

DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSE EM SUÍNOS DE CRIATÓRIOS NO MUNICÍPIOS DE BAMBUÍ

Karen Costa Ferreira ¹; Maria Emília F. F. Brum ²; Fernanda Morcatti Coura ³; Marcos Bryan Heinemann ⁴; Michelle de Paula Gabardo ⁵

1 Karen Costa Ferreira, Bolsista (IFMG), Zootecnia, IFMG Campus Bambuí, Bambuí - MG; autor@abcd.com

2 Maria Emília Fernandes Figueiredo Brum, Zootecnia, Campus Bambuí, Bambuí - MG

3 Fernanda Morcatti Coura, Medicina Veterinária, Campus Bambuí, Bambuí - MG

4 Marcos Bryan Heinemann, Medicina Veterinária, USP - São Paulo - SP

5 Michelle de Paula Gabardo, Orientadora: Pesquisadora do IFMG, Campus Bambuí; michelle.gabardo@ifmg.edu.br

RESUMO

A vigilância, o controle e a prevenção de doenças que ocorrem em granjas comerciais são de extrema importância, e possuem como intuito minimizar prejuízos econômicos e impedir a disseminação de doenças, dentre elas as zoonóticas. A não realização desses três pilares da sanidade suína somada à ausência completa de biossegurança tornam os criatórios de suínos possíveis focos de disseminação de agentes de importância a saúde pública. O presente trabalho teve como objetivo evidenciar a infecção por *Leptospira* spp. em suínos de criatórios, abatidos sob inspeção municipal no abatedouro municipal de Bambuí. As propriedades de procedência dos suínos eram cadastradas no Programa Nacional de Alimentação Estudantil. O trabalho foi executado com parceria do IFMG – campus Bambuí e o Laboratório de Zoonoses e Saúde Animal da USP. Foram coletadas amostras de sangue, na sangria, urina e fragmentos de rins, na linha de evisceração. As amostras de urina, rins e sangue foram processadas e congeladas a -20°C, no laboratório de Biologia molecular do IFMG – Bambuí e enviadas ao laboratório de Zoonoses da USP, onde foram realizadas a técnica de PCR nas amostras de rim e urina e técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) nas amostras de soro. Foram acompanhados oito abates de suínos, de nove criatórios diferentes pertencentes a três associações diferentes, totalizando 58 amostras de rim, urina e sangue. No teste de SAM, das 55 amostras testadas, seis foram reagentes. O sorovar Butembo, sorogrupo Autumnalis, foi detectado em quatro amostras da propriedade Cb, com títulos de 800 a 1600, e uma amostra, propriedade D, com título 200. Na propriedade G foi detectado os sorovares Guaricura (sorogrupo Serjoe) e Hardjoprajitino (sorogrupo Serjoe), em uma amostra com títulos de 1600. Considerando os resultados da PCR nas amostras de rim e urina testadas, todas foram negativas para cepas patogênicas de *Leptospira*. Considerando os altos títulos detectados e a não vacinação dos animais para *Leptospira* spp. podemos inferir que os animais das propriedades Cb e D, apresentaram infecção recente, apesar de haver detecção do agente na urina ou nos rins.

INTRODUÇÃO:

O Município de Bambuí compõe a microrregião da Canastra, que possui característica leiteira, com produção realizada basicamente pela agricultura familiar, em pequenas propriedades (EMATER, 2004). Por essas características, os pequenos produtores utilizam os suínos apenas para subsistência, para atender o consumo familiar ou como uma renda secundária, vendendo os excedentes. Os animais são criados, na sua maioria, recebendo restos de ordenha ou da produção de queijo, como o soro do leite. Esses suínos, chamados também de porco caipiras ou de “fundo de quintal”, são criados em pocilgas, em condições precárias, ou soltos em contato íntimo com outros animais da propriedade.

A vigilância, o controle e a prevenção de doenças que ocorrem em granjas comerciais são de extrema importância com intuito de minimizar prejuízos econômicos e impedir a disseminação de doenças, dentre elas as zoonóticas. A não realização desses três pilares da sanidade suína somada à ausência completa de biossegurança tornam os criatórios de suínos possíveis focos de disseminação de agentes de importância a saúde pública. A falta de um controle zootécnico efetivo, com a criação de animais soltos sem delimitação de espaço e em contato com outras espécies animais, com humanos e fontes de água, pode tornar esses animais disseminadores desses agentes. O suíno tem importante papel na epidemiologia de diversas doenças zoonóticas, o que torna a produção suína, principalmente de criatórios, uma parte importante no conceito saúde única. Uma doença, que encaixa perfeitamente nesse contexto, é a Leptospirose. A leptospirose adquirida pelo contato com animais de criação infectados, como o suíno, é uma doença de caráter ocupacional, cujo manejo prevê contato próximo do humano com o suíno infectado e com o ambiente de criação, que apresenta à urina contaminada pela *Leptospira* spp. A resistência dessa bactéria por longos

períodos em ambientes úmidos, a capacidade da bactéria de penetra pelas mucosas ou pele humana, somadas a precárias condições de instalações e manejo dos animais e falta de conhecimento dos produtores, torna os criatórios suínos potenciais fontes de contaminação de leptospirose. A Leptospirose é listada como uma doença de notificação obrigatória pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), e uma das principais doenças infecciosas dos suínos (OIE 2012). A Organização Mundial de Saúde (WHO) estima que o comprometimento global da leptospirose humana ultrapasse um milhão de casos severos por ano, com crescente aumento no número de países notificadores de surtos da doença (WHO, 2010). Todos os sorotipos podem produzir doença nos seres humanos, porém as manifestações variam de acordo com o sorotipo envolvido.

Com o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE), 30% do valor repassado para as prefeituras deve ser investido na compra direta de produtos da agricultura familiar, medida que estimula o desenvolvimento econômico e sustentável das comunidades (Brasil, 2009). Para isso, a Prefeitura de Bambuí, buscou parcerias com os associados criadores de suínos do município para o fornecimento de carne suína. Esses produtores possuem sua criação com reduzido número de animais, sem interesse prévio de venda, o que os classifica na categoria de criatórios, segundo legislação vigente. Apesar de haver a fiscalização das propriedades e do abate dos animais pelo médico veterinário responsável, não se tem dados de diagnósticos dos agentes de importância em saúde pública. Com isso, o presente trabalho teve como evidenciar a infecção pela *Leptospira* spp. em suínos de criatórios do município de Bambuí, abatidos em sob inspeção municipal. Esse projeto faz parte de um projeto maior que visa identificar agentes zoonóticos em suínos de criatórios.

METODOLOGIA:

A pesquisa compreendeu um estudo epidemiológico transversal e de abordagem quantitativa, e foi realizada em parceria do Instituto Federal de Minas Gerais – Campus Bambuí com o Laboratório de Zoonoses do Departamento de Medicina Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo.

A amostragem foi executada no município de Bambuí localizado na região Oeste de Minas Gerais. O número de propriedades criadoras de suínos e o número de animais utilizados no projeto seguiu uma amostragem não probabilística de conveniência, utilizando como critério de escolha, respectivamente, serem cadastradas no Programa PNAE, e serem abatidos no frigorífico Municipal de Bambuí, durante um ano. Devido ao número reduzido de suínos abatidos por propriedade, Tabela 1, assim como prevalência baixa de animais positivos em estudos levantados, todos os animais de cada propriedade foram avaliados.

Para a realização da sorologia para detecção de anticorpos contra sorovares diferentes de *Leptospira interrogans*, no momento da sangria, foram coletadas amostras de sangue em tubos sem anticoagulante. Cada frasco de coleta recebeu uma marcação com a identificação da amostra e da propriedade, e foram armazenados em temperatura ambiente até a coagulação e centrifugação, em laboratório, para posterior separação do soro.

As coletas das urinas e dos rins para o PCR de espécies de *Leptospira* foram realizadas na linha de abate, na área de inspeção das vísceras. Os dois rins de cada animal foram coletados inteiros em saco plástico estéril. A urina foi coletada diretamente da bexiga com uma agulha e seringa estéril. As amostras foram armazenadas em isopor com gelo reciclável durante o transporte ao laboratório.

As amostras de soro, urina e rins foram processadas inicialmente no laboratório de pesquisa em microbiologia do IFMG - Bambuí e posteriormente encaminhadas ao Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LZB) e ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada e Sorologia (LABMAS), ambos integrantes do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Para pesquisa de anticorpos contra *Leptospira* spp. foi empregado teste de soroaglutinação microscópica (SAM), de acordo com GALTON et al. (1965) e COLE et al. (1973), aplicando-se uma coleção de 24 antígenos vivos, entre amostras de referência e estirpes autóctones isoladas no Brasil. As amostras reagentes na triagem foram novamente testadas para definir o título final de aglutinação.

A execução da extração de DNA das amostras de rins e urina e a reação de PCR foi conforme protocolo utilizado no laboratório parceiro (GUEDES, 2018).

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os abates acompanhados ocorreram no abatedouro com inspeção municipal, no período de março a dezembro de 2018. Foram realizadas oito visitas, totalizando nove propriedades distintas, e um total de 58 animais acompanhados. Essas propriedades são associadas a três associações distintas, da região de Bambuí (Tabela 1). De todos os 58 animais foram coletadas amostras de sangue e rim, algumas amostras de urina não foram coletadas pois a bexiga encontrava-se vazia, totalizando 50 amostras apenas.

Das 55 amostras de soro testadas na SAM, seis (10,90%) (Tabela 1) foram reagentes para um dos sorogrupos testados. Essa porcentagem foi menor que 59,38%, encontrado por Rigo e colaboradores (2013).

O sorovar Butembo, sorogrupo Autumnalis, foi detectado em quatro amostras da propriedade Cb, com títulos de 800 a 1600, e uma amostra, propriedade D, com título 200. Na propriedade G foi detectado os sorovares Guaricura (sorogrupo Serjoe) e Hardjoprajtino (sorogrupo Serjoe) em uma amostra, com títulos de 1600. Esses sorogrupos foram detectados em outro trabalho e são considerados não adaptados aos suínos, portanto, oriundos de infecção acidental Shimabukuro (2003).

As titulações observadas foram de 1:200 até 1:1600. Considerando a interpretação das titulações (BRASIL, 2007; ANDRE-FONTAINE et al., 1990), podemos observar que os animais apresentavam infecção de moderada a alta. Como nossos animais não eram vacinados para o agente, a infecção é considerada aguda.

Considerando os resultados da PCR nas amostras de rim e urina testadas, 33 e 30, respectivamente, todas foram negativas para cepas patogênicas de *Leptospira* spp. O contato dos animais sem evolução da infecção ou da doença, em infecção recente sem ter ocorrido a colonização renal, pequeno número de leptospiras presentes nas amostras renais, insuficientes para o sucesso da detecção na PCR, ou animais que debelaram a infecção inclusive o estágio de portador renal, podem explicar os títulos altos porém PCR negativo das amostras renais (SHIMABUKURO, 2003).

CONCLUSÕES:

Os suínos de criatórios de Bambuí são infectados com sorovares e sorogrupos diferentes de *Leptospira* sp. e podem ser sim fontes de infecção para criadores e funcionários do abatedouro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANDRE-FONTAINE G.; GANIERE J.P. New topics on leptospirosis. Compendium of Immunological and Microbiological Infection Disease, v.13, p.163-168, 1990.

BRASIL 2002 - Ministério Da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Secretaria de Defesa Agropecuária Instrução Normativa Nº 19, De 15 De Fevereiro De 2002. Art. 1º Aprovar as Normas a serem cumpridas para a Certificação de Granjas de Reprodutores Suídeos, anexo I.

BRASIL. Programa Nacional de Alimentação Lei nº 11.947, de 16/6/2009.

OIE, World Organisation for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 6ª ed. World Organisation for Animal Health, Paris, 2012.

RIGO V. W. B. et. al. Ocorrência de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em suínos abatidos em frigoríficos de Uberlândia (MG). Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient., Curitiba, v. 11, n. 2, p. 185-190, 2013.

SHIMABUKURO F. H. Pesquisa de suínos portadores renais de leptospiras pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerase em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para leptospirose. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 40, p. 243-253, 2003.

WHO, World Health Organization. Report of the first meeting of leptospirosis burden epidemiology reference group. Geneva: p. 01-34, 2010.

Tabela 1: Identificação das propriedades e número de animais coletados para diagnóstico de *Leptospira* sp. em abatedouro de Bambuí.

Propr.	Associação	Dia de abate	N de animais	N soros positivos (%)	Rins PCR positivos	Urinas PCR positivas
A	Sapé	20/03/2018	07	Neg.	Não testadas	Não testadas
B	Sapé	07/05/18	08	Neg.	Não testadas	Não testadas
Ca	Campo	17/10/2018	15	Neg.	Neg.	Neg.
Cb*	Alegre		06	4 (66,66)	Neg.	Neg.
D	Campo Alegre	24/10/2018	08	1 (12,50)	Neg.	Neg.
E	Sapé	31/10/2018	02	Neg.	Neg.	Neg.
F	Sapé	20/08/2018	02	Neg.	Neg.	Neg.
G	Posse	19/11/2018	08	1 (12,50)	Não testadas	Não testadas
H	Campo Alegre	28/11/2018	02	Neg.	Não testadas	Não testadas
N.de amostras testadas				55	33	30
Total Positivos				6 (10,90) ^{&}	0	0

*Duas propriedades distintas. [&]Resultado referente a amostras testadas (n=55).