesões, zoonose.

## 30 INTRODUÇÃO

31  
32 A leptospirose é uma das mais importantes zoonoses de ocorrência mundial, de curso agudo  
33 ou crônico, que acomete os animais domésticos, silvestres e o homem. Desta maneira assume  
34 considerável importância como problema econômico e de saúde pública (Faine et al. 1999,

1 Mailloux 2001). A infecção é causada por diferentes sorovares de espiroquetas  
2 morfologicamente e fisiologicamente semelhantes, porém antigênica e epidemiologicamente  
3 distintas, onde todas pertencem ao gênero *Leptospira* spp, e são encontradas em quase todos  
4 os países (Blaha 1995, Lefebvre 2004).

5 Os suínos são susceptíveis a vários sorovares, sendo considerados hospedeiros  
6 mantenedores dos sorovares Pomona, Bratislava e Tarassovi, e hospedeiros acidentais dos  
7 sorovares Icterohaemorrhagiae, Canicola, Autumnalis, Hardjo e Gryppotyphosa (Faine 1982,  
8 Ellis 1992, Ellis 2006). Quando os suínos comportam-se como hospedeiros de manutenção, há  
9 uma adaptação hospedeiro-parasita onde as leptospiros são mantidas no trato urinário por  
10 longos períodos, sendo eliminadas pela urina em condições de viabilidade para infectar outros  
11 animais (Oliveira 1999). Os sorovares Pomona, Icterohaemorrhagiae, Tarassovi, Canicola,  
12 Gryppotyphosa e Bratislava são os mais frequentemente encontrados infectando e causando a  
13 doença nos suínos. Dentre esses, os quatro primeiros já foram isolados de suínos no Brasil  
14 (Sobestiansky et al. 1999). Em suínos a infecção é uma importante causa de perdas  
15 econômicas por distúrbios reprodutivos em todas as partes do mundo, principalmente para o  
16 sistema de criação industrial praticado em países do hemisfério norte, Austrália, Nova  
17 Zelândia, Argentina e Brasil. Por vezes o agente está associado com a forma clínica da  
18 doença, no entanto, evidências sorológicas ratificam um estado subclínico após exposição à  
19 infecção (Ellis 2006, Jackson & Cockcroft 2007).

20 Levantamentos sorológicos realizados por Larsson et al. (1984) em 500 suínos  
21 abatidos no estado de São Paulo, Paraná e Santa Catarina evidenciaram 8,40% de animais  
22 soropositivos. No Rio Grande do Sul, o sorovar Pomona já foi isolado de fetos abortados e de  
23 portadores sadios abatidos em frigorífico (Oliveira 1988). Faria et al. (1989) revelaram  
24 frequência de 7,70% de animais soropositivos em 610 matrizes provenientes de 63 granjas  
25 tecnificadas das microrregiões de Viçosa e Ponte Nova, no estado de Minas Gerais.  
26 Shimabukuro et al. (2003) consideraram uma maior importância epidemiológica no Brasil  
27 para os sorovares Icterohaemorrhagiae, Autumnalis, Djasiman e Hebdomadis. No Estado de  
28 São Paulo, Azevedo et al. (2006) em uma granja de suínos com 164 fêmeas, encontraram  
29 16,5% soropositivas para pelo menos um sorovar de uma coleção de 24 testados, e os mais  
30 frequentes foram Hardjo (Hardjobovis), com 54,2% dos animais sororreagentes. Outros  
31 sorovares reagentes e suas respectivas frequências foram Shermani (16,6%), Bratislava  
32 (12,5%), Autumnalis (12,5%) e Icterohaemorrhagiae (4,2%).

33 Este trabalho teve como objetivos determinar a frequência de anticorpos anti-  
34 *Leptospira* spp em suínos abatidos no município de Patos, Estado da Paraíba, Brasil e realizar

1 exames histopatológicos, com o propósito de avaliar a ocorrência de lesões renais, hepáticas,  
2 uterinas e ovarianas associadas à infecção bem como identificar o agente através da técnica de  
3 pesquisa direta Warthin-Starry.

## 4 5 MATERIAL E MÉTODOS

6  
7 **Animais e diagnóstico sorológico da infecção por *Leptospira* spp.** Foram utilizados 126  
8 suínos de ambos os sexos, adultos, abatidos no matadouro público de Patos, PB, nos meses de  
9 Setembro a Novembro de 2009. Amostras de sangue foram colhidas durante a fase de sangria  
10 em tubos de 10 ml, sem anticoagulante, para a realização da sorologia. O sangue foi  
11 centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos para a obtenção do soro que foi acondicionado em  
12 microtubos de 1,5 ml e armazenado a -20°C até o processamento. O diagnóstico da infecção  
13 por *Leptospira* spp foi realizado no Laboratório de Doenças Transmissíveis (LDT) da  
14 Universidade Federal de Campina Grande, através da técnica da soroaglutinação microscópica  
15 (SAM), de acordo com a metodologia descrita por Myers (1985). Foram utilizados como  
16 antígenos 24 sorovares de *Leptospira* spp, sendo 22 patogênicos e dois saprófitas, mantidos  
17 em meio de cultura artificial pelo LDT. Os sorovares de *Leptospira* spp utilizados foram:  
18 *Leptospira interrogans* sorovares Australis, Bratislava, Autumnalis, Bataviae, Canicola,  
19 Sentot, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Pomona, Pyrogenes, Wolffi e Hardjo  
20 (Hardjoprajtno); *L. borgpetersenii* sorovares Castellonis, Whitcombi, Tarassovi, Javanica e  
21 Hardjo (Hardjobovis); *L. kirshneri* sorovares Butembo e Cynopteri; *L. inadai* sorovar  
22 Icterohaemorrhagiae; *L. noguchii* sorovar Panama; *L. santarosai* sorovar Shermani; e *L.*  
23 *biflexa* sorovares Andamana e Patoc. A leitura da reação foi realizada em microscópio óptico  
24 (Jena Zeiss) com condensador de campo escuro (MCE), com objetiva (Epiplan) 20x/0,2 e  
25 ocular de 10 no aumento de 200 vezes, sendo avaliado o grau de aglutinação. Inicialmente os  
26 soros foram diluídos em 1:100 e aqueles que apresentaram 50% ou mais de aglutinação foram  
27 considerados positivos. Posteriormente, os soros positivos foram diluídos geometricamente na  
28 razão dois para determinação do título, onde considerou-se como título final a recíproca da  
29 maior diluição que apresentou pelo menos 50% de leptospiros aglutinadas. Para animais que  
30 apresentaram reações para dois ou mais sorovares, considerou-se o sorovar com maior título.

31  
32 **Análises histopatológicas.** Durante a evisceração, foram colhidos fragmentos de rim e fígado  
33 de todos os animais, e das fêmeas foram coletados também fragmentos de útero e ovário. Os  
34 fragmentos foram fixados em formol neutro a 10% (formol tamponado) e identificados com

1 código correspondente à amostra sanguínea de cada animal para posterior cruzamento com os  
2 resultados da sorologia. A verificação da ocorrência de lesões foi realizada por amostragem.  
3 Foram formados dois grupos, sendo ambos constituídos por 10 animais. Um grupo foi  
4 formado por 10 animais soropositivos e o outro por 10 animais soronegativos, sorteados  
5 aleatoriamente. Após a fixação, as amostras dos dois grupos foram processadas rotineiramente  
6 no Laboratório Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de  
7 Campina Grande, onde foram clivadas em aproximadamente 0,5cm de espessura e incluídas  
8 em parafina. Cortes de aproximadamente 5µm foram obtidos em micrótomo vertical e  
9 corados pela hematoxilina-eosina (H.E.). Após o processamento foi realizada a leitura das  
10 lâminas. Amostras de rim de todos os animais positivos na sorologia e amostras de rim do  
11 grupo de animais soronegativos, submetidos à HE, foram enviadas fixadas em formol neutro a  
12 10% e também emblocadas em parafina para o Instituto Biológico de São Paulo, onde foram  
13 submetidas à técnica de Warthin-Starry para pesquisa direta de detecção do agente. As  
14 técnicas HE e Warthin-Starry foram realizadas segundo os métodos descritos por Tolosa et al.  
15 (2003) e Young (1969) respectivamente.

16

17 **Análise estatística.** Para a comparação da proporção de sorovares reagentes foi utilizado o  
18 teste do qui-quadrado de aderência. Para a comparação da frequência de anticorpos anti-  
19 leptospira com os resultados dos exames histopatológicos, foi utilizado o teste do qui-  
20 quadrado de acordo com Siegel & Castellan Jr. (2006). O nível de significância adotado foi de  
21 5% e as análises foram efetuadas com o programa SPSS *for Windows* versão 13.0.

22

23

## RESULTADOS

24

25 Das 126 amostras submetidas à SAM, 18 reagiram para um ou mais sorovares empregados na  
26 diluição 1:100, resultando em uma soropositividade de 14,6%. O sorovar mais frequente foi o  
27 Autumnalis, com 11 (8,73%) soros reagentes ( $p = 0,030$ ). Também foram constatadas reações  
28 sorológicas para os sorovares Copenhageni com dois soros reagentes (1,58%), Sentot,  
29 Butembo, Pomona, Tarassovi e Cynopteri com um soro reagente para cada sorovar,  
30 representando 0,79%. A reação que apresentou o maior título (800) ocorreu para o sorovar  
31 Autumnalis (Quadro 1).

32

33

34

Os exames histopatológicos revelaram lesões nos grupos positivo e negativo frente à sorologia. No grupo positivo, entre as 10 amostras examinadas três revelaram lesões renais e uma apresentou lesão hepática, totalizando quatro amostras com lesões. No grupo negativo,

1 duas amostras apresentaram apenas lesões em um dos rins. Não foram observadas diferenças  
2 significativas entre os grupos soropositivo e soronegativo com relação à proporção de lesões  
3 histológicas ( $p = 329$ ) (Quadro 2). No rim a principal alteração histológica observada foi a  
4 nefrite intersticial que se caracterizou por: atrofia glomerular, discreto espessamento da  
5 cápsula de Bowman com presença de material proteináceo eosinofílico granular, infiltrado  
6 inflamatório mononuclear - com presença de macrófagos, linfócitos e raros plasmócitos -  
7 discreto a moderado, com necrose do epitélio tubular (Figura 1). No fígado as alterações  
8 foram discretas. Observou-se infiltrado inflamatório mononuclear com presença de  
9 macrófagos, linfócitos e plasmócitos, com necrose hepática lobular focalmente localizada.  
10 Nenhum animal apresentou lesão em mais de um órgão. Todas as amostras submetidas à  
11 técnica Warthin-Starry foram negativas.

## 12 13 **DISCUSSÃO E CONCLUSÕES**

14  
15 Os resultados da sorologia indicaram que o sorovar mais provável em suínos abatidos no  
16 município de Patos, PB, foi o Autumnalis. Estes resultados estão de acordo com aqueles  
17 referidos por Boquist, Hothi & Magnusson (2005) que também encontraram em suínos de  
18 granjas tecnificadas maior frequência de anticorpos reagentes para este sorovar do que para os  
19 sorovares Pomona, Bratislava, Icterohaemorrhagiae e Tarassovi, frequentemente associados  
20 com a infecção em suínos (Michina & Campbell 1969, Santa Rosa et al. 1969/1970, Van Til  
21 & Dohoo 1991, Oliveira et al. 1995, Lima 1996, Delbem et al. 2002). Os resultados  
22 sorológicos também estão de acordo com os obtidos por Favero et al. (2002) que  
23 identificaram o sorovar Autumnalis como de maior ocorrência em suínos com suspeita clínica  
24 de leptospirose no Estado do Ceará. Em contrapartida, os resultados sorológicos contrastam  
25 com os obtidos por Azevedo et al. (2008a) que ao realizarem inquérito sorológico em suínos  
26 de abate no município de Patos, PB, encontraram uma soroprevalência de 33,6%, onde o  
27 sorovar Pomona foi o mais frequente com 29,0% de reações. Essas dissimilaridades podem  
28 ser explicadas pelo fato da frequência de apresentação dos diversos sorovares de *Leptospira* spp  
29 ser dependente da amplitude de deslocamento dos respectivos hospedeiros preferenciais, bem  
30 como da intensidade e extensão da produção animal (Blaha 1995). Dessa forma pode ocorrer  
31 uma substituição do sorovar Pomona, tradicionalmente mantido pelos próprios suínos, por outros  
32 sorovares, neste caso o Autumnalis, apesar do sorovar Icterohaemorrhagiae ser mais  
33 frequentemente referido como sendo o principal na mudança do perfil epidemiológico da  
34 leptospirose suína (Santa Rosa et al. 1969/1970, Carvalho, Carvalho & Girio 1990, Favero et al.

1 2002, Ramos & Lilenbaum 2002,). Sendo o sorovar Autumnalis não adaptado aos suínos,  
2 portanto oriundo de infecção acidental (Ellis 1992), os resultados sorológicos sugerem uma  
3 maior participação de reservatórios animais de outras espécies, domésticas e/ou sinantrópicas,  
4 na cadeia epidemiológica da leptospirose suína na região.

5 Estudos conduzidos em outras espécies animais abatidas no matadouro público da  
6 cidade de Patos também revelaram predominância de reações sorológicas para o sorovar  
7 Autumnalis. Azevedo (comunicação pessoal) relatou que em 100 ovelhas abatidas no mesmo  
8 estabelecimento, ocorreram 9% de soropositividade para a infecção com 44,4% de frequência  
9 para a sorovariedade Autumnalis. Higino (2010) realizou a sorologia de 80 ovinos abatidos e  
10 obteve 7,5% de positividade, com 83,3% de frequência para a sorovariedade Autumnalis.

11 A presença da sorovariedade Autumnalis causa preocupação, pois não existe  
12 imunidade cruzada entre as diferentes sorovariedades. As vacinas polivalentes disponíveis no  
13 mercado são compostas basicamente pelas sorovariedades Icterohaemorrhagiae, Canicola,  
14 Hardjo, Grippothyphosa, Pomona, Bratislava e Tarassovi, o que reforça ainda mais a  
15 importância da pesquisa continuada no desenvolvimento de novas vacinas anti-leptospirose  
16 mais efetivas e de imunidade mais duradoura, bem como a necessidade da inclusão de novas  
17 sorovariedades.

18 As lesões renais e hepáticas ocorridas em quatro das 10 amostras com títulos de  
19 anticorpos  $\geq 100$  estudadas são sugestivas, porém não patognomônicas, da infecção por  
20 *Leptospira* spp (Baskerville 1984, Hanson & Tripathy 1986, Baker, Mcewen & Prescott 1989,  
21 Delbem et al. 2002). As lesões renais observadas no grupo com títulos de anticorpos  $< 100$   
22 foram similares àquelas observadas no grupo com títulos de anticorpos  $\geq 100$ . Estes  
23 resultados contrastam com os obtidos por Hashimoto et al. (2008) que em suínos abatidos no  
24 Paraná, verificaram que animais com lesões de nefrite intersticial apresentaram associação  
25 com a soropositividade na SAM, e que todos os animais que não apresentaram lesões de  
26 nefrite intersticial foram soronegativos. Como não foi constatada positividade na pesquisa  
27 direta de detecção do agente, não se pode confirmar que as lesões observadas em ambos os  
28 grupos são decorrentes da infecção por *Leptospira* spp, no entanto, podem ser um indicativo.  
29 Dessa forma, o animal pode estar infectado, porém não apresentar título de anticorpos  
30 suficientes para caracterizar uma reação de sorológica positiva. Isso pode ocorrer pelo fato  
31 das leptospiras serem antígenos com baixa antigenicidade (Arduino et al. 2004). Ellis et al.  
32 (1986) e Delbem et al. (2002) sugeriram que suínos infectados por leptospiras podem  
33 apresentar-se negativos na SAM quando considerado os títulos de anticorpos  $\geq 100$ . Freitas  
34 (2006) relatou o isolamento de uma estirpe de leptospira a partir de uma fêmea suína

1 considerada negativa na SAM na diluição 1:100. Outra hipótese sobre a ocorrência das lesões  
2 reflete na possibilidade de terem sido causadas por outros microrganismos além da *Leptospira*  
3 spp, como foi demonstrado por Drolet et al. (2002) e por Martínez et al. (2005).

4 A ausência de lesões no útero e ovário das fêmeas examinadas pode ter ocorrido  
5 devido à ausência de atividade reprodutiva ou infecção recente, sem a colonização dos órgãos.  
6 Entretanto, Delbem et al. (2002) examinaram 36 fêmeas suínas de descarte, abatidas no  
7 Paraná e também não observaram lesões uterinas e ovarianas sugestivas de leptospirose. Por  
8 outro lado Giro et al. (1998) observaram 32,9% e 50,1% de lesões renais e reprodutivas,  
9 respectivamente, em fêmeas positivas frente ao sorovar Icterohaemorrhagiae. Azevedo et al.  
10 (2008b) concluíram que a infecção por *Leptospira* spp, por soropositividade, teve impacto  
11 negativo no desempenho reprodutivo de fêmeas suínas, com decréscimo no número de  
12 nascidos e nascidos vivos, baixo peso ao nascimento, aumento no nascimento de leitões  
13 debilitados e mortos, dentre outros.

14 Os resultados obtidos através da técnica de Warthin-Starry reforçam a teoria de que  
15 este teste possui baixa sensibilidade, relacionada com a fase crônica da doença, dificuldade  
16 em definir morfológicamente o agente e interferência dos reagentes empregados e assim, sua  
17 aplicabilidade limita-se a casos onde há sintomas clínicos da infecção (Alves 1987, Scanziani,  
18 Sironi & Mandeli 1989, Radostits et al. 2000, Pescador et al. 2004, Hines 2007).

19 No presente trabalho, foi constatada soropositividade de 14,6% para *Leptospira* spp  
20 em suínos abatidos no município de Patos, Paraíba, tendo como principal sorovar reagente o  
21 Autumnalis, o que levanta preocupações do ponto de vista de saúde pública, uma vez que  
22 profissionais envolvidos no manejo e abate desses animais estão expostos ao risco  
23 ocupacional de infecção. Foram identificadas lesões características de nefrite intersticial e  
24 necrose hepática focal em animais positivos e negativos na SAM. Não houve diferença nas  
25 frequências de soropositividade em animais com e sem lesões de nefrite intersticial,  
26 confirmando que nos animais examinados a ocorrência dessas lesões não está atrelada aos  
27 resultados sorológicos.

28 Com base nos resultados, torna-se importante a conscientização por parte dos  
29 produtores acerca da implantação de medidas de prevenção adequadas com o objetivo de  
30 impedir, ou pelo menos diminuir, a disseminação da leptospirose em suínos e,  
31 consequentemente, bloquear a possível transmissão do agente para os seres humanos. É  
32 importante também a conscientização das autoridades sanitárias para a melhoria e manutenção  
33 de condições básicas de higiene e segurança durante o abate, bem como para a prática

1 constante de medidas de educação em saúde, com vistas a impedir a possível transmissão do  
2 agente para os trabalhadores diretamente envolvidos no abate de suínos.

### 3 4 REFERÊNCIAS

5  
6 Alves V.A.F., Vianna M.R., Yasuda, P.H. & De Brito T. 1987. Detection of leptospiral  
7 antigen in the human liver and kidney using an immunoperoxidase staining procedure.  
8 The Journal of Pathology 159:123-131.

9  
10 Arduino G.G.C., Girio R.J.S. & Freire M.M. 2004. Anticorpos contra *Leptospira* spp em  
11 bovinos leiteiros vacinados com bacterina polivalente comercial: perfil sorológico  
12 frente a dois esquemas de vacinação. Ciência Rural 34(3):865-871.

13  
14 Azevedo S.S., Soto F.R.M., Morais Z.M., Pinheiro S.R., Vuaden E.R., Batista C.S.A., Souza  
15 G.O., Delbem A.C.B., Gonçales A.P. & Vasconcellos S.A. 2006. Frequency of anti  
16 leptospire agglutinins in sows from a swine herd in the Ibiúna Municipality, State of  
17 São Paulo, Brazil. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo 73:97-100.

18  
19 Azevedo S. S., Oliveira R.M., Alves C.J., Assis D.M., Aquino S.F., Farias A.E.M., Assis  
20 D.M., Lucena T.C.C., Batista C.S.A., Castro V. & Genovez M.E. 2008a. Prevalence of  
21 anti-*Leptospira* spp. antibodies in swine slaughtered in the public slaughterhouse of  
22 Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. Arquivos do Instituto Biológico,  
23 São Paulo. 75:517-520.

24  
25 Azevedo S.S., Soto F.R.M., Morais Z.M., Pinheiro S.R., Batista C.S.A., Vuaden E. &  
26 Vasconcellos S.A. 2008b. The effects of the leptospiral infection on reproductive  
27 performance in sows. Veterinarski Arhiv 78(1):13-21.

28  
29 Baker T.F., McEwen S.A. & Prescott J.F. 1989. The prevalence of leptospirosis and its  
30 association with multifocal interstitial nephritis in swine at slaughter. Canadian  
31 Journal Veterinary Research 53:290-294.

32  
33 Baskerville A. 1984. Histopathological aspects of diagnosis of leptospirosis, p.33-43. In: Ellis  
34 W.A. & Little T.W.A. (Eds.), The Present State of Leptospirosis Diagnosis and

- 1 Control. 1<sup>th</sup>ed. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. 260p.
- 2
- 3 Blaha T. 1995. Epidemiología especial veterinaria. Acribia, Zaragoza. 529p.
- 4
- 5 Boquist S., Hothi U.T. & Magnusson A.A. 2005. Annual variations in leptospira  
6 seroprevalence among sows in southern vietnam. Tropical Animal Health Production  
7 6:443-449.
- 8
- 9 Carvalho L.F.O.S., Carvalho M.B. & Giro R.J.S. 1990. Investigação sorológica de fêmeas  
10 suínas descartadas para abate por transtornos diversos. Ciência Veterinária 4:6-8.
- 11
- 12 Delbem A.C.B., Bracarense A.P.F.R.L., Müller E.E. & Oliveira R.C. 2002. Leptospirosis in  
13 slaughtered sows: serological and histopathological investigation. Brazilian Journal of  
14 Microbiology, São Paulo 33:174-177.
- 15
- 16 Drolet R., Ribotta M., Higgins R., D'allaire R., Laroche S. & Magar R. 2002. Infectious  
17 agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. The  
18 Veterinary Record, London 150:139-143.
- 19
- 20 Ellis W.A., Mcparland P.J., Bryson D.G., Thiermann A.B. & Montgomery J. 1986. Isolation  
21 of leptospire from the genital tract and kidneys of aborted sows. Veterinary Research  
22 118:294-295.
- 23
- 24 Ellis W.A. 1992. Leptospirosis in pig. The Pig Veterinary Journal 28:24-34.
- 25
- 26 Ellis W.A. 2006. Leptospirosis, p.691-700. In : Straw B.E., D'allaire S., Mengeling W.L.,  
27 Taylor D.J. & Leman A.D. (Eds.), Diseases of swine. 9<sup>th</sup>ed. Blackwell Publishing,  
28 Iowa. 1153p.
- 29
- 30 Faine S. 1982. Guidelines for the control of leptospirosis. World Health Organization (who  
31 offset publication 67), Geneva.
- 32
- 33 Faine S., Adler B., Bolin C. & Perolat P. 1999. Leptospira and leptospirosis. 2<sup>th</sup>ed. Medisci,  
34 Melbourne. 272p.

- 1  
2 Faria E.J., Ribeiro M.F.B., Santos J.L., Dale R. & Salcedo J.H.P. 1989. Frequência de  
3 aglutininas anti-leptospiras em soros sanguíneos de suínos das microrregiões de  
4 Viçosa e Ponte Nova, MG. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia  
5 41:381-388.  
6
- 7 Favero A.C.M., Pinheiro S.R., Vasconcellos S.A., Morais Z.M., Ferreira F. & Ferreira Neto  
8 J.S. 2002. Sorovares de leptospiras predominantes em exames sorológicos de  
9 bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros.  
10 Ciência Rural 32:613-619.  
11
- 12 Freitas J.C. 2006. Comunicação pessoal (Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR)  
13 (Apud Hashimoto, 2008).  
14
- 15 Girio R.J.S., Dias H.L.T., Mathias L.A., Santana A.E. & Alessi A.C. 1998. Alterações  
16 reprodutivas, hematológicas e anatomopatológicas em fêmeas suínas com títulos de  
17 anticorpos contra *Leptospira interrogans* sorotipo icterohaemorrhagiae. Revista  
18 Brasileira de Ciência Veterinária 5(3): 99-103.  
19
- 20 Hanson L.E., Tripathy D.N. 1986. Leptospirosis, p.591-599. In: Leman A.D., Straw B., Glock  
21 D., Mengeling W.L., Penny R.H.C., Scholl E. (Eds), Diseases of Swine. 6<sup>th</sup>ed. Iowa  
22 State University Press, Ames. 930p.  
23
- 24 Hashimoto V.Y., Anzai E.K., Lima B.A.C., Silva F.G., Alves L.A., Freire R.L., Teles O.S.,  
25 Garcia J.L., Muller E.E. & Freitas J.C. 2008. Associação entre as lesões renais  
26 microscópicas e a presença de anticorpos contra *Leptospira* spp em suínos  
27 aparentemente saudáveis, abatidos em frigorífico da região norte do estado do Paraná.  
28 Semina: Ciências Agrárias 29:875-880.  
29
- 30 Higinio S.S.S., Azevedo S.S., Alves C.J., Figueiredo S.M., Silva M.L.C.R. & Batista C.S.A.  
31 2010. Frequência de leptospirose em ovinos abatidos no município de Patos, Paraíba.  
32 Arq. Inst. Biol., São Paulo 77(3):525-527.  
33

- 1 Hines M.T. 2007. Leptospirosis, p.301-309. In: Sellon D.C. & Long M.T. (Eds.), Equine  
2 Infectious Diseases. 1<sup>th</sup>ed. Saunders Elsevier, Saint Louis. 653p.  
3
- 4 Jackson P.G.G. & Cockcroft P. D. 2007. Handbook of Pig Medicine. 1<sup>th</sup>ed. Saunders Elsevier,  
5 Edinburgh. p.193-196.  
6
- 7 Larsson C.E., Yasuda P.H., Santa Rosa C.A. & Costa E.O. 1984. Leptospirose suína:  
8 inquérito sorológico e bacteriológico em municípios dos estados de São Paulo, do  
9 Paraná e de Santa Catarina. Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
10 da Universidade de São Paulo 21:43-50.  
11
- 12 Lefebvre R.B. 2004. Spiral-Curved Organism V: Leptospira, p.148-153. In: Hirsh D.C.,  
13 Maclachlan N.J. & Walker R.L. (Eds.), Veterinary Microbiology. 2<sup>th</sup>ed. Wiley-  
14 Blackwell, Ames. 536p.  
15
- 16 Lima P.C.R. 1996. Diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: exames  
17 laboratoriais em fêmeas suínas descartadas em frigoríficos e em reprodutores de  
18 granjas com e sem problemas de reprodução, durante o período de um ano. Arquivos  
19 da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul 24:119-  
20 121.  
21
- 22 Mailloux M. 2001. Leptospiroses = zoonoses. International Journal of Zoonosis 78:1158-  
23 1159.  
24
- 25 Martínez J., Segalés J., Adurez G., Atxaerandio R., Jaro P., Ortega J., Peres B. & Corpa J.M.  
26 2005. Pathological and aetiological studies of multifocal interstitial nephritis in wasted  
27 pigs at slaughter. Research in Veterinary Science, London 81:92-98.  
28
- 29 Michna S.W. & Campbell R.S.F. 1969. Leptospirosis in pigs: epidemiology, microbiology  
30 and pathology. The Veterinary Record 84:135-138.  
31
- 32 Myers D. 1985. Leptospirosis: manual de métodos para el diagnostico de laboratorio. Centro  
33 Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS (nota técnica 30), Bueno Aires.  
34

- 1 Oliveira S.J. 1988. Leptospirose em suínos. A Hora Veterinária 7:5-8.  
2
- 3 Oliveira S.J., Lima P.C.R., Barcellos D.E.S.N. & Borowski S.M. 1995. Sorologia para  
4 diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: resultados obtidos de  
5 granjas com e sem problemas de reprodução. Pesquisa Agropecuária Gaúcha 1:263-  
6 267.  
7
- 8 Oliveira S.J. 1999. Nova ameaça à reprodução em suínos, além da leptospirose? A Hora  
9 Veterinária 19:87-90.  
10
- 11 Pescador C.A., Corbellini L.G., Loretto A.P., Júnior E.W., Frantz F.J. & Driemeier D. 2004.  
12 Aborto eqüino por *Leptospira* sp. Ciência Rural, Santa Maria 34:271-274.  
13
- 14 Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C. & Hinchcliff K.W. 2002. Veterinary Medicine: a  
15 textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9<sup>th</sup>ed. W.B. Saunders,  
16 Philadelphia. p.971-985.  
17
- 18 Ramos A.C.F. & Lilenbaum W. 2002. Fatores que influenciam na ocorrência de aglutininas  
19 anti-leptospira em suínos de criação tecnificada do estado do rio de janeiro. Revista  
20 Brasileira de Medicina Veterinária 24:20-29.  
21
- 22 Santa Rosa C.A., Castro A.F.P., Silva A.S. & Teruya J.M. 1969/1970. Nove anos de  
23 leptospirose no instituto biológico de São Paulo. Revista do Instituto Adolfo Lutz  
24 29/30:19-27.  
25
- 26 Scanziani E., Sironi G. & Mandeli G. 1989. Immunoperoxidase studies on leptospiral  
27 nephritis of swine. Veterinary Pathology 26:442-444.  
28
- 29 Shimabukuro F.H., Domingues P.F., Langoni H., Silva A.V., Pinheiro J.P. & Padovani C.R.  
30 2003. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospiras pelo isolamento microbiano  
31 e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente  
32 positivos e negativos para leptospirose. Brazilian Journal of Veterinary Research and  
33 Animal Science 40:243-253.  
34

- 1 Siegel S. & Castellan Jr. N. J. 2006. Estatística não-paramétrica para as ciências do  
2 comportamento. 2.ed. Artmed, Porto Alegre. 448p.  
3
- 4 Sobestiansky J., Barcellos D., Mores N., Carvalho L.F. & Oliveira S. 1999. Clínica e  
5 Patologia Suína. 2.ed. Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 464p.  
6
- 7 Tolosa E.M.C., Rodrigues C.J., Behmer O.A. & Neto A.G.F. 2003. Manual de Técnicas para  
8 Histologia Normal e Patológica. Manole, Barueri. 331p.  
9
- 10 Van til L.D. & Dohoo I.R. 1991. A serological survey of leptospirosis in prince edward island  
11 swine herds and its association with infertility. Canadian Journal Veterinary Research  
12 4:352-355.  
13
- 14 Young B.J. 1969. A reliable method for demonstrating spirochaetes in tissue sections. The  
15 Journal of Medical Laboratory Technology 26:248-252.  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34

**Quadro 1. Distribuição de títulos de anticorpos anti-leptospiras em suínos soropositivos abatidos no matadouro público de Patos, Paraíba, segundo os sorovares infectantes, no período de setembro a novembro de 2009\***

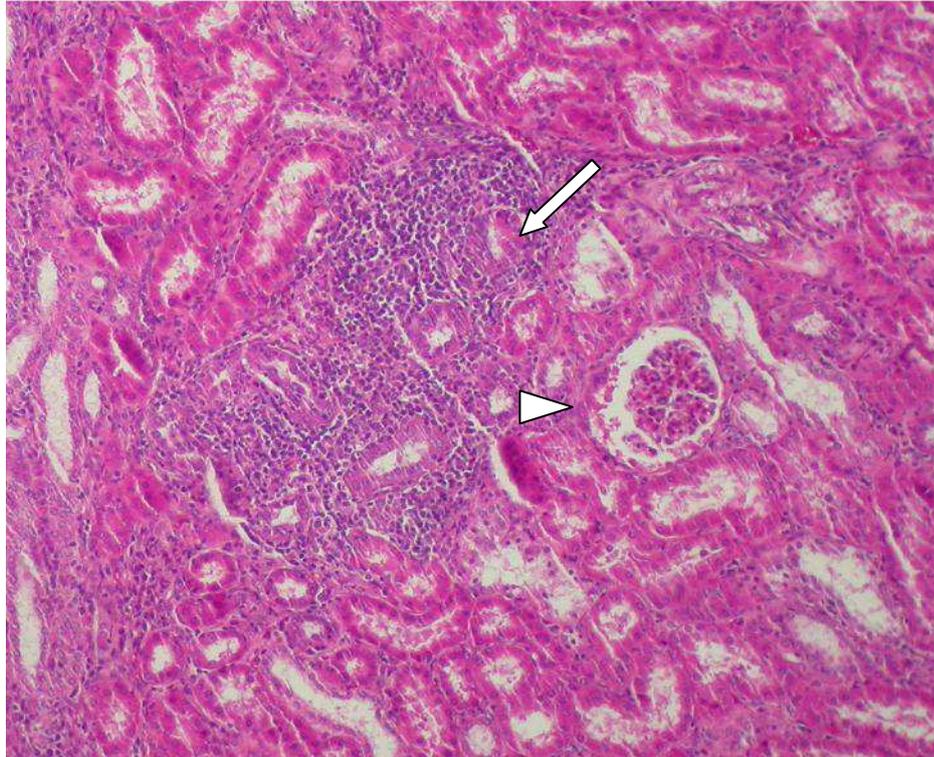
Sorovar	Título				Total (%)
	100	200	400	800	
<b>Autumnalis</b>	1	6	3	1	11 (8,73)
<b>Copenhageni</b>		1	1		2 (1,58)
<b>Sentot</b>	1				1 (0,79)
<b>Butembo</b>	1				1 (0,79)
<b>Pomona</b>		1			1 (0,79)
<b>Tarassovi</b>		1			1 (0,79)
<b>Cynopteri</b>			1		1 (0,79)
<b>Total</b>	3	9	5	1	18 (14,6)

(p = 0,030) \* Para os animais que apresentaram reação sorológica a mais de um sorovar foi escolhido como possível infectante o sorovar de maior título, portanto as outras reações no mesmo animal foram consideradas reações cruzadas.

**Quadro 2. Condição sorológica em suínos abatidos no matadouro público de Patos, Paraíba, com e sem lesões histológicas sugestivas de leptospirose, no período de setembro a novembro de 2009**

Lesões histológicas	Condição sorológica				Total (%)
	Soropositivo		Soronegativo		
	N	%	N	%	
<b>Presentes</b>	4	40,0	2	20,0	6 (30)
<b>Ausentes</b>	6	60,0	8	80,0	14 (70)
<b>Total (%)</b>	10	50,0	10	50,0	100,0

(p = 329)



**Fig. 1.** Corte histológico de parênquima renal mostrando atrofia glomerular, espessamento discreto da cápsula de Bowman (cabeça de seta) e infiltrado inflamatório mononuclear com necrose do epitélio tubular (seta) característico da nefrite intersticial. (H.E. Obj. 10X).

## 1 PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

2  
3 A revista bilíngüe é de periodicidade mensal, publicando resultados de pesquisa sobre  
4 Doenças de Animais de Produção/Livestock Diseases, Pequenos Animais/Small Animal  
5 Diseases, Morfofisiologia/Animal Morphophysiology e Animais Selvagens/Wildlife  
6 Medicine.

7 Está indexada nas seguintes bases de dados: SciELO, Scientific Electronic Library Online;  
8 ISI/Thomson Reuters, em seus produtos Science Citation Index Expanded e BIOSIS  
9 Previews; CABI, nas bases-chaves CAB Abstracts e Global Health e em várias bases  
10 derivadas, como: Animal Science Database e VetMedResources (para internet), Index  
11 Veterinarius e Veterinary Science Database (bases de resumos) e Veterinary Bulletin  
12 (impresso), DOAJ, Directory of Open Access Journals  
13 (<http://www.doaj.org/doaj?func=byTitle&p=1&hybrid=&query=P>).

14 É classificada como "nível A internacional" pela CAPES e possui um dos melhores fatores de  
15 impacto entre as revistas da área de medicina veterinária no país.

## 17 INSTRUÇÕES AOS AUTORES

18  
19 **Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail**  
20 **<jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do**  
21 **Word. Havendo necessidade (por causa de figuras “pesadas”), podem ser enviados em**  
22 **CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA**  
23 **VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000.**

24 Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para  
25 publicação em outra revista.

26 **Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos**  
27 **conforme as normas de apresentação da revista ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)) e o modelo em Word**  
28 **(PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão**  
29 **devolvidos aos autores para a devida adequação.**

30 Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de “Notas  
31 Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve,  
32 porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no

1 estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os  
2 da área de Animais Selvagens.

3 Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos,  
4 o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de  
5 sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são  
6 aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

7 **NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e**  
8 **distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R\$**  
9 **120,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor**  
10 **para correspondência.**

11 **1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT,**  
12 **RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS,**  
13 **DISCUSSÃO, CONCLUSÕES** (ou combinação destes dois últimos), **Agradecimentos e**  
14 **REFERÊNCIAS:**

15 a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de  
16 identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

17 b) O(s) **Autor(es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua  
18 identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa  
19 manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

20 Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-  
21 Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de  
22 Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M.  
23 Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e  
24 inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se  
25 que os trabalhos tenham o **máximo de 8 autores;**

26 c) o **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em  
27 português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de  
28 “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente;

29 d) o **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado,  
30 indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos  
31 em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a  
32 palavra RESUMO;

33 e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma  
34 assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

- 1 f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do  
2 trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação  
3 do projeto pela Comissão de Ética local;
- 4 g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros  
5 devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de  
6 várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras),  
7 ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;
- 8 h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém  
9 mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação  
10 do autor e da revista de publicá-los;
- 11 i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;
- 12 j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;
- 13 k) a Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha  
14 servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo  
15 sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e  
16 baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o  
17 título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou  
18 obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for  
19 Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical  
20 Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados ([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br)).

21 **2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:**

- 22 a) os trabalhos devem ser submetidos **seguindo o exemplo de apresentação de fascículos**  
23 **recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores”**  
24 **([www.pvb.com.br](http://www.pvb.com.br))**. A digitalização deve ser na fonte **Helvética, corpo 11, entrelinha**  
25 **simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior,  
26 esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as  
27 legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras  
28 (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos  
29 no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois  
30 imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas,  
31 resultando, sempre, em má qualidade;
- 32 b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no  
33 passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números  
34 arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa

1 numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que  
2 estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão  
3 mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que  
4 possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em  
5 um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

6 **c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos**  
7 **os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails de outros**  
8 **autores;**

9 d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no  
10 trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

11 e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores  
12 serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et  
13 al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação  
14 será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não**  
15 **consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final**  
16 **da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”;** a referência do  
17 **trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez.** A menção de comunicação  
18 pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano,  
19 colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s)  
20 autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o**  
21 **nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano;** a separação entre trabalhos,  
22 nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exememplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester &  
23 Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

24 f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os  
25 nomes científicos em itálico (grifo), **e sempre em conformidade com o padrão adotado nos**  
26 **últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

27 **3. As Figuras** (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser**  
28 **preferencialmente enviadas por via eletrônica.** Quando as fotos forem obtidas através de  
29 câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem  
30 tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao  
31 trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse **caso**, cada Figura será identificada na  
32 margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor;  
33 havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra  
34 “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem

1 fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área  
2 da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas  
3 preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para  
4 evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope. Na  
5 versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente  
6 quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

7 **4. As legendas explicativas das Figuras** conterão informações suficientes para que estas  
8 sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas , com independência do texto) e  
9 **serão apresentadas no final do trabalho.**

10 **5. Os Quadros deverão ser** explicativos por si mesmos e **colocados no final do texto.** Cada  
11 um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro  
12 abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para  
13 grupamento de colunas. **Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos,**  
14 **recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro;** as notas serão lançadas logo abaixo  
15 do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.